



## NG•TEST®/MCR-1

**NG-TEST® MCR-1** rapid test for the detection of MCR-1 enzyme responsible for colistin resistance on bacterial colony from culture.

**For professional use only.**



EN Instructions for use - 01

ES Instrucciones de uso - 26

FR Instructions d'utilisation - 06

IT Istruzioni per l'uso - 31

CZ Návod k použití - 11

PT Instruções de Utilização - 36

DE Gebrauchsanweisung - 16

SK Návod na použitie - 41

EL οδηγίες χρήσης - 21

RU Инструкция по применению - 46



## INTRODUCTION

**NG-TEST® MCR-1** is a qualitative rapid immunoassay for the detection of the MCR-1 enzyme in a bacterial colony obtained from culture. It is an *in vitro* diagnostic assay, for professional use only, that aids in the rapid identification of antibiotic-resistant bacteria.

## SUMMARY

The presence of Gram-negative multiresistant bacterial strains represents a global and growing threat. They constitute an increase of nosocomial infections in hospital. Polymyxin E (colistin) is an antibiotic considered as a last line of defense against infections caused by resistant strains.

The appearance of the MCR-1 gene (mobilized colistin resistance) in the genome of bacterial plasmids calls into question the use of colistin.

This gene was first discovered in China in 2011 and is present to date in about 18 countries. Global spread is a challenge in terms of sanitary safety. Indeed, the MCR-1 gene coding for the MCR-1 enzyme confers an antimicrobial resistance to colistin. It allows the addition of a phosphoethanolamine residue to lipid A lipopolysaccharide (LPS) bacteria and thus inhibits the attachment of colistin to LPS, thereby affecting its mechanism of operation. This antibiotic resistance enzyme co-exists with others such as carbapenemases and extended-spectrum  $\beta$ -lactamases, thus causing a problem difficult to anticipate.

## PRINCIPLE

**NG-TEST® MCR-1** is a ready for use rapid immunoassay for the detection of the MCR-1 enzyme in a bacterial colony sampled on a solid agar medium after culture (an overnight) and processed in an extraction buffer.

The assay is carried out by dispensing the sample in the cassette well. The sample migrates towards the conjugate pad and, if present, the MCR-1 enzymes react with labelled anti-MCR-1 mouse monoclonal antibodies. The complex migrates through nitrocellulose membrane by capillarity and interacts with the anti-MCR-1 mouse monoclonal antibodies immobilized on the membrane, on the test region "T".

The control line C, is formed by labelled streptavidin and monoclonal antibodies reacting with biotin-BSA and goat anti-mouse polyclonal antibodies immobilized on the membrane.

If the sample is positive for MCR-1, a red line will appear on the test region "T" and on the control region "C" of the membrane. If not, only one red line will appear on the control region "C".

## REAGENTS AND MATERIALS SUPPLIED

### Each kit contains :

- 20 Test cassettes in aluminium pouches with desiccant
- 20 Microtubes
- 20 Disposable pipettes of 100  $\mu$ L
- 1 Extraction buffer solution in a plastic bottle (4,5 mL)
- 1 Instructions for use

## MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

Timer • Single use gloves • Loop • Vortex

## PRECAUTIONS

- *In vitro* diagnostic test. For professional use only.
- All the operations must be carried out according to good laboratory practices.
- Do not use after the expiry date.
- The devices must remain in the sealed pouches until they are used.
- Handle the samples as if they were potentially infectious.

- After use, discard the device in an infectious waste container.
- Do not reuse the device.

### STORAGE AND STABILITY

Store the devices in their sealed pouches between 4 and 30°C. Do not freeze. Kits are stable until the expiry date indicated on every kit.

### CULTURE AND SAMPLING

The samples to be tested shall be obtained and handled according to the standardised microbiology procedures. A colony will be collected in a solid agar-based culture, then will be suspended in the extraction buffer provided into the kit. It is highly recommended to use fresh bacterial colonies for the assay performance to be optimal.

#### Recommended culture media:

Luria Broth (LB) and LB agar, Trypticase soy agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar and URI-4, Columbia agar + 5% horse blood, ChromIDTM ESBL agar, ChromIDR CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar.

### OPERATING PROCEDURE

- 1 / Wear protective gloves.
- 2 / Bring the kit components at room temperature for at least 10 minutes.

#### Preparing the sample

- 1 / Dispense 5 drops (150 µL) of extraction buffer in one of the microtubes provided into the kit.
- 2 / From a solid agar-based culture, collect a colony with a loop, and then suspend it in the microtube containing 150 µL of extraction buffer.
- 3 / Close the microtube.
- 4 / Vortex to homogenise the mixture before use.

#### Carrying out the test

- 1 / Open the pouch, and take out the device. Once opened, use the test immediately.
- 2 / Using the provided pipette, add 100 µL of the prepared mixture (sample must reach the black line indicated on the pipette to accurately aspirate 100 µL) in the sample well labelled "S".
- 3 / Read the results at 15 minutes and interpret them as indicated below.

**NOTE : Do not interpret the test results after 20 minutes, as they may vary possibly causing false positive results.**

### RESULT INTERPRETATION



**NEGATIVE**

#### Negative result

If only one red line appears on the control region (C): the sample does not contain MCR-1 enzyme or non-detectable level of this one and must be interpreted as a negative result.

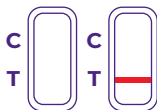


**POSITIVE**

#### Positive result

If two red lines appear, one on the control region (C) and one on the test region (T): the sample contains MCR-1 enzyme and must be interpreted as a positive result.

**NOTE :** The intensity of the red test line(s) may vary depending on the concentration of the MCR-1 enzyme level in the sample. A weak line should be considered as a positive result.

**Invalid result**

If the control line (C) does not appear, the test result is invalid. Insufficient sample volume or an incorrect procedure are the most likely reasons for control line failure.

Deterioration of the test kit may have occurred. Repeat the procedure using a new test. If the problem persists, do not reuse the kit and contact your distributor.

**QUALITY CONTROL**

An internal control is included in the test. When the control line develops, it confirms the sample volume was sufficient and the procedure was correct.

**LIMITATIONS**

This test is a qualitative assay, so it cannot yield any quantitative result. This first-line test allows a rapid stratification of the patients. The obtained results must be confirmed with alternative or complementary diagnostic procedures. A positive or a negative test does not rule out the presence of other mechanisms of antibiotic resistance.

**PERFORMANCES AND CHARACTERISTICS****Detection limit:**

The detection limit was determined using a purified recombinant MCR-1 enzyme and evaluated at 300 pg/mL.

**Cross reaction:** All results were correlated to the genotype of strains determined by PCR analysis. **NG•TEST® MCR-1** detects some MCR-2 variants.

**Validation on a reference strain bank:**

**NG•TEST® MCR-1** was evaluated on 44 clinical strains at NRC Kremlin Bicêtre Paris (National Reference Center), 123 clinical strains at ANSES (National Health Security Agency) Lyon and 117 clinical strains at NRC Clermont Ferrand.

A total of 284 strains were evaluated.

**Table 1: Results obtained at NRC Kremlin Bicêtre**

		STATUS		
		POSITIVE	NEGATIVE	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIVE	25	3 (mcr-2)	28 (3 mcr-2 detected)
	NEGATIVE	0	16	16
	TOTAL	25	19	44
SENSIVITY	100%	CONFIDENCE INTERVAL 95% [86.7% ; 100%]		
SPECIFICITY	84.2%	CONFIDENCE INTERVAL 95% [62.4% ; 94.5%]		

Table 2 : Results obtained at NRC Clermont-Ferrand

		STATUS		
		POSITIVE	NEGATIVE	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIVE	17	0	17
	NEGATIVE	0	100	100
	TOTAL	17	100	117
SENSITIVITY	100%	CONFIDENCE INTERVAL 95% [81.6% ; 100%]		
SPECIFICITY	100%	CONFIDENCE INTERVAL 95% [96.3% ; 100%]		

Table 3 : Results obtained at ANSES Lyon

		STATUS		
		POSITIVE	NEGATIVE	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIVE	59	0	59
	NEGATIVE	0	64	64
	TOTAL	59	64	123
SENSITIVITY	100%	CONFIDENCE INTERVAL 95% [93.9% ; 100%]		
SPECIFICITY	100%	CONFIDENCE INTERVAL 95% [94.3% ; 100%]		

Table 4 : Overall results of the three sites for MCR-1

		STATUS		
		POSITIVE	NEGATIVE	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIVE	101	3 (mcr-2)	104
	NEGATIVE	0	180	180
	TOTAL	101	183	284
SENSITIVITY	100%	CONFIDENCE INTERVAL 95% [96.3% ; 100%]		
SPECIFICITY	98.4%	CONFIDENCE INTERVAL 95% [95.3% ; 99.4%]		

## BIBLIOGRAPHY

The bibliography can be found at the end of the document.

## SYMBOLS



Content for  
20 assays



*in vitro* diagnostic  
medical device



Batch number



Importer



Expiry date



Do not re-use



Catalogue  
reference



Manufacturer



Temperature  
limit



Consult  
instructions  
for use



Unique Device  
Identifier



This kit was developed in collaboration with the CEA\*.

\*The French Alternative Energies and Atomic Energy Commission is a key player in research, development and innovation.

## INTRODUCTION

**NG-TEST® MCR-1** est un test rapide immunologique pour la détection de l'enzyme MCR-1 à partir d'une colonie bactérienne après culture. C'est un test de diagnostic *in-vitro* à usage exclusivement professionnel qui aide à l'identification rapide de bactéries résistantes aux antibiotiques.

## RÉSUMÉ

La présence de souches bactériennes multirésistantes Gram négatives représente une menace mondiale et croissante. Elles constituent une augmentation des infections nosocomiales en milieu hospitalier. La polymyxine E (colistine) est un antibiotique considéré comme une dernière ligne de défense face aux infections causées par des souches résistantes.

L'apparition du gène MCR-1 (mobilized colistin resistance) dans le génome des plasmides bactériens remet en cause l'utilisation de la colistine.

Ce gène est découvert pour la première fois en Chine en 2011 et est présent à ce jour dans environ 18 pays. Sa propagation au niveau mondial constitue un challenge en termes de sûreté sanitaire. En effet, le gène MCR-1 codant pour l'enzyme MCR-1 confère aux bactéries une résistance à la colistine. Elle permet l'addition d'un résidu phosphoéthanolamine au lipide A des lipopolysaccharide (LPS) des bactéries et inhibe ainsi la fixation de la colistine au LPS, affectant ainsi son mécanisme de fonctionnement. Cette enzyme de résistance aux antibiotiques peut co-exister avec d'autres telles que les carbapénèmes et les  $\beta$ -lactamases à spectre étendu, causant ainsi un problème difficile à anticiper.

## PRINCIPE

**NG-TEST® MCR-1** est effectué à partir d'une colonie bactérienne prélevée sur un milieu gélosé solide après culture (16-24 heures) et traitée dans un tampon d'extraction.

Le test est réalisé en distribuant l'échantillon dans le puit de la cassette. L'échantillon migre au travers du papier conjugué et les enzymes, si elles sont présentes, réagissent avec les anticorps monoclonaux anti-MCR-1 marqués. Le complexe migre à travers la membrane de nitrocellulose par capillarité et interagit avec les anticorps monoclonaux de souris anti-MCR-1 immobilisés sur la membrane au niveau de zone test T. La bande de contrôle (C) se forme par la fixation de la streptavidine marquée et par des anticorps monoclonaux marqués. Ils réagissent avec des anticorps polyclonaux anti-souris de chèvre et de la biotine-BSA immobilisés sur la membrane. Si l'échantillon est positif, une bande rouge apparaîtra à la fois sur la zone test et la zone contrôle. Sinon, une seule bande rouge apparaîtra sur la zone de contrôle.

## RÉACTIFS ET MATÉRIEL FOURNIS

**Chaque coffret contient :**

- 20 cassettes test en sachet aluminium avec dessicant
- 20 microtubes
- 20 pipettes de 100  $\mu$ L
- 1 solution tampon d'extraction en flacon plastique (4,5 mL)
- 1 notice

## MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

Chronomètre • Gants à usage unique • Oese • Vortex

## PRÉCAUTIONS

- Test de diagnostic *in vitro* à usage professionnel.
- Toutes les opérations doivent être réalisées selon les bonnes pratiques de laboratoire.
- Ne pas utiliser après la date d'expiration.
- Les dispositifs doivent rester dans les sachets scellés jusqu'à leur utilisation.
- Manipuler les échantillons comme étant potentiellement infectieux.



- Après usage, jeter le dispositif dans un conteneur approprié pour déchets infectieux.
- Le dispositif ne doit pas être réutilisé.

### CONSERVATION ET STABILITÉ

Conserver les dispositifs dans leur sachet scellé entre 4 et 30°C. Ne pas congeler. Les coffrets sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

### CULTURE ET PRÉLÈVEMENT

Les échantillons à tester doivent être obtenus et manipulés selon les méthodes standardisées de microbiologie.

Une colonie sera prélevée à partir d'une culture sur gélose solide, puis mise en suspension dans le tampon d'extraction fourni dans le kit.

Il est fortement recommandé d'utiliser des colonies bactériennes fraîches pour obtenir une performance optimale du test.

### Milieux de culture recommandés :

Luria Broth (LB) et LB agar, Trypticase soja agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar et URI-4, Columbia agar + 5 % sang de cheval, ChromIDTM ESBL agar, ChromIDR CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar.

### MODE OPÉATOIRE

1 / Porter des gants de protection.

2 / Ramener les composants du kit à température ambiante pendant au moins 10 minutes.

#### Préparation de l'échantillon

1 / Déposer 5 gouttes (150 µL) de tampon d'extraction dans un des microtubes fourni dans le coffret.

2 / À partir de la culture sur gélose solide, prélever une colonie à l'aide d'une oese puis la mettre en suspension dans le microtube contenant 150 µL de tampon d'extraction.

3 / Fermer le microtube.

4 / Vortexer pour homogénéiser le mélange avant l'utilisation.

#### Réalisation du test

1 / Ouvrir le sachet et retirer le dispositif. Une fois ouvert, le test doit être utilisé immédiatement.

2 / À l'aide de la pipette fournie, prélever 100 µL du mélange préparé (faire monter l'échantillon jusqu'au trait noir indiqué sur la pipette) et les déposer dans le puits échantillon marqué "S".

3 / Lire les résultats à 15 minutes et les interpréter comme indiqué ci-dessous.

**NOTE : Ne pas interpréter les résultats du test après 20 minutes, les résultats pouvant varier et causant potentiellement des résultats faux positifs.**

### INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS



#### Résultat négatif

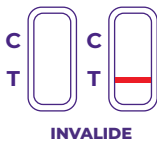
Si une seule bande de couleur rouge apparaît sur la zone contrôle (C) : l'échantillon ne contient pas d'enzyme MCR-1 ou en contient un niveau non détectable et doit être interprété comme un résultat négatif.



### Résultat positif

Deux bandes de couleur rouge apparaissent, une sur la zone contrôle (C) et une autre dans la zone test (T) : l'échantillon contient une enzyme MCR-1 et doit être interprété comme un résultat positif.

**NOTE :** L'intensité de la couleur rouge de la ligne de test (T) varie en fonction de la concentration d'enzyme MCR-1 présente dans l'échantillon. Une ligne d'intensité faible doit être considérée comme un résultat positif.



### Résultat invalide

Si la bande de contrôle (C) n'apparaît pas, le résultat du test n'est pas valide. Un volume d'échantillon insuffisant ou une procédure incorrecte sont les raisons les plus fréquentes de l'absence de ligne de contrôle. Une dégradation du coffret peut avoir eu lieu. Répétez la procédure en utilisant un nouveau test. Si le problème persiste, ne pas réutiliser le coffret et contacter votre distributeur.

### CONTRÔLE QUALITÉ

Un contrôle de qualité interne est inclus dans le test. L'apparition de la bande de contrôle «C» dans la fenêtre de lecture confirme un volume d'échantillon suffisant et une procédure correcte.

