RESIST-1 MCR Multi

Rychlý test kolistinové (mobilized colistin) rezistence

Výrobce:
Coris BioConcept
Science park CREALYS
Rue Guillaume Fouquet, 11
5032 GEMBLOUX, Belgie

Tel.: +32(0)81.719.917
Fax: +32(0)81.719.919
info@corisbio.com
Vyrobeno v BELGII

www.corisbio.com

CE

CZ

IFU-58R13/TB/04

Rychlý diagnostický zdravotnický prostředek *in vitro* založený na imunochromatografii, určený k vizuální a kvalitativní detekci některých enzymů MCR v bakteriální kultuře získané z lidského biologického vzorku, sloužící jako pomůcka při diagnostice mechanismů antimikrobiální rezistence u hospitalizovaných pacientů nebo osob ohrožených infekcí či kolonizací. Určeno pouze pro profesionální použití; nejedná se o automatizovaný systém.

Reference: K-15R15, 20 kazet, pufr, 20 kazetek a přenosové pipety

I. ÚVOD

Výskyt genů pro rezistenci vůči kolistinu (polymyxinu E) přenášených plazmidy, jako je například MCR-1 (Mobilised Colistin Resistance-1), představuje závažnou výzvu pro léčbu bakteriálních infekcí. Tato rezistence ohrožuje jedno z posledních antibiotik účinných proti multirezistentním bakteriím v době, kdy se škála dostupných účinných antibiotik zužuje.

Gen *mcr-1* kóduje enzym ukotvený ve vnitřní membráně gramnegativních bakterií, jehož katalytická doména zasahuje do periplazmatického prostoru. Protein MCR-1 modifikuje strukturu lipidu A (složky vnější membrány gramnegativních bakterií) připojením skupiny fosfoethanolaminu, čímž snižuje afinitu kolistinu k bakteriálnímu povrchu. Snížená účinnost vazby antibiotika vede k rezistenci vůči kolistinu[D]. Ostatní geny rodiny MCR (MCR-2 až MCR-10) fungují na v zásadě podobném principu[A] – s výjimkou genu MCR-9, u něhož se nepředpokládá, že by bakteriím propůjčoval rezistenci vůči kolistinu[C]. MCR-1 je zdaleka nejčastěji detekovanou variantou na mnoha plazmidech u rozmanitých druhů patogenů; často představuje více než 90 % klinických izolátů pozitivních na MCR ve více než 70 zemích na pěti kontinentech, přičemž na druhém místě následuje varianta MCR-2[B].

Tato rezistence vůči kolistinu zprostředkovaná proteiny MCR se však nevyskytuje izolovaně; je umocněna již tak znepokojivým šířením dalších mechanismů, jako jsou karbapenemázy a β-laktamázy s rozšířeným spektrem účinku (ESBL), které výrazně omezují dostupné terapeutické možnosti. Současný výskyt těchto mechanismů v rámci jednoho kmene zvyšuje složitost klinického postupu.

V této souvislosti se rychlá detekce enzymů MCR stává klíčovou pro pochopení celkového profilu rezistence a pro rozhodování o volbě léčby.

II. PRINCIP TESTU

Tento test je připraven k okamžitému použití a je založen na membránové technologii využívající nanočástice koloidního zlata. Nitrocelulózová membrána je senzibilizována monoklonální protilátkou namířenou proti jednomu epitopu enzymu MCR-1. Další monoklonální protilátka, namířená proti druhému epitopu enzymu MCR-1, je konjugována s částicemi koloidního zlata. Tento konjugát je na membráně vysušen.

Test je určen k detekci enzymu MCR v koloniích izolátů řádu Enterobacterales nebo nefermentujících gramnegativních bakterií (NFGNB) rostoucích na agarové plotně.

Jakmile dodaný pufr se suspendovanými bakteriemi přijde do styku s testovacím proužkem, konjugát se rozpustí a začne migrovat pasivní difuzí; konjugát i materiál vzorku se následně setkají s protilátkou proti MCR-1, která je adsorbována na nitrocelulóze. Pokud vzorek obsahuje enzym MCR, komplex konjugátu a MCR-1 zůstane vázán na protilátku proti MCR-1 adsorbovanou na nitrocelulóze. Výsledek je patrný do 15 minut ve formě červeného proužku, která se na memnbráně vytvoří. Roztok pokračuje v migraci dále, až doputuje na kontrolní činidlo, které váže kontrolní konjugát, čímž vzniká druhý červený proužek.

