

NG-Test MCR-1

Schnelltest zum Nachweis von Colistin-Resistenz in einer Bakterienkultur
Für den professionellen Gebrauch



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 Gesundheitssicherheit 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 Carbapenemases und Extended Spectrum β -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 polyclonalen 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.

Reagenzien und mitgeliefertes Material

Jedes Testset enthält:

- 20 Testkassetten im Aluminiumbeutel mit Trockenmittel
- 20 Eppendorfgefäße
- 20 Pipetten 100 μ L
- 1 Extraktionspuffer-Lösung in Kunststoffflasche (4,5 mL)
- 1 Bedienungsanleitung

Erforderliche Materialien, nicht im Lieferumfang enthalten

- Stoppuhr
- Einweghandschuhe
- Öse
- Vortexmischer

Vorsichtsmaßnahmen

- Test für *In-Vitro-Diagnostik* für den professionellen Gebrauch.
- Alle Maßnahmen sind gemäß guter Laborpraxis durchzuführen.
- Nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Die Produkte müssen bis zur Verwendung in den verschlossenen Beuteln verbleiben.
- Proben müssen als potentiell infektiös behandelt werden.
- Die gebrauchten Tests in einem geeigneten Behälter für infektiöse Abfälle entsorgen.
- Die Produkte dürfen nicht wiederverwendet werden.

Lagerung und Stabilität

Die Produkte im geschlossenen Beutel bei 4-30°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 Bakterienkolonien 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 μ L) des Extraktionspuffers in ein mitgeliefertes Eppendorfgefäß geben.
2. Von einer Kultur auf einer Agarplatte mittels einer Öse eine Kolonie entnehmen und dann im Eppendorfgefäß mit 150 μ L Extraktionspuffer-Lösung suspendieren.
3. Eppendorfgefäß verschließen.
4. Mit dem Vortexmischer 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 μ L 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



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.

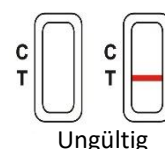


Positives Ergebnis

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 des MCR-1 Enzyms in 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 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.

NG-Test MCR-1

**Schnelltest zum Nachweis von Colistin-Resistenz in einer Bakterienkultur
Für den professionellen Gebrauch**



Qualitätskontrolle

Im Test ist eine interne Kontrolle enthalten. Die Anzeige der Kontrolllinie „C“ im Display bestätigt 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.

Klinische Validierung

Der MCR-1 NG-Test 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 Ferrand (CNR) untersucht. Insgesamt wurden 284 Stämme untersucht.

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.

Tabelle 1: Ergebnisse des CNR Kremlin Bicêtre

Status	Positiv mcr-1 NG-Test	Negativ mcr-1 NG-Test	Gesamt
Positiv	25	0	25
Negativ	3 (mcr-2)	16	19
Insgesamt	28 (3 mcr-2 nachgewiesen)	16	44

Sensibilität: 100% Konfidenzintervall 95%: 86,7% bis 100%
Spezifität: 100% Konfidenzintervall 95%: 62,4% bis 94,5%

Tabelle 2: Ergebnisse des CNR von Clermont-Ferrand

Status	Positiv mcr-1 NG-Test	Negativ mcr-1 NG-Test	Gesamt
Positiv	17	0	17
Negativ	0	100	100
Insgesamt	17	100	117

Sensibilität: 100% Konfidenzintervall 95%: 81,6% bis 100%
Spezifität: 100% Konfidenzintervall 95%: 96,3% bis 100%

Tabelle 3: Ergebnisse des ANSES von Lyon

Status	Positiv mcr-1 NG-Test	Negativ mcr-1 NG-Test	Gesamt
Positiv	59	0	59
Negativ	0	64	64
Insgesamt	59	64	123

Sensibilität: 100% Konfidenzintervall 95%: 93,9% bis 100%
Spezifität: 100% Konfidenzintervall 95%: 94,3% bis 100%

Tabelle 4: Gesamtergebnis der drei Institute für mcr-1

Status	Positiv mcr-1 NG-Test	Negativ mcr-1 NG-Test	Gesamt
Positiv	101	0	101
Negativ	3 (mcr-2)	180	183
Insgesamt	104	180	284

Sensibilität: 100% Konfidenzintervall 95%: 96,3% bis 100%
Spezifität: 98,3% Konfidenzintervall 95%: 95,3% bis 99,4%

Bibliographie

- Gao R et al. Dissemination and Mechanism for the MCR-1 Colistin Resistance. PLoS Pathogens. 2016; 12(11).
- Centers for Disease Control and Prevention. Newly Reported Gene, mcr-1, Threatens Last-Resort Antibiotics. Antibiotic/Antimicrobial Resistance: AR Solutions in Action. 30 November 2016.
- Ye H et al. Diversified mcr-1-harboring plasmid reservoirs confer resistance to colistin in human gut microbiota. MBio. 2016; 7(2).
- Paterson DL et al. Colistin resistance: a major breach in our last line of defence. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):132-133.
- Hu Y et al. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016;16(2): 146–147.
- 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.

Symbole

	Inhalt		Mindesthaltbarkeitsdatum
	Für <i>In-vitro-Diagnostik</i>		Einmalige Verwendung
	Chargennummer		Referenznummer
	Bedienungsanleitung lesen		Lagerung
	An einem trockenen Ort lagern	Enthält NaN3	Natriumazid 0,01%



Z.A. Courbouton, 35480 Guipry France
Tel: +33 (0) 2 23 30 17 83 Fax: +33 (0) 9 71 70 53 10
E-Mail: info@ngbiotech.com



Dieser Test wurde in Zusammenarbeit mit CEA* entwickelt.

*Das Commissariat für Atomenergie und alternative Energien (Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives) ist ein wichtiger französischer Akteur in Forschung, Entwicklung und Innovation.

Ref: ENO08MCR
Rev: 180606