### LIMITATIONS

Ce test est qualitatif et en conséquence ne peut pas fournir une valeur quantitative. Ce test doit être utilisé comme une aide pour l'identification rapide de patients porteurs d'une résistance à la colistine. Les résultats obtenus doivent être confirmés par des procédures diagnostic alternatives ou complémentaires. Un test positif ou négatif n'écarte pas la présence d'autres mécanismes de résistance aux antibiotiques.

### PERFORMANCES ET CARACTÉRISTIQUES

#### Limite de détection:

La limite de détection a été déterminée à l'aide d'enzymes MCR-1 recombinantes purifiées et évaluée à 300 pg/mL.

#### Réactions croisées:

Tous les résultats ont été corrélés avec le génotype des souches déterminées par analyse PCR. **NG-TEST® MCR-1** détecte certains variants MCR-2.

#### Validation clinique:

**NG-TEST® MCR-1** a été évalué sur 44 souches cliniques au CNR (Centre National de Référence) du Kremlin Bicêtre Paris (France), 123 souches cliniques à l'ANSES de Lyon (France) et 117 souches clinique au CNR de Clermont Ferrand (France). Au total 284 souches ont été évaluées.

Table 1 : Résultats obtenus au CNR du Kremlin Bicêtre

		STATUT		
		POSITIF	NÉGATIF	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIF	25	3 (mcr-2)	28 (3 mcr-2 détectés)
	NÉGATIF	0	16	16
	TOTAL	25	19	44
SENSIBILITÉ	100%	INTERVALLE DE CONFIANCE 95% [86.7% ; 100%]		
SPÉCIFICITÉ	84.2%	INTERVALLE DE CONFIANCE 95% [62.4% ; 94.5%]		

Table 2 : Résultats obtenus au CNR du Clermont-Ferrand

		STATUT		
		POSITIF	NÉGATIF	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIF	17	0	17
	NÉGATIF	0	100	100
	TOTAL	17	100	117
SENSIBILITÉ	100%	INTERVALLE DE CONFIANCE 95% [81.6% ; 100%]		
SPÉCIFICITÉ	100%	INTERVALLE DE CONFIANCE 95% [96.3% ; 100%]		

Table 3 : Résultats obtenus à l'ANSES de Lyon

		STATUT		
		POSITIF	NÉGATIF	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIF	59	0	59
	NÉGATIF	0	64	64
	TOTAL	59	64	123
SENSIBILITÉ	100%	INTERVALLE DE CONFIANCE 95% [93.9% ; 100%]		
SPÉCIFICITÉ	100%	INTERVALLE DE CONFIANCE 95% [94.3% ; 100%]		


Table 4 : Résultats global des trois sites pour MCR-1

		STATUT		
		POSITIF	NÉGATIF	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIF	101	3 (mcr-2)	104
	NÉGATIF	0	180	180
	TOTAL	101	183	284
SENSIBILITÉ	100%	INTERVALLE DE CONFIANCE 95% [96.3% ; 100%]		
SPÉCIFICITÉ	98.4%	INTERVALLE DE CONFIANCE 95% [95.3% ; 99.4%]		

## BIBLIOGRAPHIE

La bibliographie se trouve à la fin du document.

## SYMBOLES

	Contenu suffisant pour 20 tests		Date d'expiration		Limites de température de conservation (4°C-30°C)
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>		Ne pas réutiliser		Importateur
	N° de lot		Référence du produit		Fabricant
	Consulter les instructions d'utilisation		Identifiant unique des dispositifs		

cea

Ce test a été développé en collaboration avec le CEA\*.

\*Le Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives est un acteur français majeur de la recherche technologique et de l'innovation.

## ÚVOD

**NG-TEST® MCR-1** je kvalitativní imunologickým testem k rychlé detekci enzymu MCR-1 z kolonie bakteriálních kultur. Jedná se o *in vitro* diagnostický test určený pouze pro laboratorní použití, který napomáhá k rychlé identifikaci bakterií rezistentních na kolistin.

## SOUHRN

Přítomnost gramnegativních multirezistentních bakteriálních kmenů představuje globální a rostoucí hrozbu. Způsobují nárůst nosokomiálních infekcí v nemocnicích. Polymyxin E (kolistin) je antibiotikum považováno za jednu z posledních možností obrany proti infekcím způsobeným rezistentními kmeny.

Přítomnost *mcr-1* genu (mobilizovatelná rezistence ke kolistinu) v DNA bakteriálních plazmidů zpochybňuje použití kolistinu.

Tento gen byl poprvé objeven roku 2011 v Číně a k dnešnímu dni se vyskytuje asi v 18 zemích. Globální šíření je výzva, pokud jde o hygienickou bezpečnost. Gen *mcr-1*, kduje MCR-1 enzym, který je zodpovědný za antimikrobiální rezistenci ke kolistinu. MCR-1 umožňuje vazbu fosfoetanolaminového zbytku na lipid A lipopolysacharidu (LPS) bakterií a tím inhibuje přichycení kolistinu na LPS, čímž ovlivňuje jeho mechanismus působení. Tento enzym pro rezistenci ke kolistinu koexistuje s dalšími enzymy, jako například karbapenemázamy a širokospektrými  $\beta$ -laktamázamy, čímž vzniká obtížně předvídatelný problém.

## PRINCIP

K provedení **NG-TEST® MCR-1** testu je potřeba bakteriální kolonie po kultivaci (přes noc) odebrat z pevné agarové půdy a resuspendovat v extrakčním pufru.

Esej se provádí nanesením vzorku do kazetkové jamky. Vzorek migruje směrem ke konjugační podložce a pokud je přítomen, MCR-1 enzym reaguje se značenými anti-MCR-1 monoklonálními protilátkami. Tento komplex migruje přes nitrocelulózovou membránu díky kapilárním silám a interaguje s anti-MCR-1 myšími monoklonálními protilátkami imobilizovanými na testovací zóně (T).

Kontrolní proužek (C) je tvořen značeným streptavidinem a značenými monoklonálními protilátkami. Ty reagují s biotin-BSA a kozími polyklonálními protilátkami imobilizovanými na membráně, které jsou namířené proti myším protilátkám.

Pokud je vzorek pozitivní na MCR-1, na testovací zóně (T) a na kontrolní zóně (C) membrány se objeví červený proužek. Pokud je testovaný vzorek negativní, objeví se pouze jeden červený proužek v kontrolní zóně (C).

## DODÁVANÁ ČINIDLA A MATERIÁLY

**Každý sada obsahuje:**

- 20 testovacích kazetek v hliníkových obalech s desikantem
- 20 mikrozku mávek
- 20 jednorázových pipet o objemu 100  $\mu$ L
- 1 roztok extrakčního pufru v plastové lahvičce (4,5 mL)
- 1 příbalový leták

## POŽADOVANÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

stopky • ochranné rukavice • bakteriologická klička • Vortex

## UPOZORNĚNÍ

- Diagnostický test *in vitro*. Pouze pro laboratorní použití.
- Všechny postupy musí být prováděny v souladu se správnou laboratorní praxí.
- Nepoužívejte po uplynutí data expirace.
- Testovací kazety musí zůstat až do použití v uzavřeném hliníkovém obalu.
- Zacházejte se vzorky, jako by byly potenciálně infekční.
- Po použití vyhodte kazety do infekčního odpadu.
- Kazety nepoužívejte opakovaně.

**SKLADOVÁNÍ A STABILITA**

Uchovávejte kazetky v jejich uzavřených obalech mezi 4 až 30°C. Nezamrazovat. Testy jsou stabilní do uplynutí expirace vyznačené na každém obalu. Výrobek je stabilní do uplynutí expirace vyznačeného na krabici kitu.

**BAKTERIÁLNÍ KULTURA A PŘÍPRAVA VZORKŮ**

Testované vzorky by měly být odebrány a zpracovávány podle standardních mikrobiologických postupů.

Pomocí kličky odeberte kolonii z kultury vyrostlé na pevném agaru a následně ji resuspendujte v extrakčním pufru. Pro optimální průběh testu je doporučeno používat čerstvé bakteriální kolonie.

**Validovaná kultivační média:**

Luria Broth (LB) a LB agar, Trypticase soy agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar a URI-4, Columbia agar + 5% koňsk krvine, ChromIDTM ESB� agar, ChromIDR CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar.

**PRACOVNÍ POSTUP**

1 / Použijte ochranné rukavice.

2 / Temperujte komponenty kitu při pokojové teplotě po dobu nejméně 10 minut.

**Příprava vzorku**

1 / Napipetujte 5 kapek (150 µL) extrakčního pufru do dodávané mikrozku mavek.

2 / Kličkou odeberte kolonii z kultury vyrostlé na pevném agaru, a následně ji resuspendujte ve mikrozku mavce obsahující extrakční pufr.

3 / Zavřete mikrozku mavku..

4 / Homogenizujte danou směs pomocí vortexu.

**Provedení testu**

1 / Otevřete obal a vyjměte testovací kazetu. Po otevření obalu proveďte test ihned.

2 / Pomocí dodané pipety odeberte 100 µL připravené směsi (na pipetě je hranice 100 µL označena černou čarou) a napipetujte ji do jamky (označené „S“) na kazetě.

3 / Odečtěte Výsledek za 15 minut, jak je uvedeno níže.

**POZNÁMKA: Neodečítejte výsledky po uplynutí doby delší než 20 minut z důvodu možné falešné positivity.**

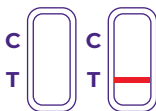
**INTERPRETACE VÝSLEDKŮ****NEGATIVNÍ****Negativní výsledek**

V kontrolní zóně (C) se objeví jeden červený proužek. Vzorek neobsahuje enzym MCR-1 nebo jeho detekovatelnou hladinu a výsledek by měl být interpretován jako negativní.

**POZITIVNÍ****Pozitivní výsledek**

Objeví se dva červené proužky, jeden v kontrolní zóně (C) a druhý v testovací zóně (T) testu. Vzorek obsahuje enzym MCR-1 a výsledek by měl být interpretován jako pozitivní.

**POZNÁMKA:** Intenzita červeného proužku v testovací oblasti (T) se může lišit v závislosti na množství enzymu MCR-1 ve vzorku. Slabý proužek by měl být považován za pozitivní výsledek.

**NEPLATNÝ****Neplatný výsledek**

Proužek v kontrolní zóně (C) chybí: výsledek testu je neplatný. Nejčastějšími důvody absence proužku v kontrolní zóně (C) jsou nedostatečný objem vzorku nebo nesprávné provedení postupu testu. Mohlo také dojít k degradaci testovacího kitu. Opakujte postup za použití nového testu (kazety). Pokud problém přetrvává, nepoužívejte daný kit a kontaktujte svého distributora.

**KONTROLA KVALITY**

Vnitřní kontrola kvality je součástí testu. Přítomnost kontrolního proužku potvrzuje dostatečný objem vzorku a správné provedení testu.

**OMEZENÍ**

Tento test je kvalitativním, takže nemůže poskytnout žádný kvantitativní výsledek. Test by měl být použit jako usnadnění rychlé identifikace pacientů s infekcemi způsobenými bakteriemi resistantními na kolistin. Dosažený výsledek by měl být potvrzen alternativními nebo komplementárními diagnostickými metodami.

Pozitivní nebo negativní výsledek testu nevyklučuje přítomnost jiných mechanismů rezistence ke kolistinu.

**DETEKČNÍ CHARAKTERISTIKA****Detekční limit:**

Detekční limit byl stanoven za použití purifikovaného rekombinantního enzymu MCR-1 a hodnocen při 300 pg/mL.

**Skřížená reaktivita:**

Všechny výsledky korelovaly s genotypem kmenů stanoveným pomocí PCR.

**NG-TEST® MCR-1** detkuje některé varianty MCR-2.

**Validace na referenčních kmenech:**

**NG-TEST® MCR-1** byl evaluován na 44 klinických kmenech v NRC Kremlin Bicêtre Paris (National Reference Center), 123 klinických kmenech v ANSES (National Health Security Agency) Lyon a 117 klinických kmenech v NRC Clermont Ferrand (National Reference Center).

Bylo vyhodnoceno celkem 284 kmenů.

**Tabulka 1: Výsledky získané v NRC Kremlin Bicêtre**

		STATUS		
		POZITIVNÍ	NEGATIVNÍ	CELKEM
<b>NG•TEST® MCR-1</b>	POZITIVNÍ	25	3 (mcr-2)	28 (detekovány 3 mcr-2)
	NEGATIVNÍ	0	16	16
	CELKEM	25	19	44
SENZITIVA	100%	INTERVAL SPOLEHLIVOSTI 95% [86.7% ; 100%]		
SPECIFICITA	84.2%	INTERVAL SPOLEHLIVOSTI 95% [62.4% ; 94.5%]		

Tabulka 2: Výsledky získané v NRC Clermont-Ferrand

		STATUS		
		POZITIVNÍ	NEGATIVNÍ	CELKEM
NG•TEST® MCR-1	POZITIVNÍ	17	0	17
	NEGATIVNÍ	0	100	100
	CELKEM	17	100	117
SENZITIVA	100%	INTERVAL SPOLEHLIVOSTI 95% [81.6% ; 100%]		
SPECIFICITA	100%	INTERVAL SPOLEHLIVOSTI 95% [96.3% ; 100%]		

Tabulka 3: Výsledky získané v ANSES Lyon

		STATUS		
		POZITIVNÍ	NEGATIVNÍ	CELKEM
NG•TEST® MCR-1	POZITIVNÍ	59	0	59
	NEGATIVNÍ	0	64	64
	CELKEM	59	64	123
SENZITIVA	100%	INTERVAL SPOLEHLIVOSTI 95% [93.9% ; 100%]		
SPECIFICITA	100%	INTERVAL SPOLEHLIVOSTI 95% [94.3% ; 100%]		

Tabulka 4: Celkové výsledky ze tří testovacích center

		STATUS		
		POZITIVNÍ	NEGATIVNÍ	CELKEM
NG•TEST® MCR-1	POZITIVNÍ	101	3 (mcr-2)	104
	NEGATIVNÍ	0	180	180
	CELKEM	101	183	284
SENZITIVA	100%	INTERVAL SPOLEHLIVOSTI 95% [96.3% ; 100%]		
SPECIFICITA	98.4%	INTERVAL SPOLEHLIVOSTI 95% [95.3% ; 99.4%]		

## BIBLIOGRAFIE

Bibliografii naleznete na konci dokumentu.



**SYMBOLY**

Obsah pro  
20 testů



diagnostické  
souprava *in vitro*



Číslo šarže



Dovoze



Datum expirace



Nepoužívejte  
opakovaně



Referenční  
katalogové číslo



Výrobce



Teplotní limit



Viz návod  
k použití



Jedinečný  
identifikátor  
prostředku

**Tato sada byla vyvinuta ve spolupráci s CEA\*.**

\*Francouzská komise pro alternativní energie a atomovou energii je klíčovým hráčem v oblasti výzkumu, vývoje a inovací.

**VERWENDUNG**

**NG-TEST® MCR-1** ist ein Immunoassay zum schnellen Nachweis des Enzyms MCR-1 in einer Bakterienkultur. Dies ist ein diagnostisches *in vitro*-Testverfahren für ausschließlich professionellen Gebrauch für die schnelle Identifizierung von antibiotikaresistenten Bakterien.

**ZUSAMMENFASSUNG**

Das Vorkommen von gramnegativen multiresistenten Bakterienstämmen stellt eine wachsende globale Bedrohung dar. Sie führen zu einer Zunahme nosokomialer Infektionen. Polymyxin E (Colistin) ist ein Antibiotikum, das als Reserveantibiotikum bei Infektionen durch resistente Stämme gilt.

Das Auftreten des MCR-1 Gens (Plasmid-vermittelte Colistin-Resistenz) im Genom bakterieller Plasmide stellt die Verwendung von Colistin in Frage.