1. RESIST-1 MCR Multi (20)
20 uzavřených sáčků obsahujících jednu kazetku a jeden vysoušecí prostředek. Každá kazetka obsahuje jeden strip.
2. LY-D pufr lahvička (7 mL)
3. Návod k použití (1)
4. Jednorázové odběrové zkumavky (20)
5. Jednorázové přenosové pipety 120µl (20)

III. ZVLÁŠTNÍ OPATŘENÍ

- Veškeré úkony spojené s použitím testu musí být prováděny v souladu se zásadami správné laboratorní praxe (GLP).
- Všechna činidla jsou určena výhradně k diagnostice *in vitro*.
- Sáček je nutné otevírat opatrně.
- Kazetky musí zůstat v uzavřených sáčcích až do okamžiku použití.
- Nedotýkejte se prsty nitrocelulózové membrány.
- Při manipulaci se vzorky používejte rukavice.
- Nikdy nepoužívejte činidla z jiné soupravy.
- Zařízení nepoužívejte opakovaně.
- Zelené nebo modré čáry označují místa navázání imunoreagentů. Zelené nebo modré zbarvení během testu mizí.
- Kvalitu činidel nelze zaručit po uplynutí doby použitelnosti nebo v případě, že činidla nebyla skladována za podmínek uvedených v příbalové informaci.

IV. LIKVIDACE ODPADU

- Rukavice, výtěrové tampony, zkumavky a použité pomůcky zlikvidujte v souladu se správnou laboratorní praxí (GLP).
- Každý uživatel je zodpovědný za nakládání s veškerým vzniklým odpadem a musí zajistit jeho likvidaci v souladu s platnými právními předpisy.
- Po použití pomůcku zlikvidujte v nádobě na infekční odpad.

V. UCHOVÁVÁNÍ

- Neotevřený sáček lze uchovávat při teplotě mezi 2 a 30 °C a používat až do doby doby trvanlivosti uvedené na obalu. Jakmile je sáček otevřen, test se musí provést okamžitě.
- Vyhněte se zmrazení kazetek a pufrů.

VI. MANIPULACE A SBĚR VZORKŮ

Vzorky určené k testování by měly být odebírány a zpracovávány pomocí standardních mikrobiologických metod.

Zajistěte, aby vzorky nebyly ošetřeny roztoky obsahujícími formaldehyd nebo jeho deriváty.

Kultivační média testovaná a validovaná pro použití se soupravami Coris BioConcept RESIST jsou uvedena na webových stránkách: https://www.corisbio.com/faq

VII. POSTUP

PŘÍPRAVY TESTU:

Před provedením testu nechte součásti soupravy v neotevřeném obalu a vzorky (pokud byla miska s testovanou kolonií uchovávána při teplotě 4 °C) dosáhnout pokojové teploty (15–30 °C).

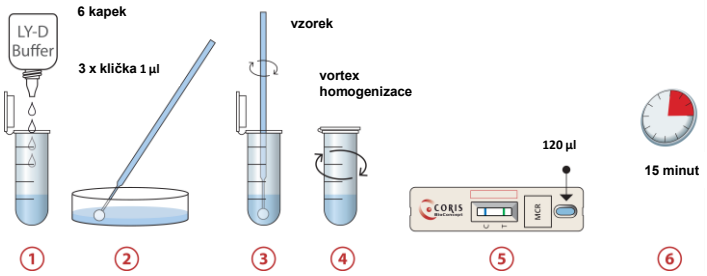
Otevřete sáček a vyjměte kazetku. Po otevření sáčku proveďte test okamžitě.

Na testovací zařízení vyznačte jméno pacienta nebo číslo vzorku (jedno zařízení na jeden vzorek).

POSTUP PŘÍPRAVY VZORKU:

Pro dosažení optimálních výsledků testu doporučujeme použít čerstvé bakteriální kolonie.

1. Připravte si jednu zkumavku a přidejte do ní 6 kapek pufru LY-D.
2. Odeberte bakterie – konkrétně 3 kolonie (což odpovídá 3 odběrům bakteriologickou kličkou o objemu 1 µl)
3. pomocí jednorázové bakteriologické kličky a ponořte ji ke dnu zkumavky s pufrem.
4. Před vyjmutím kličky obsah důkladně promíchejte.
5. Zkumavku uzavřete a směs homogenizujte pomocí vortexu.
6. Pomocí přenosové pipety naneste 120 µl naředěného vzorku do jamky na kazetě (pro přesné nasátí 120 µl musí hladina naředěného vzorku dosahovat černé rysky vyznačené na pipetě).
7. Nechte reagovat maximálně 15 minut a poté odečtěte výsledek.



Pozitivní výsledky lze zaznamenat dříve, jakmile se zviditelní testovací a kontrolní proužek.