Dieses Gen wurde 2011 in China entdeckt und kommt bisher in ungefähr 18 Ländern vor. Seine weltweite Verbreitung stellt eine Herausforderung im Bereich Gesundheits-sicherheit dar. Das MCR-1 Gen, das dieses Enzym kodiert, verleiht den Bakterien eine Colistin-Resistenz. Sie ermöglicht die Zugabe des Phosphoethanolaminrestes zum Lipid A der Lipopolysaccharide (LPS) der Bakterien und verhindert somit die LPS-Bindung am Colistin und daher seinen Funktionsmechanismus. Außer diesem Antibiotikaresistenz-Enzym existieren noch andere, wie Carbapenemasesen und Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamasen, was zu einem schwer abschätzbaren Problem führen kann.

**PRINZIP**

Der **NG-TEST® MCR-1** wird mit einer Bakterienkultur durchgeführt, die von einer Agarplatte einer Kultur (16-24 Stunden) entnommen und in einem Extraktionspuffer dispergiert wird.

Der Test wird durch Verteilen der Probe in der Mulde der Kassette durchgeführt. Die Probe wandert durch das Konjugationspapier und die Enzyme, falls vorhanden, reagieren mit den markierten monoklonalen MCR-1 Antikörpern. Der Komplex wandert durch Kapillarwirkung durch die Nitrocellulosemembran und interagiert mit den monoklonalen MCR-1 Maus-Antikörpern, die im Bereich des Testbereichs T membrangebunden sind. Das Kontrollband (C) wird durch die Bindung von markiertem Streptavidin und durch markierte monoklonale Antikörper gebildet. Sie reagiert mit den polyklonalen Ziegen-Antikörpern und dem membrangebundenen BSA-Biotin. Ist die Probe positiv, erscheint sowohl im Test- also auch im Kontrollbereich eine rote Linie. Anderenfalls erscheint nur im Kontrollbereich eine rote Linie.

**REAGENZIIEN UND MITGELIEFERTES MATERIAL****Jedes Test-Set enthält:**

- 20 testkassetten in Aluminiumbeuteln mit Trockenmittel
- 20 mikroröhrchen
- 20 pipetten 100  $\mu$ L
- 1 extraktionspuffer-lösung in Kunststoffflasche (4,5 mL)
- 1 bedienungsanleitung

**ERFORDERLICHE MATERIALIEN, NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN**

Stoppuhr • Einweghandschuhe • Öse • Vortexmischer

**VORSICHTSMAßNAHMEN**

- *In vitro*-Diagnostiktest. Nur für den professionellen Gebrauch.
- Alle Maßnahmen sind gemäß guter Laborpraxis durchzuführen.
- Nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Die Produkte müssen bis zu ihrer Verwendung in den verschlossenen Beuteln verbleiben.
- Proben müssen als potenziell infektiös behandelt werden.

- Die gebrauchten Tests nach der Verwendung in einem Behälter für infektiöse Abfälle entsorgen.
- Die Produkte dürfen nicht wiederverwendet werden.

### LAGERUNG UND STABILITÄT

Die Produkte im geschlossenen Beutel bei 4 und 30°C aufbewahren. Die Kits sind bis zum dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Nicht einfrieren.

### NÄHRMEDIUM UND PROBENGEWINNUNG

Die zu untersuchenden Proben müssen nach mikrobiologischen Standardmethoden gewonnen und behandelt werden. Eine Kolonie wird von einer Agarplatte entnommen und dann in dem im Set enthaltenen Extraktionspuffer suspendiert. Um eine optimale Testleistung zu erzielen, wird dringend empfohlen, frische Bakterienkulturen zu verwenden.

#### Empfohlene Nährmedien:

Luria Broth (LB) und LB-Agar, Trypticase Soja-Agar (TSA), Mueller-Hinton-Agar und URI-4, Columbia-Agar mit 5% Pferdeblut, ChromIDTM ESBL-Agar, ChromIDR CARBA SMART, Drigalski-Laktose-Agar (DRIG).

### ARBEITSANWEISUNGEN

- 1 / Schutzhandschuhe tragen.
- 2 / Die Bestandteile des Sets für mindestens 10 Minuten auf Raumtemperatur bringen.

#### Probenvorbereitung

- 1 / 5 Tropfen (150 µL) des Extraktionspuffers in eines der mitgelieferten Mikroröhrchen geben.
- 2 / Von einer Kultur auf einer Agarplatte mittels einer Öse eine Kolonie entnehmen und dann in das Mikroröhrchen mit 150 µL Extraktionspuffer-Lösung suspendieren.
- 3 / Mikroröhrchen verschließen.
- 4 / Mit dem Vortexmixer mischen, um die Mischung vor dem Gebrauch zu homogenisieren.

#### Durchführung des Tests

- 1 / Den Beutel öffnen und das Produkt entnehmen. Den Test sofort nach dem Öffnen verwenden.
- 2 / Mit Hilfe der mitgelieferten Pipette 100 µL der vorbereiteten Mischung entnehmen (die Probe bis zum auf der Pipette angegebenen schwarzen Strich ansaugen) und in die Probenmulde „S“ geben.
- 3 / Das Ergebnis nach 15 Minuten wie unten angegeben ablesen.

**HINWEIS: Testergebnisse nicht nach 20 Minuten interpretieren. Die Ergebnisse können variieren und zu falsch positiven Identifizierungen führen.**

### INTERPRETATION DER ERGEBNISSE



**NEGATIV**

#### Negatives Ergebnis

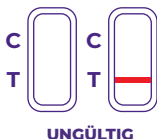
Im Kontrollbereich (C) erscheint nur eine rote Linie. Die Probe enthält kein MCR-1 Enzym oder einen nicht nachweisbaren Enzympegel und sollte als negatives Ergebnis interpretiert werden.



### Positives Ergebnis

Im Kontrollbereich (C) werden zwei rote Linien angezeigt und eine weitere im Testbereich (T). Die Probe enthält das MCR-1 Enzym und sollte als positives Ergebnis interpretiert werden.

**HINWEIS:** Die Intensität der roten Farbe der Testlinie (T) variiert je nach Konzentration MCR-1-Enzyms der Probe. Eine Linie mit geringer Farbintensität sollte als positives Ergebnis interpretiert werden.



### Ungültiges Ergebnis

Wenn die Kontrolllinie (C) nicht angezeigt wird, ist das Testergebnis ungültig. Ein zu geringes Volumen der Probe oder falsche Handhabung sind die häufigste Ursache einer fehlenden Kontrolllinie.

Das Set kann auch beschädigt worden sein. Wiederholen Sie den Vorgang mit einem neuen Test. Wenn das Problem weiterhin besteht, das Set nicht wiederverwenden und Ihren Händler kontaktieren.

## QUALITÄTSKONTROLLE

Im Test ist eine interne Kontrolle enthalten. Die Anzeige der Kontrolllinie „C“ im Display best tigt ein ausreichendes Probenvolumen und eine korrekte Vorgehensweise.

## EINSCHRÄNKUNGEN

Dieser Test ist qualitativ und kann daher keinen quantitativen Wert liefern. Dieser Test sollte als Hilfsmittel bei der schnellen Identifizierung von Patienten mit Colistin-Resistenz eingesetzt werden. Die erzielten Ergebnisse müssen durch alternative oder zusätzliche Diagnoseverfahren bestätigt werden.

Ein positiver oder negativer Test schließt das Vorhandensein anderer Antibiotika-Resistenz-Mechanismen nicht aus.

## TESTLEISTUNGEN UND EIGENSCHAFTEN

### Nachweisgrenze:

Die Nachweisgrenze wurde mittels eines gereinigten rekombinanten MCR-1 Enzyms festgestellt und bei 300 pg/mL bewertet.

### Kreuz Reaktivität:

Alle Ergebnisse wurden mit dem Genotyp der mittels PCR-Analyse ermittelten Stämme korreliert. Im MCR-1 NG-TEST wurden verschiedene MCR-2 Varianten nachgewiesen.

### Klinische Validierung:

Der **NG-TEST® MCR-1** wurde am CNR (Nationales Referenzzentrum am Universitätsklinikum Kremlin Bicêtre in Paris) an 44 klinischen Stämmen, an 123 klinischen Stämmen am ANSES in Lyon (frz. Behörde für Lebensmittelsicherheit, Umwelt- und Arbeitsschutz) und an 117 klinischen Stämmen an der Universitätsklinik von Clermont Ferand (CNR) untersucht.

Insgesamt wurden 284 Stämme untersucht.

**Tabelle 1: Ergebnisse des CNR Kremlin Bicêtre**

		STATUS		
		POSITIV	NEGATIV	GESAMT
<b>NG•TEST® MCR-1</b>	POSITIV	25	3 (mcr-2)	28 (3 mcr-2 nachgewiesen)
	NEGATIV	0	16	16
	GESAMT	25	19	44
SENSITIVITÄT	100%	KONFIDENZINTERVALL 95% [86.7% ; 100%]		
SPEZIFITÄT	84.2%	KONFIDENZINTERVALL 95% [62.4% ; 94.5%]		

**Tabelle 2: Ergebnisse des CNR von Clermont-Ferrand**

		STATUS		
		POSITIV	NEGATIV	GESAMT
<b>NG•TEST® MCR-1</b>	POSITIV	17	0	17
	NEGATIV	0	100	100
	GESAMT	17	100	117
SENSITIVITÄT	100%	KONFIDENZINTERVALL 95% [81.6% ; 100%]		
SPEZIFITÄT	100%	KONFIDENZINTERVALL 95% [96.3% ; 100%]		

**Tabelle 3: Ergebnisse des ANSES von Lyon**

		STATUS		
		POSITIV	NEGATIV	GESAMT
<b>NG•TEST® MCR-1</b>	POSITIV	59	0	59
	NEGATIV	0	64	64
	GESAMT	59	64	123
SENSITIVITÄT	100%	KONFIDENZINTERVALL 95% [93.9% ; 100%]		
SPEZIFITÄT	100%	KONFIDENZINTERVALL 95% [94.3% ; 100%]		

**Tabelle 4: Gesamtergebnis der drei Institute für MCR-1**

		STATUS		
		POSITIV	NEGATIV	GESAMT
<b>NG•TEST® MCR-1</b>	POSITIV	101	3 (mcr-2)	104
	NEGATIV	0	180	180
	GESAMT	101	183	284
SENSITIVITÄT	100%	KONFIDENZINTERVALL 95% [96.3% ; 100%]		
SPEZIFITÄT	98.4%	KONFIDENZINTERVALL 95% [95.3% ; 99.4%]		

**LITERATUR**

Das Literaturverzeichnis befindet sich am Ende des Dokuments.

**SYMBOL**

Inhalt ausreichend  
für 20 Tests



Für *In-Vitro*-  
Diagnostik



Chargennummer



Importeur



Verfalldatum



Einmalige  
Verwendung



Referenznummer



Hersteller



Lagerung



Bedienungsan-  
leitung lesen



Einmalige  
Produktkennung



Dieser Bausatz wurde in Zusammenarbeit mit der CEA\* entwickelt.

\*Die französische Kommission für alternative Energien und Atomenergie ist ein wichtiger Akteur in Forschung, Entwicklung und Innovation.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

**NG-TEST® MCR-1** είναι μία ταχεία ποιοτική ανοσοενζυμική μέθοδος ανίχνευσης του ενζύμου MCR-1 σε μία αποικία βακτηρίων που λαμβάνεται από καλλιέργεια. Είναι μία διαγνωστική μέθοδος *in vitro* για επαγγελματική χρήση μόνον, που οδηγεί στην ταχεία ταυτοποίηση ανθεκτικών σε αντιβιοτικά βακτηρίων.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρουσία αρνητικών κατά Gram πολυανθεκτικών βακτηριακών στελεχών αποτελεί μία παγκόσμια και αυξανόμενη απειλή. Τα βακτήρια αυτά συντελούν στην αύξηση των νοσοκομειακών μολύνσεων στο νοσοκομείο. Το αντιβιοτικό της Polymyxin E (colistin) θεωρείται ως το τελευταίο μέσον αντίστασης έναντι μολύνσεων που οφείλονται σε ανθεκτικά στελέχη.

Η εμφάνιση του γονιδίου της MCR-1 ( που κινητοποιεί την ανθεκτικότητα στην Colistin) στο γονιδίωμα βακτηριακών πλασμιδίων οδηγεί στην αμφισβήτηση της χρήσης της colistin .

Το γονίδιο αυτό ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά στη Κίνα το 2011 και σήμερα βρίσκεται σε περίπου 18 χώρες. Η παγκόσμια εξάπλωσή του αποτελεί μία πρόκληση όσον αφορά την υγειονομική ασφάλεια.

Πράγματι, το γονίδιο της MCR-1 που κωδικοποιεί το ένζυμο MCR-1 αποδίδει μία αντιμικροβιακή ανθεκτικότητα στην colistin. Επιτρέπει την προσθήκη μίας ομάδας φωσφοαιθανολαμίνης στο λιπίδιο A του λιποπολυσαχαρίτη (LPS) των βακτηρίων και έτσι εμποδίζει την σύνδεση της colistin στο LPS, οπότε επηρεάζεται ο μηχανισμός της λειτουργίας της. Η ανθεκτικότητα στο αντιβιοτικό του ενζύμου αυτού συνυπάρχει και με άλλα όπως των καρμπαπενεμασών και των ευρέως φάσματος β-λακταμασών οδηγώντας σε ένα δυσεπίλυτο πρόβλημα.

## ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Για να εκτελέσετε το test **NG-TEST® MCR-1** , λαμβάνετε την αποικία βακτηρίων από το θρεπτικό υλικό στερεού άγαρ μετά την καλλιέργεια ( ολονύκτια) και την επεξεργάζεστε με το ρυθμιστικό διάλυμα εκκύλισης.

Η μέθοδος γίνεται με την τοποθέτηση του δείγματος στην θέση στην κασέτα. Το δείγμα οδεύει προς την ζώνη του συζεύγματος και αν υπάρχει το ένζυμο MCR-1 αντιδρά με τα σημασμένα μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του ενζύμου MCR-1.

Το σύμπλοκο οδεύει μέσω της μεμβράνης από νιτροκυτταρίνη με τριχοειδείς δυνάμεις και αλληλεπιδρά με μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού έναντι του ενζύμου MCR-1 που έχουν ακινητοποιηθεί στη ζώνη του test T.

Η γραμμή ποιοτικού ελέγχου (C) σχηματίζεται από σημασμένη στρεπταβιδίνη και σημασμένα μονοκλωνικά αντισώματα που αντιδρούν με biotin-BSA και πολυκλωνικά αντισώματα κατσίκας έναντι ποντικού που έχουν ακινητοποιηθεί στην μεμβράνη.

Αν το δείγμα είναι θετικό στο MCR-1, μία κόκκινη ζώνη εμφανίζεται στη θέση του test (T) και άλλη μία ζώνη στη θέση ποιοτικού ελέγχου (C) στην μεμβράνη. Αν το δείγμα είναι αρνητικό εμφανίζεται μία μόνον ζώνη στη θέση ποιοτικού ελέγχου (C).

## ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

**Κάθε κιτ περιλαμβάνει:**

- 20 κασέτες δοκιμής σε σακούλα αλουμινίου με αφυγραντικό
- 20 μικροσωληνάρια
- 20 πιπέτες των 100 µL
- 1 ρυθμιστικό διάλυμα εκκύλισης σε μία πλαστική φιάλη (4.5 mL)
- 1 φυλλάδιο

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Χρονόμετρο • Γάντια μιας χρήσης • Κρίκοι • Vortex

## ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Διαγνωστικό τέστ in vitro. Για επαγγελματική χρήση μόνον.
- Όλοι οι χειρισμοί της μεθόδου θα πρέπει να γίνονται σύμφωνα με καλές εργαστηριακές πρακτικές.
- να μην χρησιμοποιείται μετά τον χρόνο λήξης.
- οι μηχανισμοί θα πρέπει να παραμένουν στα σφραγισμένα σακουλάκια τους έως ότου χρησιμοποιηθούν.
- να χειρίζεστε τα δείγματα ως δυνητικά μολυσματικά.
- μετά την χρήση των κασετών πετάτε τις σε κάδο μολυσματικών απορριμμάτων.
- να μην ξαναχρησιμοποιήσετε την κασέτα.

## ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Αποθηκεύστε τις συσκευές στα σφραγισμένα σακουλάκια τους στους 4-30°C. Μην τις καταψύξετε. Το κίτ είναι σταθερό έως τον αναγραφόμενο χρόνο λήξης στην ετικέτα του κίτ.

## ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΚΑΙ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Τα προς έλεγχο δείγματα θα πρέπει να λαμβάνονται και να χειρίζονται σύμφωνα με πρότυπες μικροβιολογικές τεχνικές. Η συλλογή της αποικίας γίνεται μετά από καλλιέργεια σε θρεπτικό υλικό στερεού άγαρ και αμέσως μετά θα πρέπει να εναιωρηθεί στο ρυθμιστικό διάλυμα εκκύλισης, που παρέχεται στο κίτ. Συνιστάται να συλλέγονται φρέσκες βακτηριακές αποικίες για άριστη απόδοση της μεθόδου.

### **Προτεινόμενα θρεπτικά υλικά:**

Ζυμός Luria (LB) και LB agar, Trypticase soy agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar και URI-4, Columbia agar + 5% horse blood, ChromIDTM ESBL agar, Chrom IDR CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar.

## ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

**1 /** Φοράτε προστατευτικά γάντια.

**2 /** Αφήστε τα συστατικά του κίτ σε θερμοκρασία δωματίου για τουλάχιστον 10 λεπτά.

### **Προετοιμασία του δείγματος**

**1/** Βάλτε 5 σταγόνες (150 µL) του ρυθμιστικού διαλύματος εκκύλισης σε ένα παρεχόμενο μικροσωληνάρια.

**2 /** Στην καλλιέργεια σε θρεπτικό υλικό στερεού άγαρ συλλέγουμε μία αποικία με ένα κρίκο και μετά την εναιωρούμε στο σωληνάριο που περιέχει το ρυθμιστικό διάλυμα εκκύλισης.

**3 /** Κλείστε τον μικροσωλήνα.

**4 /** Ανακινούμε με vortex για την ομογενοποίηση του μίγματος, πριν τη χρήσης του.

### **Διεξαγωγή του τέστ**

**1 /** Ανοίξτε το σακουλάκι και βγάλτε την κασέτα. Η κασέτα θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί αμέσως μετά.

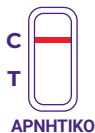
**2 /** Με την πιπέττα ,συλλέξτε 100 µL από το ομογενοποιημένο μίγμα (γεμίστε έως το μαύρο σημάδι της πιπέττας για το όγκο των 100 µL) και βάλτε τον σωστό όγκο στη θέση με την ένδειξη S.

**3 /** Διαβάστε τα αποτελέσματα σε 15 λεπτά όπως περιγράφεται παρακάτω.

**ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Μην ερμηνεύετε τα αποτελέσματα της δοκιμής μετά από 20 λεπτά, διότι μπορεί να ποικίλουν προκαλώντας ψευδώς θετικά αποτελέσματα.**



## ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ



ΑΡΝΗΤΙΚΟ

**Αρνητικό αποτέλεσμα**

Μία μοναδική κόκκινη ζώνη εμφανίζεται στη θέση ποιοτικού ελέγχου (C). Το δείγμα δεν περιέχει το ένζυμο MCR-1 ή οποιαδήποτε ανιχνεύσιμη συγκέντρωση και θα πρέπει να ερμηνευτεί ως αρνητικό αποτέλεσμα.

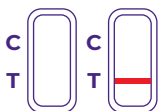


ΒΙΒ ΘΕΤΙΚΟ

**Θετικό αποτέλεσμα**

Δύο κόκκινες ζώνες εμφανίζονται, μία στη θέση ποιοτικού ελέγχου (C) και μία στη θέση του τέστ (T). Το δείγμα περιέχει το ένζυμο MCR-1 και ερμηνεύεται ως θετικό αποτέλεσμα.

**ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Η ένταση της κόκκινης ζώνης στη θέση του τέστ T είναι δυνατόν να διαφέρει ανάλογα με την συγκέντρωση του ενζύμου MCR-1 στο δείγμα. Αχνή ζώνη θα πρέπει να ερμηνεύεται ως θετικό αποτέλεσμα.



ΑΚΥΡΟ

**Άκυρο αποτέλεσμα**

Αν η γραμμή του μάρτυρα (C) δεν εμφανίζεται, η δοκιμή δεν είναι έγκυρη. Οι πιο πιθανές αιτίες για την αποτυχία της γραμμής του μάρτυρα είναι ο ανεπαρκής όγκος δείγματος ή η λανθασμένη διαδικασία.

Θα μπορούσε να έχει συμβεί αλλοίωση του κιτ. Επαναλάβετε την διαδικασία χρησιμοποιώντας ένα καινούριο τεστ. Αν το πρόβλημα επιμένει μην ξαναχρησιμοποιήσετε το κίτ και επικοινωνήστε με τον αντιπρόσωπο σας.

## ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Ενας εσωτερικός μάρτυρας περιλαμβάνεται στο τεστ. Αν εμφανίζεται η ζώνη ποιοτικού ελέγχου πιστοποιείται ο επαρκής όγκος του δείγματος και ότι η διαδικασία ακολουθήθηκε σωστά.

## ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το τεστ είναι ποιοτικό και δεν μπορεί να δώσει οποιοδήποτε ποσοτικό αποτέλεσμα. Το τεστ θα πρέπει να χρησιμοποιείται σαν ένα βοήθημα για την ταχεία ταυτοποίηση ασθενών που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά της colistin. Τα λαμβανόμενα αποτελέσματα θα πρέπει να επιβεβαιώνονται με εναλλακτικές ή συμπληρωματικές διαγνωστικές τεχνικές. Ένα θετικό ή αρνητικό αποτέλεσμα δεν θα πρέπει να αποκλείει την παρουσία άλλων μηχανισμών αντοχής στα αντιβιοτικά.

## ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΠΙΔΟΣΗΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

**Όριο ανίχνευσης:**

Το όριο ανίχνευσης καθορίστηκε με χρήση ενός καθαρού ανασυνδιασμένου ενζύμου MCR-1 και υπολογίστηκε σε 300 pg/mL.

**Διασταυρούμενες αντιδράσεις:**

Όλα τα αποτελέσματα συσχετίστηκαν με τον γονότυπο των στελεχών που καθορίστηκαν με ανάλυση PCR.

Το τεστ **NG-TEST® MCR-1** ανιχνεύει ορισμένες ποικιλίες του MCR-2.

**Επικύρωση με τράπεζες στελεχών αναφοράς:**

Το τεστ **NG•TEST® MCR-1** αξιολογήθηκε σε 44 κλινικά στελέχη στο NRC Kremlin Bicetre Paris (National Reference Center), σε 123 κλινικά στελέχη στο ANSES (National Health Security Agency) Lyon και 117 κλινικά στελέχη στο NRC Clermont Ferrand (National Reference Center).

Συνολικά αξιολογήθηκαν 284 στελέχη.

**Πίνακας 1: Αποτελέσματα από το NRC Kremlin Bicetre Paris**

		ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ		
		ΘΕΤΙΚΟ	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	ΣΥΝΟΛΟ
NG•TEST® MCR-1	ΘΕΤΙΚΟ	25	3 (mcr-2)	28 (ανιχνεύθηκαν 3 mcr-2)
	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	0	16	16
	ΣΥΝΟΛΟ	25	19	44
ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ	100%	διάστημα εμπιστοσύνης 95% [86.7% ; 100%]		
ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ	84.2%	διάστημα εμπιστοσύνης 95% [62.4% ; 94.5%]		

**Πίνακας 2: Αποτελέσματα από το NRC Clermont Ferrand**

		ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ		
		ΘΕΤΙΚΟ	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	ΣΥΝΟΛΟ
NG•TEST® MCR-1	ΘΕΤΙΚΟ	17	0	17
	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	0	100	100
	ΣΥΝΟΛΟ	17	100	117
ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ	100%	διάστημα εμπιστοσύνης 95% [81.6% ; 100%]		
ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ	100%	διάστημα εμπιστοσύνης 95% [96.3% ; 100%]		

**Πίνακας 3: Αποτελέσματα από το ANSES Lyon**

		ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ		
		ΘΕΤΙΚΟ	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	ΣΥΝΟΛΟ
NG•TEST® MCR-1	ΘΕΤΙΚΟ	59	0	59
	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	0	64	64
	ΣΥΝΟΛΟ	59	64	123
ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ	100%	διάστημα εμπιστοσύνης 95% [93.9% ; 100%]		
ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ	100%	διάστημα εμπιστοσύνης 95% [94.3% ; 100%]		

Πίνακας 4: Συνολικά αποτελέσματα από τα τρία Κέντρα

		ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ		
		ΘΕΤΙΚΟ	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	ΣΥΝΟΛΟ
NG•TEST® MCR-1	ΘΕΤΙΚΟ	101	3 (mcr-2)	104
	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	0	180	180
	ΣΥΝΟΛΟ	101	183	284
ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ	100%	διάστημα εμπιστοσύνης 95% [96.3% ; 100%]		
ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ	98.4%	διάστημα εμπιστοσύνης 95% [95.3% ; 99.4%]		

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Η βιβλιογραφία βρίσκεται στο τέλος του εγγράφου.

## ΣΥΜΒΟΛΑ



Περιεχόμενο για 20 δοκιμασίες



Ημερομηνία λήξης



Όριο θερμοκρασίας



*in vitro*  
διαγνωστικό  
ιατροτεχνολογικό  
προϊόν



Να μην  
επαναχρησιμοποιείται



Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης



Αριθμός παρτίδας



Αναφορά καταλόγου



Εισαγωγέας



Κατασκευαστής



Αποκλειστικό αναγνωριστικό τεχνολογικού προϊόντος

Αυτό το κιτ αναπτύχθηκε σε συνεργασία με το CEA\*.

\*Η Γαλλική Επιτροπή Εναλλακτικών Ενέργειών και Ατομικής Ενέργειας είναι βασικός παράγοντας στην έρευνα, την ανάπτυξη και την καινοτομία.

## INTRODUCCIÓN

**NG-TEST<sup>®</sup> MCR-1** es una prueba rápida inmunológica para la detección de la enzima MCR-1 en una colonia bacteriana después del cultivo. Es una prueba de diagnóstico in vitro para uso exclusivamente profesional que ayuda a la identificación rápida de bacterias resistentes a los antibióticos.

## SIGNIFICADO CLÍNICO

La existencia de cepas bacterianas Gram negativas multiresistentes representa una amenaza global creciente. Son la causa del incremento de infecciones nosocomiales hospitalarias. La polimixina E (colistina) es un antibiótico considerado de último recurso contra infecciones causadas por cepas resistentes.

La aparición del gen MCR-1 (mobilized colistin resistance) de resistencia a la colistina en el genoma de plásmidos bacterianos cuestiona el uso de colistina. Este gen se descubrió en China en 2011 y actualmente se encuentra en 18 países. Evitar la propagación a otros países es una prioridad de salud pública global. De hecho, el gen MCR-1 que codifica el enzima MCR-1 confiere a la bacteria resistencia a la colistina, añadiendo un residuo de fosfoetanolamina al lípido A del lipopolisacárido (LPS) de la bacteria, de modo que inhibe la unión de colistina al LPS y afecta su mecanismo de operación. Este enzima de resistencia antibiótica coexiste con otros como carbapenemasas y  $\beta$ -lactamasas de espectro ampliado (BLEA), causando un grave problema difícil de prevenir.

## PRINCIPIO

**NG-TEST<sup>®</sup> MCR-1** se lleva a cabo a partir de una colonia bacteriana obtenida en medio de cultivo de agar sólido tras 16 a 24 horas de incubación y procesada en un tampón de extracción.

La prueba se realiza entonces dispensando la muestra en el pozo del cassette. La muestra migra a través del papel conjugado y las enzimas, si están presentes, reaccionan con los anticuerpos monoclonales anti-MCR-1 marcados. El complejo migra a través de la membrana de nitrocelulosa por capilaridad e interactúa con los anticuerpos monoclonales de rata anti-MCR-1 inmovilizados en la zona de test (T). La línea de control (C) se forma por la fijación de la estreptavidina marcada y anticuerpos monoclonales marcados. Estos reaccionan con anticuerpos policlonales anti-ratón de cabra y biotina-BSA inmovilizados en la membrana. Si la muestra es positiva, aparecerá una línea roja tanto en la zona de test (T) como en la zona de control (C). De lo contrario, solo aparecerá una línea roja en la zona de control (C).

## REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

**Cada kit contiene:**

- 20 placas envasadas individualmente en aluminio con desecante
- 20 microtubos
- 20 pipetas desechables de 100  $\mu$ L
- 1 botella de solución de tampón de extracción (4,5 mL)
- 1 folleto

## MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Cronómetro • Guantes desechables • Asa • Vórtex

## PRECAUCIONES

- Test de diagnóstico in vitro. Sólo para uso profesional.
- El procedimiento debe llevarse a cabo siguiendo las buenas prácticas de laboratorio.
- No utilizar si ha caducado.
- No abrir los estuches de las placas hasta su uso.
- Manipular las muestras como potencialmente infecciosas.
- Tras su uso, eliminar la placa en un contenedor de residuos infecciosos.

- No reutilizar la placa.

### ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar las placas en sus envases debidamente cerrados a 4-30°C. Las placas son estables hasta la fecha de caducidad indicada en cada estuche. La caja es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

### CULTIVO Y MUESTREO

Las muestras que se van a analizar deben obtenerse y manipularse según procedimientos estandarizados de microbiología.

En una placa de cultivo de agar sólido, se toma una colonia con un asa y se suspende en el tampón de extracción.

Es altamente recomendable emplear colonias frescas para la obtención de resultados óptimos.

#### Medios de cultivo recomendados:

Caldo Luria (LB) y LB agar, Trypticase soy agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar y URI-4, Columbia agar + 5% con sangre de caballo, ChromIDTB ESB� agar, ChromIDR CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar.

### PROCEDIMIENTO OPERATIVO

1/ Emplear guantes.

2/ Dejar los componentes del kit a temperatura ambiente al menos 10 minutos.

#### Preparación de la muestra

1/ Dispensar 5 gotas (150 µL) de tampón de extracción en un microtubo (incluido en el kit).

2/ En la placa de cultivo de agar sólido, tomar una colonia con un asa y suspenderla en el microtubo que contiene el tampón de extracción.

3/ Cerrar el microtubo con el tapón.

4/ Homogeneizar la mezcla con el vortex.

#### Realización de la prueba

1/ Abrir el envase, extraer la placa y realizar el análisis de inmediato.

2/ Tomar 100 µl de la mezcla con la pipeta (la muestra debe llegar a la línea negra de la pipeta para tomar exactamente 100 µL) y dispensar el volumen adecuado en el pozo de la muestra identificado como "S".

3/ Leer los resultados a los 15 minutos e interpretarlos tal como se indica a continuación.

**NOTA: No leer el test pasados 20 minutos. Los resultados pueden variar causando potencialmente falsos positivos.**

### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS



**NEGATIVO**

#### Resultado negativo

Sólo aparece una línea coloreada en la zona de control (C): la muestra no contiene enzima MCR-1 o el nivel que se detecta de enzima debe interpretarse como resultado negativo.



### Resultado positivo

Aparecen dos líneas coloreadas, una en la zona de control (C) y otra en la zona de test (T): la muestra contiene enzima MCR-1 y debe interpretarse como resultado positivo.

**NOTA:** La intensidad de la línea de test (T) puede variar dependiendo del nivel de enzima MCR-1 en la muestra. Una línea de baja intensidad debe considerarse como un resultado positivo.



### Resultado no válido

Si no aparece la línea de control (C), el resultado se considera no válido. Las causas suelen ser volumen insuficiente de muestra o un procedimiento incorrecto. También puede deberse a un deterioro en el kit. Repetir el procedimiento con una nueva placa. Si persiste el problema, no volver a utilizar el kit y contactar con el distribuidor.

### CONTROL DE CALIDAD

La prueba incluye un control interno. Si aparece la línea de control, se confirma que el volumen de muestra ha sido suficiente y que el procedimiento ha sido correcto.

### LIMITACIONES

Ésta es una prueba cualitativa por lo que no puede proporcionar resultados cuantitativos. Esta prueba de cribado permite una rápida clasificación de pacientes. Los resultados obtenidos deben ser confirmados mediante procedimientos diagnósticos alternativos o complementarios. Un resultado positivo o negativo no descarta la presencia de otros mecanismos de resistencia antibiótica.

### ESPECIFICACIONES TÉCNICAS

#### Límite de detección:

El límite de detección se determinó empleando enzimas recombinantes purificado MCR-1 y se evaluó en 300 pg/mL.

#### Reacciones cruzadas:

**NG-TEST<sup>®</sup> MCR-1** Todos los resultados se correlacionaron con el genotipo de cepas determinado por PCR.

**NG-TEST<sup>®</sup> MCR-1** detecta algunas variantes de MCR-2.

#### Validación clínica:

**NG-TEST<sup>®</sup> MCR-1** se evaluó en 44 cepas clínicas en el CNR Kremlin Bicêtre (Centro Nacional de Referencia) Paris (Francia), 123 cepas clínicas en ANSES (National Health Security Agency) Lyon (Francia) y 117 cepas clínicas en el CNR Clermont Ferrand (Centro Nacional de Referencia).

Se evaluaron un total de 284 cepas.

Tabla 1: Resultados obtenidos en CNR Kremlin Bicêtre

		ESTADO		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIVO	25	3 (mcr-2)	28 (3 mcr-2 detectados)
	NEGATIVO	0	16	16
	TOTAL	25	19	44
SENSIBILIDAD	100%	INTERVALO DE CONFIANZA 95% [86.7% ; 100%]		
ESPECIFICIDAD	84.2%	INTERVALO DE CONFIANZA 95% [62.4% ; 94.5%]		

Tabla 2: Resultados obtenidos en CNR Clermont-Ferrand

		ESTADO		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIVO	17	0	17
	NEGATIVO	0	100	100
	TOTAL	17	100	117
SENSIBILIDAD	100%	INTERVALO DE CONFIANZA 95% [81.6% ; 100%]		
ESPECIFICIDAD	100%	INTERVALO DE CONFIANZA 95% [96.3% ; 100%]		

Tabla 3: Resultados obtenidos en ANSES Lyon

		ESTADO		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIVO	59	0	59
	NEGATIVO	0	64	64
	TOTAL	59	64	123
SENSIBILIDAD	100%	INTERVALO DE CONFIANZA 95% [93.9% ; 100%]		
ESPECIFICIDAD	100%	INTERVALO DE CONFIANZA 95% [94.3% ; 100%]		

Tabla 4: Resultados totales de MCR-1 para los tres centros

		ESTADO		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIVO	101	3 (mcr-2)	104
	NEGATIVO	0	180	180
	TOTAL	101	183	284
SENSIBILIDAD	100%	INTERVALO DE CONFIANZA 95% [96.3% ; 100%]		
ESPECIFICIDAD	98.4%	INTERVALO DE CONFIANZA 95% [95.3% ; 99.4%]		

## REFERENCIAS

La bibliografía se encuentra al final del documento.

## SÍMBOLOS

	Contenido para 20 ensayos		Fecha de caducidad		Límite de temperatura
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		No reutilice		Consulte el modo de empleo
	Número de lote		Referencia del catálogo		Identificación única del producto
	Importador		Fabricante		



Este kit se ha desarrollado en colaboración con la CEA\*.

\*La Comisión Francesa de Energías Alternativas y Energía Atómica es un actor clave en investigación, desarrollo e innovación.



## INTRODUZIONE

**NG-TEST® MCR-1** è un test rapido immunologico per la rilevazione dell'enzima MCR-1 a partire da una singola colonia batterica ottenuta da coltura. È un test diagnostico in vitro per uso esclusivamente professionale che aiuta nella rapida identificazione di batteri resistenti agli antibiotici.

## SOMMARIO

La presenza di ceppi batterici Gram-negativi multiresistenti rappresenta una minaccia globale e crescente. Tali ceppi contribuiscono all'aumento delle infezioni nosocomiali. La polimixina E (colistina) è un antibiotico considerato di ultima istanza nella difesa contro le infezioni causate da ceppi multiresistenti.

La rilevazione del gene MCR-1 (mobilized colistin resistance) nel genoma dei plasmidi batterici mette in discussione l'uso della colistina. Questo gene è stato scoperto per la prima volta in Cina nel 2011 ed è presente fino ad oggi in circa 18 paesi. La diffusione di ceppi resistenti in altre parti del mondo potrebbe costituire una grande sfida per la salute pubblica. Infatti, il gene MCR-1, che codifica per l'enzima MCR-1, conferisce resistenza alla colistina. Permette l'aggiunta di un residuo di fosfoetanolamina al lipide A lipopolisaccaride (LPS), e quindi inibisce l'attacco della colistina al LPS alterando in tal modo il suo meccanismo di funzionamento. Questo enzima potrebbe coesistere con altri enzimi, come le carbapenemasi e le  $\beta$ -lattamasi a spettro esteso, causando così un difficile problema che dovrà essere affrontato in anticipo.

## PRINCIPIO

**NG-TEST® MCR-1** è effettuato a partire da una colonia batterica prelevata su un terreno di coltura agarizzato (solido) dopo 16-24 ore di incubazione, e trattata in un tampone di estrazione.

Poi il test viene eseguito dispensando il campione nel pozzetto della cassetta. Il campione migra attraverso la striscia coniugata, e gli enzimi se presenti, reagiscono con gli anticorpi monoclonali anti-MCR-1 marcati. Il complesso migra per capillarità attraverso la membrana di nitrocellulosa e interagisce con gli anticorpi di topo monoclonali anti-MCR-1 immobilizzati sulla membrana. La linea di controllo (C) è formata dal legame della streptavidina marcata e dagli anticorpi monoclonali marcati. Reagiscono con anticorpi policlonali di capra anti-topo e biotina-BSA immobilizzati sulla membrana. Se il campione è positivo, una linea rossa apparirà sia nell'area di test (T) che nell'area di controllo (C). Altrimenti, solo una linea rossa apparirà nell'area di controllo (C).

## REAGENTI E MATERIALI FORNITI

**Ciascun kit contiene:**

- 20 test card confezionate in sacchetti di alluminio sigillati con un agente essiccante
- 20 microprovette
- 20 pipette da 100  $\mu$ L
- 1 soluzione buffer di estrazione in un flaconcino di plastica (4,5 mL)
- 1 foglio di Istruzioni per l'Uso

## MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Timer • Guanti monouso • Anse • Vortex

## PRECAUZIONI

- Test diagnostico in vitro. Solo per uso professionale.
- Tutte le operazioni devono essere condotte in conformità con la buona pratica di laboratorio.
- Non utilizzare dopo la data di scadenza.
- La card deve essere conservata nel proprio involucro sigillato fino al momento dell'utilizzo.

- Manipolare i campioni come se fossero potenzialmente infettivi.
- Dopo l'utilizzo, smaltire le card e i reagenti in un contenitore per rifiuti infettivi.
- Non riutilizzare le card.

### CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare le card nel loro involucro sigillato a una temperatura compresa tra 4 e 30°C. Non congelare. I kit sono stabili fino alla data di scadenza indicata su ciascun kit.

### PRELIEVO DEI CAMPIONI

I campioni da analizzare devono essere ottenuti e manipolati in accordo con le procedure microbiologiche standardizzate.

Con un'ansa prelevare una colonia cresciuta su agar solido e risospenderla nel tampone d'estrazione fornito nel kit.

Per prestazioni ottimali, si raccomanda vivamente l'uso di colonie batteriche fresche.

#### **Terreni di coltura raccomandati:**

Luria Broth (LB) e LB agar, Trypticase soy agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar e URI-4, Columbia agar + 5% horse blood, ChromIDTM ESBL agar, ChromIDR CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar.

### PROCEDURA OPERATIVA

**1** / Indossare guanti protettivi.

**2** / Prima di eseguire l'analisi, consentire a tutti i componenti del kit di raggiungere la temperatura ambiente per almeno 10 minuti.

#### **Preparazione del campione**

**1** / Dispensare 5 gocce (150 µL) di tampone d'estrazione in una microprovette fornita.

**2** / Con un'ansa, prelevare una colonia cresciuta su agar solido, quindi risospenderla nella microprovette contenente il tampone d'estrazione.

**3** / Chiudere la microprovette con il tappo.

**4** / Prima dell'uso, omogeneizzare la soluzione mediante Vortex.

#### **Esecuzione del test**

**1** / Aprire l'involucro ed estrarre la card. Una volta aperta la confezione, utilizzare subito la card.

**2** / Utilizzando la pipetta fornita, dispensare 100 µL di soluzione preparata (il campione deve raggiungere la linea nera indicata sulla pipetta per poter trasferire 100 µL) nel pozzetto campione marcato con la lettera "S".

**3** / Leggere i risultati dopo 15 minuti come indicato di seguito.

**NOTA: non interpretare i risultati del test dopo che siano trascorsi 20 minuti. I risultati possono variare potenzialmente causando falsi positivi.**

### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI



**NEGATIVO**

#### **Risultato negativo**

Appare solo una linea rossa nella regione controllo (C). Il campione non contiene l'enzima MCR-1 o contiene MCR-1 a livelli non rilevabili e deve essere interpretato come risultato negativo.



### Risultato positivo

Appaiono due linee: una nella regione controllo (C) e una nella regione test (T). Il campione contiene l'enzima MCR-1 e deve essere interpretato come risultato positivo.

**NOTA:** l'intensità della linea rossa Test potrebbe variare in relazione al livello di enzima presente nel campione. Una linea a bassa intensità dovrebbe essere considerata un risultato positivo.



### Risultato non valido

Se la linea di controllo (C) non appare, il risultato del test non è valido. Le cause principali potrebbero essere dovute all'insufficiente quantità di campione o ad una procedura non corretta. Potrebbe anche essersi verificato un deterioramento del kit.

Ripetere la procedura utilizzando un nuovo test.

Se il problema persiste, non riutilizzare il kit e contattare il distributore.

### CONTROLLO QUALITÀ

Nel test è incluso un controllo interno. Quando si sviluppa la linea di controllo, ciò sta a significare che il volume del campione era sufficiente e la procedura corretta.

### LIMITI

Questo test è un test qualitativo, pertanto non è in grado di fornire risultati quantitativi. Questo test di prima-linea permette una rapida classificazione dei pazienti. I risultati ottenuti devono essere confermati con specifiche colture su agar e allestendo il test di sensibilità in MIC, Minima Concentrazione Inibente.

Un test positivo non esclude la presenza di altri meccanismi di antibiotico-resistenza.

### PERFORMANCE E CARATTERISTICHE

#### Limite di rilevazione:

Il limite di rilevazione è stato determinato utilizzando l'enzima MCR-1 purificato ricombinante e valutato a 300 pg/mL.

#### Cross-reattività:

Tutti i risultati sono stati correlati al genotipo dei ceppi determinato mediante analisi PCR.

**NG-TEST® MCR-1** rileva alcune varianti MCR-2.

#### Validazione clinica:

Il test **NG-TEST® MCR-1** è stato valutato su 44 ceppi clinici al CNR Kremlin Bicêtre Paris-France (Centro di riferimento Nazionale), 123 ceppi clinici presso ANSES (National Health Security Agency) Lyon e 117 ceppi clinici al CNR Clermont Ferrand (Centro di riferimento Nazionale).

Sono stati valutati in tutto 284 ceppi.

Tabella 1: Risultati ottenuti al CNR Kremlin Bicêtre

		STATUS		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTALE
NG•TEST® MCR-1	POSITIVO	25	3 (mcr-2)	28 (3 mcr-2 rilevato)
	NEGATIVO	0	16	16
	TOTALE	25	19	44
SENSIBILITÀ	100%	INTERVALLO DI CONFIDENZA 95% [86.7% ; 100%]		
SPECIFICITÀ	84.2%	INTERVALLO DI CONFIDENZA 95% [62.4% ; 94.5%]		

Tabella 2: Risultati ottenuti al CNR Clermont-Ferrand

		STATUS		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTALE
NG•TEST® MCR-1	POSITIVO	17	0	17
	NEGATIVO	0	100	100
	TOTALE	17	100	117
SENSIBILITÀ	100%	INTERVALLO DI CONFIDENZA 95% [81.6% ; 100%]		
SPECIFICITÀ	100%	INTERVALLO DI CONFIDENZA 95% [96.3% ; 100%]		

Tabella 3: Risultati ottenuti all'ANSES Lyon

		STATUS		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTALE
NG•TEST® MCR-1	POSITIVO	59	0	59
	NEGATIVO	0	64	64
	TOTALE	59	64	123
SENSIBILITÀ	100%	INTERVALLO DI CONFIDENZA 95% [93.9% ; 100%]		
SPECIFICITÀ	100%	INTERVALLO DI CONFIDENZA 95% [94.3% ; 100%]		

Tabella 4: Risultati complessivi dei tre siti per MCR-1

		STATUS		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTALE
NG•TEST® MCR-1	POSITIVO	101	3 (mcr-2)	104
	NEGATIVO	0	180	180
	TOTALE	101	183	284
SENSIBILITÀ	100%	INTERVALLO DI CONFIDENZA 95% [96.3% ; 100%]		
SPECIFICITÀ	98.4%	INTERVALLO DI CONFIDENZA 95% [95.3% ; 99.4%]		

**BIBLIOGRAFIA**

La bibliografia si trova alla fine del documento.

**SIMBOLI**

Quantità  
sufficiente  
per 20 tests



Dispositivo medico  
per test  
diagnostici *in vitro*



Numero di lotto



Importatore



Data di scadenza



Non riutilizzare



Riferimento  
catalogo



Produttore



Limite di  
temperatura



Consultare  
le istruzioni  
per l'uso



Identificativo  
unico del  
dispositivo



Questo kit è stato sviluppato in collaborazione con la CEA\*.

\*La Commissione francese per le energie alternative e l'energia atomica è un attore chiave nella ricerca, nello sviluppo e nell'innovazione.

## USO PRETENDIDO

O **NG-TEST® MCR-1** é um imunoensaio qualitativo rápido para a deteção da enzima MCR-1 em colónia bacteriana obtida a partir de cultura. É um ensaio de diagnóstico in vitro, apenas para uso profissional, que ajuda na identificação rápida de bactérias resistentes a antibióticos.

## RESUMO

A presença de estirpes bacterianas multirresistentes Gram-negativas representa uma ameaça crescente e global. Estas constituem um aumento de infeções nosocomiais em meio hospitalar. A Polimixina E (colistina) é um antibiótico considerado como uma última linha de defesa contra infeções causadas por estirpes resistentes.

O aparecimento do gene MCR-1 (resistência à colistina mobilizada) no genoma de plasmídeos bacterianos coloca em questão o uso da colistina.

Este gene foi descoberto pela primeira vez na China em 2011 e está presente até hoje em cerca de 18 países. A disseminação global é um desafio em termos de segurança sanitária. De facto, o gene MCR-1 que codifica a enzima MCR-1 confere uma resistência antimicrobiana à colistina. Permite a adição de um resíduo de fosfoetanolamina às bactérias de lipopolissacarídeos (LPS) tipo A e inibe desta forma a ligação da colistina ao LPS, afetando assim o seu mecanismo de funcionamento. Esta enzima de resistência a antibióticos coexiste com outras, como as carbapenemases e as  $\beta$ -lactamases de espectro alargado, causando um problema difícil de prever.

## PRINCÍPIO

O **NG-TEST® MCR-1** é um imunoensaio rápido pronto a utilizar, para a deteção da enzima MCR-1 em colónia bacteriana amostrada num meio de ágar sólido após cultura (uma noite) e processada num tampão de extração.

O ensaio é realizado distribuindo a amostra no poço da cassete. A amostra migra em direção ao bloco conjugado e, se presente, as MCR-1enzimas reagem com anticorpos monoclonais marcados de murganho anti-MCR-1. O complexo migra através da membrana de nitrocelulose por capilaridade e interage com os anticorpos monoclonais de murganho anti-MCR-1 imobilizados na membrana, na região de teste "T".

A linha de controlo C, é formada por estreptavidina marcada e anticorpos monoclonais que reagem com biotina-BSA e anticorpos policlonais de cabra anti murganho imobilizados na membrana.

Se a amostra for positiva para MCR-1, irá aparecer uma linha vermelha na região de teste "T" e na região de controlo "C" da membrana. Caso contrário, apenas irá aparecer uma linha vermelha na região de controlo "C". Caso contrário, apenas vai aparecer uma linha vermelha na zona de controlo.

## REAGENTES E MATERIAIS FORNECIDOS

**Cada kit contém:**

- 20 cassetes de teste em bolsas de alumínio com dessecante
- 20 microtubos
- 20 pipetas descartáveis de 100  $\mu$ L
- 1 solução tampão de extração num frasco de plástico (4,5 mL)
- 1 instruções de utilização

## MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Temporizador • Luvas de uso único • Ansa • Vórtex

## PRECAUÇÕES

- Teste de diagnóstico in vitro. Apenas para uso profissional.
- Todas as operações devem ser realizadas de acordo com as boas práticas de laboratório.
- Não utilize após o prazo de validade.
- Os dispositivos devem permanecer nas bolsas seladas até que sejam usados.

- Manuseie as amostras como se fossem potencialmente infecciosas.
- Após o uso, descarte o dispositivo num contentor de resíduos infecciosos.
- Não reutilize o dispositivo de transferência.

### ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Guarde os dispositivos nos seus sacos selados entre 4 e 30°C. Não congelar. Os kits são estáveis até a data de validade indicada em todos os kits.

### CULTURA E AMOSTRAGEM

As amostras a serem testadas devem ser obtidas e manuseadas de acordo com os procedimentos microbiológicos padronizados. Uma colónia irá ser colhida de uma cultura sólida à base de ágar, seguidamente será suspensa no tampão de extração fornecido no kit. É altamente recomendável utilizar colónias bacterianas frescas para que o desempenho do ensaio seja o ideal.

#### Meios de cultura recomendados:

Luria Broth (LB) e ágar LB, ágar Trypticase soja (TSA), ágar Mueller Hinton (MH) e URI-4, ágar Columbia + 5% sangue de cavalo, ágar ChromIDTM ESB, ágar ChromIDR CARBA SMART, Drigalski (DRIG).

### PROCEDIMENTO OPERACIONAL

- 1 / Utilizar luvas de proteção.
- 2 / Trazer os componentes do kit à temperatura ambiente durante pelo menos 10 minutos.

#### Preparação da amostra

- 1 / Dispensar 5 gotas (150 µL) de tampão de extração num dos microtubos fornecidos no kit.
- 2 / A partir de uma cultura sólida à base de ágar, recolha uma colónia com uma ansa e, em seguida, suspenda-a no microtubo que contém 150 µL de tampão de extração.
- 3 / Feche o microtubo.
- 4 / Vórtex para homogeneizar a mistura antes de usar.

#### Execução do ensaio

- 1 / Abra a bolsa e retire o dispositivo. Depois de aberto, use o teste imediatamente.
- 2 / Usando a pipeta fornecida, adicione 100 µL da mistura preparada (a amostra deve alcançar a linha preta indicada na pipeta para aspirar com precisão 100 µL) no poço da amostra identificado com "S".
- 3 / Leia os resultados após 15 minutos e interprete-os como indicado abaixo.

**NOTA : Não interprete os resultados do teste após 20 minutos, pois estes possivelmente podem variar, causando resultados falsos positivos.**

### INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS



**NEGATIVO**

#### Resultado negativo

Se apenas aparecer uma linha vermelha na região de controlo (C): a amostra não contém a enzima MCR-1 ou nível não detetável desta e deve ser interpretado como um resultado negativo.



### Resultado positivo

Se duas linhas vermelhas aparecerem, uma na região de controlo (C) e outra na região de teste (T): a amostra contém a enzima MCR-1 e deve ser interpretada como um resultado positivo.

**NOTA :** A intensidade da(s) linha(s) de teste vermelha pode variar dependendo da concentração do nível de enzima MCR-1 na amostra. Uma linha fraca deve ser considerada como um resultado positivo.



### Resultado inválido

Se a linha de controlo (C) não aparecer, o resultado do teste é inválido. Volume de amostra insuficiente ou um procedimento incorreto são os motivos mais prováveis de falha na linha de controlo.

Pode ter ocorrido deterioração do kit de teste. Repita o procedimento usando um novo teste. Se o problema persistir, não reutilize o kit e entre em contato com seu distribuidor.

### CONTROLO DE QUALIDADE

Está incluído um controlo interno no teste. Quando a linha de controlo se desenvolve, confirma que o volume da amostra foi suficiente e o procedimento estava correto.

### LIMITAÇÕES

Este teste é um ensaio qualitativo, por isso não pode produzir qualquer resultado quantitativo.

Este teste deve ser usado como uma ajuda para a identificação rápida de doentes com resistência a antibióticos colistínicos. Os resultados obtidos devem ser confirmados com procedimentos de diagnóstico alternativos ou complementares.

Um teste positivo ou negativo não exclui a presença de outros mecanismos de resistência a antibióticos.

### DESEMPENHO E CARACTERÍSTICAS

#### Limite de deteção:

O limite de deteção foi determinado utilizando uma enzima MCR-1 recombinante purificada e avaliada a 300 pg/mL.

#### Reatividade cruzada:

Todos os resultados foram correlacionados com o genótipo das estirpes determinadas pela análise de PCR.

O **NG-TEST<sup>®</sup> MCR-1** deteta algumas variantes do MCR-2.

#### Validação num banco de estirpe de referência:

O **NG-TEST<sup>®</sup> MCR-1** foi avaliado em 44 estirpes clínicas no NRC Kremlin Bicêtre Paris (Centro de Referência Nacional), 123 estirpes clínicas na ANSES (Agência Nacional de Segurança da Saúde) Lyon e 117 estirpes clínicas no NRC Clermont Ferrand.

Foram avaliadas um total de 284 estirpes.



Tabela 1: Resultados obtidos no NRC Kremlin Bicêtre

		ESTADO		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIVO	25	3 (mcr-2)	28 (3 mcr-2 detetados)
	NEGATIVO	0	16	16
	TOTAL	25	19	44
SENSIBILIDADE	100%	INTERVALO DE CONFIANÇA 95% [86.7% ; 100%]		
ESPECIFICIDADE	84.2%	INTERVALO DE CONFIANÇA 95% [62.4% ; 94.5%]		

Tabela 2: Resultados obtidos no NRC Clermont-Ferrand

		ESTADO		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIVO	17	0	17
	NEGATIVO	0	100	100
	TOTAL	17	100	117
SENSIBILIDADE	100%	INTERVALO DE CONFIANÇA 95% [81.6% ; 100%]		
ESPECIFICIDADE	100%	INTERVALO DE CONFIANÇA 95% [96.3% ; 100%]		

Tabela 3: Resultados obtidos na ANSES Lyon

		ESTADO		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIVO	59	0	59
	NEGATIVO	0	64	64
	TOTAL	59	64	123
SENSIBILIDADE	100%	INTERVALO DE CONFIANÇA 95% [93.9% ; 100%]		
ESPECIFICIDADE	100%	INTERVALO DE CONFIANÇA 95% [94.3% ; 100%]		

Tabela 4: Resultados gerais dos três locais para o MCR-1

		ESTADO		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIVO	101	3 (mcr-2)	104
	NEGATIVO	0	180	180
	TOTAL	101	183	284
SENSIBILIDADE	100%	INTERVALO DE CONFIANÇA 95% [96.3% ; 100%]		
ESPECIFICIDADE	98.4%	INTERVALO DE CONFIANÇA 95% [95.3% ; 99.4%]		

**BIBLIOGRAFIA**

A bibliografia pode ser encontrada no final do documento.

**SÍMBOLES**

Conteúdo para  
20 ensaios



Dispositivo médico  
de diagnóstico  
*in vitro*



Número de lote



Importador



Data de validade



Não reutilize



Referência de  
catálogo



Fabricante



Limite de  
temperatura



Consulte  
instruções de  
utilização



Identificador  
único do  
dispositivo



Este kit foi desenvolvido em colaboração com o CEA\*.

\*A Comissão Francesa das Energias Alternativas e da Energia Atômica é um ator-chave na investigação, desenvolvimento e inovação.

## ÚVOD

**NG-TEST® MCR-1** je kvalitatívnym rýchlym imunostanovením na detekciu MCR-1 enzýmu v bakteriálnej kolónii z skanej z kultivácie.

Test je určený iba pre *in vitro* diagnostické použitie, určené iba pre profesionálne použitie, ktorého cieľom je rýchla identifikácia baktérierezistentných voči antibiotikám.

## SUMAR

Prítomnosť gramnegatívnych multirezistentných bakteriálnych kmeňov predstavuje globálnu a rastúcu hrozbu. Predstavujú zvýšenie nozokomiálnych infekcií v nemocnici. Polymyxin E (colistín) je antibiotikum, ktoré sa považuje za poslednú obrannú líniu proti infekciám spôsobeným rezistentnými kmeňmi.

Objavenie sa génu MCR-1 (mobilizovaná rezistencia na colistín) v genóme bakteriálnych plazmidov spochybňuje použitie colistínu.

Tento gén bol prvýkrát objavený v Číne v roku 2011 a doteraz sa nachádza v približne 18 krajinách. Globálne rozšírenie je výzvou, pokiaľ ide o sanitárnu bezpečnosť. Gén MCR-1, ktorý kóduje enzým MCR-1, skutočne poskytuje antimikrobiálnu rezistenciu voči colistínu. Umožňuje prídanie fosfoetanolam nov ho zvyšku k lipopolysacharidovým (LPS) baktériálnym lipidu A, čím ovplyvňuje jeho mechanizmus pripojenia. Tento enzým rezistencie voči antibiotikám koexistuje s ďalšími, ako sú karbapenemázy a beta-laktamázy s rozšíreným spektrom, čo spôsobuje ťažkosti v predvídaní.

## PINCIP

**NG-TEST® MCR-1** je rýchly imunotest pripravený na použitie, je určený na detekciu MCR-1 enzýmu v bakteriálnej kolónii, ktorý vznikol kultiváciou na agare (cez noc) a bol prenesený do extrakčného pufru.

Pri testovaní sa napipetuje vzorka do jamky na kazete. Vzorka migruje k podložke s konjugátom a pokiaľ sú prítomné MCR-1 enzýmy, tak reaguje s označenými anti-MCR-1 myšmi monoclonálnymi protilátkami. Komplex migruje po nitrocelulóze zvonku membrány a kapilárnymi silami reaguje s anti-MCR-1 myšmi monoclonálnymi protilátkami imobilizovanými na membráne v testovacej oblasti „T“.

Kontrolná čiara C je tvorená značeným streptavidínom a monoclonálnymi protilátkami reagujúcimi s biotin-BSA a kozími anti-myšmi polyklonálnymi protilátkami imobilizovanými na membráne.

Pokiaľ je vzorka pozitívna na MCR-1, v testovacej oblasti „T“ sa objaví červená čiara a tiež v kontrolnej oblasti „C“. Pokiaľ je vzorka negatívna, objaví sa iba jedna čiara v kontrolnej oblasti „C“.

## REAGENCIE A MATERIÁL DODANÝ V SÚPRAVE

**Každá súprava obsahuje:**

- 20 testovacích kaziet v alumíniovom obale s vysúšacím balíčkom
- 20 mikroskúmaviek
- 20 jednorazových 100 µL pipiet
- 1 roztok extrakčného pufru v plastovej fľaške (4,5 mL)
- 1 návod na použitie

## MATERIÁL POTREBNÝ, ALE NIE JE SUČASŤOU SÚPRAVY

stopky • jednorazové rukavice • vortex • očko

## UPOZORNENIA

- *In vitro* diagnostický test. Iba pre profesionálne použitie.
- Všetky operácie musia byť vykonané v súlade so správnou laboratórnou praxou.
- Nepoužívajte po dátume expirácie.
- Kazeta musí až do použitia zostať v obale.
- So vzorkami zaobchádzajte ako s potenciálne infekčnými.

- Po použití kazetu zlikvidujte ako infekčný odpad.
- Kazetu nepoužite opakovane.

### USKLADNENIE A STABILITA

Testovacie platničky skladujte v neporušenom obale medzi 4 a 30°C. Nezamrazujte. Súprava je stabilná do dátumu expirácie, ktorý je uvedený na obale súpravy.

### KULTIVÁCIA A VZORKOVANIE

Vzorky na testovanie sa získajú podľa štandardných mikrobiologických postupov. Kolónia sa získa kultiváciou na agare, potom sa suspenduje v extrakčnom pufre, ktorý sa nachádza v súprave. Veľmi sa odporúča používať čerstvé kolónie baktérií na to, aby bolo testovanie optimálne.

#### Odporúčané médiá kultivácie:

Luria Broth (LB) a LB agar, Trypticase soja agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar a URI-4, Columbia agar +5% konskej krvi, ChromID™ ESBL agar, ChromID™ CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar.

### PRACOVNÝ POSTUP

- 1 / Dajte si jednorazové rukavice.
- 2 / Nechajte súpravu vytemperovať pri izbovej teplote aspoň 10 minút.

#### Príprava vzorky:

- 1 / Do jednej z mikroskúmaviek zo súpravy nakvapkajte 5 kvapiek (150 µL) extrakčného pufra.
- 2 / Z kultivácie na agare odoberte pomocou očka kolóniu a potom ju suspendujte v mikroskúmaviek obsahujúcej 150 µL extrakčného pufra.
- 3 / Zavrite mikroskúmaviek.
- 4 / Pred použitím pre homogenizáciu vortextujte.

#### Vykonanie testu:

- 1 / Otvorte obal a vyberte kazetu. Po otvorení ihneď vykonajte test.
- 2 / Pomocou pipety zo súpravy napipetujte 100 µL pripravenej zmesi (vzorka musí byť po čiernu čiarku, ktorá indikuje, že pipeta nasala presne 100 µL) do jamky pre vzorku, ktorá je označená „S“.
- 3 / Výsledok odčítajte po 15 minútach a interpretujte ho podľa postupu.

**POZNÁMKA: Neinterpretujte výsledok po 20 minútach, keďže potom môžete získať falošne pozitívny výsledok.**

### INTERPRETÁCIA VÝSLEDKU



**NEGATIVNÝ**

#### Negatívny výsledok

Pokiaľ sa objaví iba jedna červená čiara v kontrolnej oblasti (C): vzorka neobsahuje žiadny MCR-1 enzým, alebo iba v nedetekovateľnom množstve, a výsledok je interpretovaný ako negatívny.

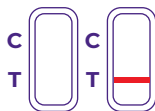


**POZITIVNÝ**

#### Pozitívny výsledok

Pokiaľ sa v kontrolnej oblasti (C) objaví jedna čiara a jedna čiara v testovacej oblasti (T): vzorka obsahuje MCR-1 enzým a výsledok je interpretovaný ako pozitívny.

**POZNÁMKA:** Intenzita červenej čiary (čiar) môže byť rôzna v závislosti od koncentrácie MCR-1 enzýmu prítomného vo vzorke. Aj slabá čiara musí byť považovaná za pozitívny výsledok.



NEPLATNÝ

**Neplatný výsledok**

Pokiaľ sa v kontrolnej oblasti (C) neobjaví červená čiara, výsledok testu je neplatný. Najčastejším dôvodom býva nedostatočný objem vzorky alebo nedodržaný pracovný postup. Tiež môže byť poškodená testovacia súprava. Test zopakujte s novou kazetou. Pokiaľ problém pretrváva, súpravu už nepoužívajte a kontaktujte distribútora.

**KONTROLA KVALITY**

V teste je zahrnutá interná kontrola kvality. Pokiaľ sa objaví kontrolná čiara, potvrdzuje táto, že bolo použité dostatočné množstvo vzorky a že pracovný postup bol dodržaný.

**OBMEDZENIA**

Tento test je kvalitatívnym stanovením, takže dostanete iba kvalitatívny výsledok. Tento test sa používa s cieľom rýchlej identifikácie pacientov s rezistenciou na colistin antibiotiká. Získané výsledky musia byť potvrdené alternatívnymi alebo komplexnými diagnostickými postupmi. Pozitívny alebo negatívny výsledok nevylučuje prítomnosť iných mechanizmov antibiotickej rezistencie.

**CHARAKTERISTIKY TESTU****Detekčný limit:**

Detekčný limit bol stanovený pomocou purifikovaného rekombinantného MCR-1 enzýmu a bol stanovený na 300 pg/mL.

**Skrížená reaktivita:**

Všetky výsledky boli korelované s genotypom kmeňov stanovených PCR analýzou.

**NG-TEST® MCR-1** detekuje niektoré varianty MCR-2.

**Validácia na referenčnej kmeňovej banke:**

**NG-TEST® MCR-1** bol hodnotený na 44 klinických kmeňoch v NRC Kremlin Bicêtre Paris (Národné referenčné centrum), 123 klinických kmeňoch v ANSES (Národné agentúra pre zdravotnú bezpečnosť) Lyon a 117 klinických kmeňoch v NRC Clermont Ferrand.

Celkovo bolo hodnotených 284 kmeňov.

**Tabuľka 1: Výsledky získané v NRC Kremlin Bicêtre**

		STAV		
		POZITÍVNE	NEGATÍVNE	CELKOM
NG•TEST® MCR-1	POZITÍVNE	25	3 (mcr-2)	28 (3 mcr-2 detekované)
	NEGATÍVNE	0	16	16
	CELKOM	25	19	44
CITLIVOSŤ	100%	INTERVAL SPOLAHLIVOSŤ 95% [86.7% ; 100%]		
ŠPECIFICKOSŤ	84.2%	INTERVAL SPOLAHLIVOSŤ 95% [62.4% ; 94.5%]		

Tabuľka 2: Výsledky získané v NRC Clermont-Ferrand

		STAV		
		POZITÍVNE	NEGATÍVNE	CELKOM
NG•TEST® MCR-1	POZITÍVNE	17	0	17
	NEGATÍVNE	0	100	100
	CELKOM	17	100	117
CITLIVOSŤ	100%	INTERVAL SPOLĀHLIVOSŤ 95% [81.6% ; 100%]		
ŠPECIFICKOSŤ	100%	INTERVAL SPOLĀHLIVOSŤ 95% [96.3% ; 100%]		

Tabuľka 3: Výsledky získané v ANSES Lyon

		STAV		
		POZITÍVNE	NEGATÍVNE	CELKOM
NG•TEST® MCR-1	POZITÍVNE	59	0	59
	NEGATÍVNE	0	64	64
	CELKOM	59	64	123
CITLIVOSŤ	100%	INTERVAL SPOLĀHLIVOSŤ 95% [93.9% ; 100%]		
ŠPECIFICKOSŤ	100%	INTERVAL SPOLĀHLIVOSŤ 95% [94.3% ; 100%]		

Tabuľka 4: Celkové výsledky pre MCR-1 získané na troch miestach

		STAV		
		POZITÍVNE	NEGATÍVNE	CELKOM
NG•TEST® MCR-1	POZITÍVNE	101	3 (mcr-2)	104
	NEGATÍVNE	0	180	180
	CELKOM	101	183	284
CITLIVOSŤ	100%	INTERVAL SPOLĀHLIVOSŤ 95% [96.3% ; 100%]		
ŠPECIFICKOSŤ	98.4%	INTERVAL SPOLĀHLIVOSŤ 95% [95.3% ; 99.4%]		

## LITERATÚRA

Bibliografia sa nachádza na konci dokumentu.

## SYMBOLY



Obsah pre  
20 analýz



Diagnostická  
zdravotnícka  
pomôcka *in vitro*



Číslo šarže



Dovozca



Dátum  
expirácie



Nepoužívajte  
opakovane



Katalógový  
odkaz



Výrobca



Teplotný limit



Pozrite si návod  
na použitie



Unikátny  
identifikátor  
pomôcky

Táto súprava bola vyvinutá v spolupráci s CEA\*.

\*Francúzska komisia pre alternatívne energie a atómovú energiu je kľúčovým hráčom v oblasti výskumu, vývoja a inovácií.

**НАИМЕНОВАНИЕ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ**

Набор реагентов иммунохроматографический для экспресс-обнаружения фермента MCR-1, отвечающего за чувствительность к колистину, в бактериальной колонии из культуры (**NG-TEST/MCR-1**) – Далее по тексту – Изделие.

Сокращенное наименование Изделия: **NG-TEST/MCR-1**.

**НАЗНАЧЕНИЕ**

Изделие предназначено для быстрого качественного определения фермента MCR-1 в бактериальной колонии грамотрицательных бактерий из культуры, полученной из различного биологического материала человека, методом иммунохроматографии. Изделие не имеет ограничений по популяционным и демографическим аспектам применения, используется в качестве предварительного скринингового обследования с целью определения устойчивости изолированных колоний к антибиотику Полимиксин Е (колистин) и назначения пациенту эффективной антибиотикотерапии.

**ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ**

Клиническая лабораторная диагностика.

**ТИП АНАЛИЗИРУЕМОГО ОБРАЗЦА**

Анализируемыми образцами для Изделия являются изолированные колонии грамотрицательных бактерий, полученные из различных типов клинического материала человека (например, кровь, моча, фекалии (ректальные swabs), гной, раневое отделяемое, изъязвление кожи, биологические жидкости), которые можно высеять на агаризованные питательные среды.

**ВИД ИССЛЕДОВАНИЙ**

Качественная диагностика.

**ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ НАЗНАЧЕНИЕ**

Вспомогательное средство в определении фермента MCR-1 в бактериальной колонии грамотрицательных бактерий из культуры, полученной из различного биологического материала человека, методом иммунохроматографии.

**ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛИ**

Изделие предназначено только для профессионального применения. Проведение анализа должно осуществляться квалифицированным персоналом – специалистами в области клинической лабораторной диагностики.

**ПОКАЗАНИЯ, ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ, ПОБОЧНОЕ ДЕЙСТВИЕ**

Показания. Изделие может быть использовано для определения устойчивости к антибиотику Полимиксин Е (колистин) и назначения пациенту эффективной антибиотикотерапии. Результат тестирования не должен использоваться в качестве единственного основания для диагностики.

Противопоказания к использованию в рамках установленного назначения не имеет.

Побочные действия, связанные с применением Изделия, отсутствуют.

**ОПИСАНИЕ ЦЕЛЕВОГО АНАЛИТА, СВЕДЕНИЯ О ЕГО НАУЧНОЙ ОБОСНОВАННОСТИ**

Целевым анализом для Изделия является фермент MCR-1, образованный геном MCR-1.

Угроза присутствия грамотрицательных полирезистентных штаммов бактерий растет по всему миру. Они приводят к росту числа внутрибольничных инфекций в стационаре. Полимиксин Е (колистин) — это антибиотик, который считается



последней линией защиты от инфекций, вызванных резистентными штаммами. Появление гена MCR-1 (мобилизованная устойчивость к колистину) в геноме бактериальных плазмид ставит под вопрос эффективность колистина. Этот ген был впервые обнаружен в Китае в 2011 году и на сегодняшний день присутствует примерно в 18 странах. Его распространение по всему миру представляет проблему с точки зрения санитарной безопасности. Действительно, ген *mcr-1*, кодирующий фермент MCR-1, придает бактериям устойчивость к противомикробному действию колистина. Он катализирует присоединение остатка фосфоэтаноламина к липиду А-липополисахарида (ЛПС) бактерий. Это препятствует присоединению колистина к ЛПС, влияя таким образом на механизм его действия. Этот фермент сосуществует с другими ферментами, отвечающими за устойчивость к антибиотикам: например, с карбапенемазами и бета-лактамазами расширенного спектра, поэтому развитие проблемы трудно предсказать.

### **ПОПУЛЯЦИОННЫЕ, ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ**

Изделие предназначено для применения во всех регионах страны для всех слоев населения.

### **СОСТАВ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ И СВЕДЕНИЯ ОБ ИЗДЕЛИИ**

#### **Состав Изделия**

Набор реагентов иммунохроматографический для экспресс-обнаружения фермента MCR-1, отвечающего за чувствительность к колистину, в бактериальной колонии из культуры (**NG-TEST/MCR-1**), в составе:

1. 20 Тест-кассет (в индивидуальной упаковке с влагопоглотителем);
2. 20 пробирок типа Эппендорф;
3. 20 пипеток одноразовых с градуировкой на 100 мкл;
4. 1 раствор буферный для экстракции в пластиковом флаконе (4,5 мл);
5. 1 инструкция по применению.

#### **Сведения об Изделии**

Каталожный номер (REF): NGB-MCR-S23-016

Изделие упаковано в картонную коробку. Принадлежности отсутствуют.

Изделие рассчитано на проведение 20 определений.

Изделие выпускается в нестерильном виде.

Изделие предназначено для одноразового использования, не требует стерилизации или дезинфекции, техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

Биологические материалы животных, входящие в состав Изделия, безопасны для человека.

Лекарственные средства в Изделии отсутствуют, материалы человеческого происхождения в Изделии отсутствуют.

Изделие не требует установки, монтажа, настройки, калибровки для ввода в эксплуатацию.

Изделие не производит излучения (электромагнитного, ионизирующего).

Использование Изделия не имеет экологических рисков.

### **ОПИСАНИЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОМПОНЕНТОВ ИЗДЕЛИЯ**

- 1) Тест-кассета (в индивидуальной упаковке с влагопоглотителем)

Наименование компонента	Концентрация/материал/ техническая информация
Корпус тест-кассеты	Ударопрочный полистирол
Геометрические размеры тест-кассеты, мм (длина x ширина x высота)	85±1 x 25±2 x 5±1
Влагопоглотитель	Силикагель
Вес влагопоглотителя, г	0,75±1
Упаковка-саше	Непрозрачная упаковка-саше из водонепроницаемого полиэфира, покрытого алюминиевой фольгой
Размеры упаковки – саше, мм (длина x ширина)	125±5 x 40±5

Вид контакта: Контакт с организмом человека отсутствует.

## 2) Пробирка типа Эппендорф

Наименование компонента	Концентрация/материал/ техническая информация
Корпус пробирки	PP (полипропилен)
Геометрические размеры, мм (высота x диаметр)	41±2 x 10.8±2

Вид контакта: Контакт с организмом человека отсутствует.

## 3) Пипетка одноразовая с градуировкой на 100 мкл

Наименование компонента	Концентрация/материал/ техническая информация
Корпус пипетки	LDPE (полиэтилен низкого давления)
Номинальный объем, мкл (объем до линии градуировки)	100±1

Вид контакта: Контакт с организмом человека отсутствует.

## 4) Раствор буферный для экстракции в пластиковом флаконе (4,5 мл)

Наименование компонента	Концентрация/материал/ техническая информация
Химический состав раствора:	БСА <1%
	Трис(гидроксиметил)аминометан (ТРИС) и соляная кислота <1%, pH=8
	ТВИН 20 <1%
	Хлорид натрия - 5,8%
	ПАВ CHAPS - 1%
	Азид натрия <1%
	Вода до 100%

Вид контакта: Контакт с организмом человека отсутствует.

## 5) Картонная коробка набора

Наименование компонента	Концентрация/материал/ техническая информация
Геометрические размеры картонной коробки набора, мм (длина x ширина x высота)	130±5 x 170±5 x 80±5

Вид контакта: Контакт с организмом человека отсутствует.

**ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ**

Таймер • Защитные перчатки • Микробиологическая петля • Вортекс

## ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Принцип действия Изделия основан на методе иммунохроматографии. Под влиянием капиллярных эффектов образец продвигается по мембране тест-кассеты. Когда испытываемый образец проходит через мембрану тест-кассеты, молекулы фермента MCR-1 связываются в иммунный комплекс и реагируют с мечеными мышинными моноклональными антителами против MCR-1, при условии его наличия в образце в тестовой области «Т». Параллельно меченая стрептавидином и моноклональными антителами против MCR-1 контрольная линия «С» связывается, соответственно, с биотин-БСА и GAM (козы антимышинные поликлональные антитела). Контрольная линия «С» должна всегда проявляться в тестовом окне при правильном проведении анализа, вне зависимости от наличия или отсутствия фермента MCR-1. Если образец содержит фермент MCR-1, красная линия появится на тестовой области «Т» и на контрольной области «С» мембраны. В противном случае появится только одна красная линия в контрольной области «С».

## МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ

- Только для in-vitro диагностики;
- Только для профессионального использования;
- Класс потенциального риска применения – 2а;
- Изделие является вспомогательным средством в клинической лабораторной диагностике;
- Несоблюдение шагов тестирования может привести к неточным результатам;
- Не использовать после истечения срока годности;
- Не использовать Изделие повторно;
- Не употреблять буферный раствор внутрь. Избегать попадания раствора в глаза. При попадании буферного раствора в глаза следует немедленно промыть глаза;
- Тест-кассета должна оставаться в запечатанной упаковке-саше до тех пор, пока не будет использована;
- Тестирование следует выполнять в соответствии с надлежащей лабораторной практикой;
- Не использовать, если пакет с тест-кассетой поврежден или имеются признаки протечки флакона с буферным раствором;
- Изделие используется исключительно для качественного обнаружения и не показывает количество фермента MCR-1 в образце;
- Отрицательный результат тестирования не является основанием для исключения присутствия фермента MCR-1 в образце. Полученный результат необходимо подтвердить с помощью альтернативных или дополнительных диагностических процедур.
- Положительный или отрицательный результат теста не исключает наличия других механизмов устойчивости к антибиотикам;
- Обращаться с образцами следует как с потенциально инфицированными;
- После использования утилизировать Изделие в соответствии с указаниями в разделе «ПОРЯДОК УТИЛИЗАЦИИ ИЛИ УНИЧТОЖЕНИЯ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ».

## ПРЕАНАЛИТИЧЕСКИЙ ЭТАП: КУЛЬТИВИРОВАНИЕ И ОТБОР ПРОБ

Взятие, транспортировка, посев биологического материала производится в соответствии с МУ 4.2.2039-05 «Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории. Методические указания».

Работа с микроорганизмами ведется в соответствии с требованиями СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», СанПиН 2.1.3684-21, Методическими рекомендациями Минздрава РСФСР 19 декабря 1991 г. «Методы бактериологического исследования условно-патогенных микроорганизмов в клинической микробиологии».

Специальные требования в отношении лабораторий, в которых должен проводиться анализ: помещения должны соответствовать ГОСТ Р 52905 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», ГОСТ Р ИСО 15189-2015 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности». Лаборатория должна быть оборудована шкафом с ламинарным потоком II класса микробиологической безопасности.

Образцы для тестирования должны быть получены в соответствии со стандартными микробиологическими процедурами.

Рекомендуемое время культивирования 18- 24 часа при 37°C.

Для работы с Изделием следует использовать **рекомендуемые Производителем питательные среды:**

- Мюллер-Хинтон (MH)
- URiselectTM4 (Уриселект 4)
- Триптон-соевый агар (TSA)
- Колумбийский агар с 5% лошадиной крови (СОН)
- Chromid ESBL agar (Агар «Хромид ESBL»)
- Chromid CARBA smart (Агар «Хромид КАРБА смарт»)
- Агар Дригальского (DRIG)
- Бульон Луриа (LB) и агар LB.

Для достижения оптимальных результатов анализа настоятельно рекомендуется использовать свежие бактериальные колонии.

При выявлении изолированной культуры на поверхности плотного агара, колонию аккуратно снимают с поверхности агара с помощью микробиологической петли и переносят в подготовленную пробирку типа Эппендорф (см. Раздел «ПРОВЕДЕНИЕ ТЕСТИРОВАНИЯ», подраздел «Подготовка образца», пункт 2).

## ПРОВЕДЕНИЕ ТЕСТИРОВАНИЯ

- Наденьте защитные перчатки.
- Выдержите компоненты набора при комнатной температуре (от +18 до +25°C) не менее 10 минут.

### Подготовка образца

- ① Внесите 5 капель (150 мкл) раствора буферного для экстракции в пробирку типа Эппендорф, входящую в состав набора реагентов.
- ② С твердого агара отберите колонию микробиологической петлей
- ③ Суспендируйте собранную колонию в пробирке типа Эппендорф, содержащей 150 мкл буфера для экстракции. Затем закройте пробирку типа Эппендорф и тщательно перемешайте в вортексе для гомогенизации смеси перед использованием.

### Выполнение теста

- Откройте упаковку-саше тест-кассеты и достаньте ее. После вскрытия немедленно используйте тест-кассету.

④ С помощью одноразовой пипетки с градуировкой на 100 мкл отберите 100 мкл приготовленной смеси (образец должен достичь черной линии, указанной на пипетке).

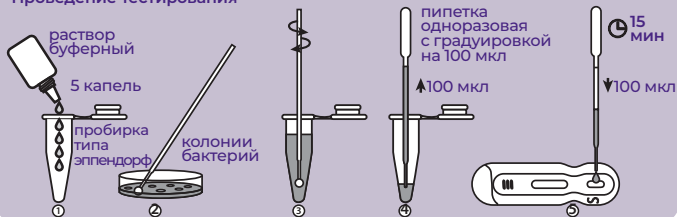
⑤ Внесите приготовленную смесь в лунку тест-кассеты, помеченную буквой «S». Установите таймер, считайте результаты через 15 минут и интерпретируйте их в соответствии с разделом «ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ».

**ПРИМЕЧАНИЕ:** Не интерпретируйте результаты теста через 20 минут, так как они могут отличаться, что может привести к ложноположительным результатам.



### Порядок действий из бактериальной культуры

#### Проведение тестирования



### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ



ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

#### Отрицательный результат

Если в контрольной области (С) появляется только одна красная линия: образец не содержит фермент MCR-1 или уровень этого фермента ниже порога определения. Результат следует интерпретировать как отрицательный.

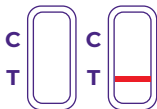


ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ

#### Положительный результат

Если появляются две красные линии, одна в контрольной области «С» и одна в тестовой области «Т»: образец содержит фермент MCR-1, и такой результат следует интерпретировать как положительный.

**ПРИМЕЧАНИЕ:** Интенсивность красных тестовых линий может варьироваться в зависимости от уровня концентрации фермента MCR-1 в образце. Линию слабой интенсивности следует рассматривать как положительный результат.



### **Недействительный результат**

Если контрольная линия (С) не появляется, результат теста недействительный. Чаще всего причиной неправильного показания контрольной линии является недостаточный объем образца или неправильное выполнение процедуры.

Возможно, произошло повреждение набора реагентов. Повторите процедуру с новой тест-кассетой. Если проблема не устраняется, не используйте Изделия повторно и обратитесь к уполномоченному представителю производителя.

### **КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА**

Внутренний контроль включен в Изделие. Появление контрольной линии подтверждает, что объема образца достаточно и процедура выполнена правильно.

### **АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗДЕЛИЯ**

#### **Предел обнаружения**

Предел обнаружения Изделия составляет 0,3 нг/мл

#### **Перекрестная реактивность**

Не наблюдалось перекрестной реакции с вариантами MCR-3 - MCR-5 по результатам, полученным в ANSES (Национальное управление санитарно-эпидемиологической безопасности) в г. Лион. Однако, согласно данным Национального справочного центра Кремлен-Бисетр, Изделие дает перекрестную реакцию с вариантом MCR-2.

#### **Интерференция**

У Изделия отсутствует интерференция с указанными питательными средами:

- Мюллер-Хинтон (МН)
- URIselctTM4 (Уриселект 4)
- Триптон-соевый агар (TSA)
- Колумбийский агар с 5% лошадиной крови (СОН)
- Chromid ESBL agar (Агар «Хромид ESBL»)
- Chromid CARBA smart (Агар «Хромид КАРБА смарт»)
- Агар Дригальского (DRIG)
- Бульон Луриа (LB) и агар LB.

#### **Эффект высокой дозы («хук-эффект»)**

«Хук-эффект» у Изделия отсутствует вплоть до концентрации 1000 нг/мл MCR-1.

#### **Воспроизводимость**

Всего было исследовано 8 образцов при различных концентрациях фермента MCR-1 (1 отрицательный образец, соответствующий буферу, присутствующему в наборе, и 7 положительных образцов).

Было выполнено 3 (отрицательные образцы) и 5 (положительные образцы) повторений для каждой концентрации. Исследование было проведено на 3 сериях Изделия.

Полученные результаты продемонстрировали 100% внутрисерийную и межсерийную воспроизводимость и 100% повторяемость результатов.

**ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗДЕЛИЯ**

Изделие было испытано Производителем на 44 клинических штаммах в Национальном справочном центре Кремлен-Бисетр в Париже, на 123 клинических штаммах в ANSES (Национальное управление санитарно-эпидемиологической безопасности) в Лионе и на 117 клинических штаммах в Национальном справочном центре в Клермон-Ферране.

Всего было оценено 284 клинических штаммов.

Все результаты коррелировали с генотипом штаммов, определенным с помощью ПЦР-анализа. Изделие обнаруживает некоторые варианты MCR-2.

**Таблица 1: Результаты, полученные в Национальном справочном центре Кремлен-Бисетр**

		РЕЗУЛЬТАТ Изделия		
		Положительный	Отрицательный	ВСЕГО
Результат ПЦР	Положительный	25	0	25
	Отрицательный	3 (mcr-2)	16	19
	ВСЕГО	28 (обнаружено 3 mcr-2)	16	44

Диагностическая чувствительность	100%	Доверительный интервал	95% [86.7% ; 100%]
Диагностическая специфичность	84.2%	Доверительный интервал	95% [62.4% ; 94.5%]

**Таблица 2: Результаты, полученные в Национальном справочном центре Клермон-Ферран**

		РЕЗУЛЬТАТ Изделия		
		Положительный	Отрицательный	ВСЕГО
Результат ПЦР	Положительный	17	0	17
	Отрицательный	0	100	100
	ВСЕГО	17	100	117

Диагностическая чувствительность	100%	Доверительный интервал	100% [81.6% ; 100%]
Диагностическая специфичность	100%	Доверительный интервал	95% [96.3% ; 100%]

**Таблица 3: Результаты, полученные в ANSES (Национальное управление санитарно-эпидемиологической безопасности) в Лионе**

		РЕЗУЛЬТАТ Изделия		
		Положительный	Отрицательный	ВСЕГО
Результат ПЦР	Положительный	59	0	59
	Отрицательный	0	64	64
	ВСЕГО	59	64	123

Диагностическая чувствительность	100%	Доверительный интервал	95% [93.9% ; 100%]
Диагностическая специфичность	100%	Доверительный интервал	95% [94.3% ; 100%]

**Таблица 4: Общие результаты из трех центров по MCR-1**

		РЕЗУЛЬТАТ Изделия		
		Положительный	Отрицательный	ВСЕГО
Результат ПЦР	Положительный	101	0	101
	Отрицательный	3 (3 mcr-2)	180	183
	ВСЕГО	104	180	284

Диагностическая чувствительность	100%	Доверительный интервал	95% [96.3% ; 100%]
Диагностическая специфичность	98.4%	Доверительный интервал	95% [95.3% ; 99.4%]

**ДАННЫЕ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИСПЫТАНИЙ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

Предел обнаружения подтвержден как 0,3 нг/мл.

Подтверждено отсутствие интерференции при работе на следующих рекомендованных производителем питательных средах:

Мюллер-Хинтон (MH)

- Агар UTI
- Триптон-соевый агар (TSA)
- Колумбийский агар с 5% лошадиной крови (СОН)

Подтверждено отсутствие «Хук-эффекта» вплоть до концентрации 1000 нг/мл MCR-1.

Воспроизводимость внутри и межсерийная составила 100% при тестировании 1 положительной и 1 отрицательной пробы в трех повторностях двумя разными операторами в течение двух дней.

Всего было исследовано 80 клинических проб (40 положительных и 40 отрицательных)

Диагностическая чувствительность и Диагностическая специфичность составила 100% в рамках клинических испытаний на модельных образцах.

**УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ, ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ**

**Условия эксплуатации**

Выполнять процедуру тестирования следует незамедлительно после вскрытия упаковки-саше тест-кассеты.

Раствор буферный для экстракции после первого вскрытия хранить при температуре от +4 до +30°C в течении срока годности набора.

Срок годности Изделия – 24 месяца. Компоненты набора сохраняют стабильность до даты истечения срока годности, напечатанной на индивидуальной упаковке.

**Условия хранения и транспортировки**

Хранить Изделие необходимо в оригинальной упаковке, защищенной от прямого солнечного света, в сухом, прохладном и хорошо проветриваемом помещении, вдали от продуктов питания и напитков, при температуре от +4 до +30°C и относительной влажности воздуха не выше 70%.

Транспортировать Изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, в упаковке производителя при температуре от +4 до +30°C и относительной влажности воздуха не выше 70%.

**ЗАМОРАЖИВАНИЕ НЕ ДОПУСКАЕТСЯ.**



**ПОРЯДОК УТИЛИЗАЦИИ ИЛИ УНИЧТОЖЕНИЯ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ**

Утилизация медицинского Изделия должна проводиться согласно действующему законодательству. При работе с Изделием в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы, которые классифицируются и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно - эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно - противоэпидемических (профилактических) мер». Использованные Изделия относятся к классу Б. Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, и неиспользованные реактивы относятся к классу А. Упаковка (коробка) относится к отходам класса А и утилизируется с бытовыми отходами. Отходы следует утилизировать через организации, имеющие лицензию на этот вид деятельности.

**СООТВЕТСТВИЕ НАЦИОНАЛЬНЫМ НОРМАТИВНЫМ ДОКУМЕНТАМ В ЧАСТИ ТРЕБОВАНИЙ БЕЗОПАСНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ**

ГОСТ Р 51352-2013; ГОСТ Р ИСО 23640-2015 ;ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015; ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015; ГОСТ ISO 14971-2021; ГОСТ Р 51088-2013; ГОСТ Р ИСО 15223-1-2020; ГОСТ Р ЕН 13612-2010

**ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА**

Производитель гарантирует стабильность медицинского Изделия до окончания срока годности при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, указанных в инструкции.


Производитель гарантирует безопасность медицинского Изделия, отсутствие недопустимого риска причинения вреда жизни, здоровью человека и окружающей среде при использовании набора реагентов по назначению в условиях, предусмотренных производителем.

Рекламации следует направлять по адресу ООО «ГЕМ», Россия, 127083, г. Москва, ул. 8 Марта, д. 1, стр. 12, этаж 3, помещение XXV- комната 11, . +7-495-612-43-12, e-mail: [sale@hemltd.ru](mailto:sale@hemltd.ru).

**БИБЛИОГРАФИЯ**

Библиографию можно найти в конце документа.


**ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В МАРКИРОВКЕ ИЗДЕЛИЯ**

 Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов

 Медицинское изделие для диагностики *in vitro*

 Код/номер партии

 Обратитесь к инструкции по применению

 Уникальный идентификационный номер согласно Регламенту (ЕС) 2017/746

 Использовать до


 Запрет на повторное применение


 Номер по каталогу

 Изготовитель

 Дистрибьютор в Швейцарии

 30°C  
4°C  
Предел температуры

 Беречь от влаги / Хранить в сухом месте

 Не допускать воздействия солнечного света

 Уполномоченный представитель в Швейцарии

 Знак CE (знак соответствия основным требованиям директив ЕС и гармонизированным стандартам Европейского союза)



Символы вторичной переработки

Производитель: НГ Биотех (NG Biotech)

Адрес: Ателье Реле Ле Тремплин Парк д'Акт. де Курбутон Сект1 Гипри 35480 Гипри-Мессак, Франция

Atelier Relais Le Tremplin Parc d'Act. de Courbouton Sect1 Guipry 35480 Guipry-Messac, France

Примечание: на маркировке Изделия допускается указание адреса производителя в формате - «ZA Courbouton, secteur 1 -35480 GUIPRY- France». Данный адрес полностью идентичен адресу «Atelier Relais Le Tremplin Parc d'Act. de Courbouton Sect1 Guipry 35480 Guipry-Messac, France».

Тел / Tel: +33 (0) 2 23 30 17 83 Факс

Email: support@ngbiotech.com

**Уполномоченный представитель производителя на территории РФ:** Общество с ограниченной ответственностью «ГЕМ» (ООО «ГЕМ»)

Адрес: 127083, Россия, г. Москва, ул. 8 Марта, д. 1, стр. 12, этаж 3, помещение XXV – комната 11

Тел.: 8 (495)612-43-12, 8 (495)613-86-63

Инструкция по применению может быть дополнительно размещена в электронном виде на сайте **Уполномоченного представителя производителя на территории РФ** <https://hemltd.ru>

**Данное Изделие было разработано совместно с CEA\***



\*Французская комиссия атомной энергии и альтернативным источникам энергии – один из ключевых участников разработки.

**BIBLIOGRAPHY / BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAFIE  
/ LITERATUR / ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ / REFERENCIAS  
/ BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFIA /  
/ СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / LITERATÚRA**

1. Gao R et al. Dissemination and Mechanism for the MCR-1 Colistin Resistance. PLoS Pathogens. 2016; 12(11).
2. Centers for Disease Control and Prevention. Newly ReportedGene, mcr-1, Threatens Last-Resort Antibiotics. Antibiotic/Antimicrobial Resistance: AR Solutions in Action. 30 November 2016.
3. Ye H et al. Diversified mcr-1-harbouring plasmid reservoirs confer resistance to colistin in human gut microbiota. MBio. 2016; 7(2).
4. Paterson DL et al. Colistin resistance: a major breach in our last line of defence. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):132-133.
5. Hu Y et al. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016;16(2): 146–147.
6. Liu YY et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):161-168.

## Importer information

### Australia

Distributor: Cell biosciences  
Pty Ltd  
PO Box 243, Heidelberg, VIC 3084  
Fax: 03 8678 3956  
Mobile: 0394 167 177  
Web: [www.cellbiosciences.com.au](http://www.cellbiosciences.com.au)

Note: any serious incident that occurs in relation to the device should be reported to the manufacturer and to the Therapeutic Goods Agency (TGA).

TGA:  
TGA, PO Box 100, Woden ACT 2606,  
Australia.  
Website:<https://www.tga.gov.au/>  
Email: [info@tga.gov.au](mailto:info@tga.gov.au)  
Fax: 02 6203 1605

### Switzerland



- (EN) Swiss authorized representative
- (FR) Représentant suisse autorisé
- (DE) Schweizer Bevollmächtigter
- (IT) Rappresentante autorizzato svizzero

 **NG·BIOTECH® SAS**

Atelier Relais Le Tremplin,  
Parc d'Act. de Courbouton Sect 1  
35480 Guipry - France

Phone : +33(0)2 23 30 17 83  
[support@ngbiotech.com](mailto:support@ngbiotech.com)

[www.ngbiotech.com](http://www.ngbiotech.com)

**ENO016MCR/Rev. 241125**