Po uplynutí doby reakce již neberte v úvahu případné objevení nových proužků.

Výsledek je nutné odečíst, dokud je strip ještě vlhký.

VIII. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

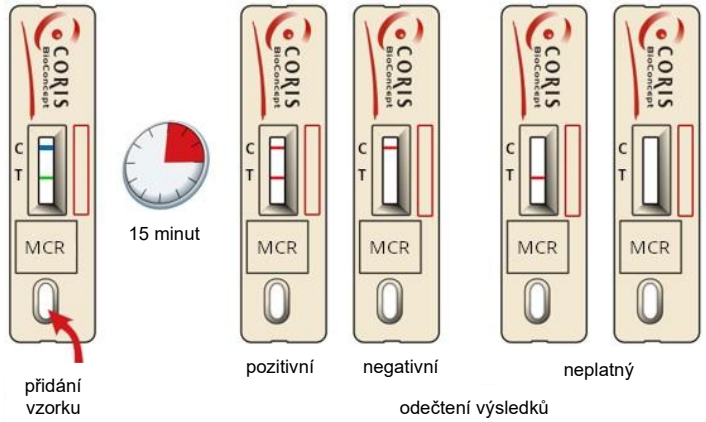
Výsledky se interpretují následovně:

Negativní výsledek testu: v centrálním vyhodnocovacím okénku se objeví načervenale fialový proužek v místě kontrolní zóny (C). Žádný další proužek není přítomen.

Pozitivní výsledek testu: kromě načervenale fialového proužku v místě kontrolní zóny (C) se objeví viditelný načervenale fialový proužek v místě testovací zóny (T). Intenzita testovacího proužku se může lišit v závislosti na množství antigenů a typu varianty MCR přítomné ve vzorku. Jakýkoli načervenale fialový proužek (T), byť slabý, se považuje za pozitivní výsledek.

Neplatný výsledek testu: Absence kontrolního proužku značí chybu v postupu testování. Neplatné testy opakujte s použitím nové testovací sady.

Poznámka: během procesu zasychání se může v místě testovacího poružku objevit velmi slabý stín. Ten by neměl být považován za pozitivní výsledek.



IX. VÝKONNOST TESTU:

A. Detekční limit

Detekční limit určený purifikovaným rekombinantním proteinem MCR-1 byl vyhodnocen na 100 pg/mL

B. Citlivost – Specifita : Retrospektivní studie

Testovací kazety byly validovány porovnáním s referenčními metodami (sekvenování celého genomu a genomická analýza) ve dvou retrospektivních studiích provedených ve dvou národních referenčních centrech na 199 po sobě jdoucích, neopakujících se klinických izolátech s podezřením na mechanismy rezistence ke kolistinu a/nebo rezistence ke karbapenemům. Údaje o výkonnosti jsou uvedeny v závislosti na celkovém počtu cílových sekvencí mcr:

2 Studie NRC	Kategorie vzorků	počet vzorků (referenční metoda)		získané výsledky (RESIST-1 MCR Multi)
Ukázka	Pozitivní	MCR-1	102	102
		MCR-2	2	2
		MCR-3	4	0
		MCR-4	4	0
		MCR-5	5	0
		MCR-6	1	1
		MCR-7	1	0
		MCR-8	1	0
		MCR-9	23	0
		MCR-10	1	0
	Negativní	55		Negativní
Citlivost	100 % (105/105) MCR-1, -2, -6			
Specificita	100 % (94/94) MCR-1, -2, -6			

C. Přesnost: Opakovatelnost a reprodukovatelnost

Pro ověření přesnosti v rámci jedné šarže (opakovatelnosti) a variability mezi jednotlivými oracovníky byly tytéž pozitivní vzorky a pufr zpracovány třemi pracovníky s využitím jedné šarže testovací sady v pěti různých časových okamžicích, aby se zajistilo, že test poskytuje spolehlivé a opakovatelné výsledky. Všechny získané výsledky odpovídaly očekávání, což prokázalo dobrou opakovatelnost.

Pro ověření přesnosti mezi šaržemi (reprodukovatelnosti) byly vybrané vzorky (pozitivní a pufr) zpracovány pomocí sad ze tří různých výrobních šarží. Všechny získané výsledky odpovídaly očekávání, což prokázalo dobrou reprodukovatelnost.

D. Interference

Výkonnost testu byla stanovena na koloniích po kultivaci na krevním agaru TSA, agaru COS nebo agaru Mueller-Hinton. Rezistence jsou celkově detekovány správně bez ohledu na použitou kultivační půdu. V závislosti na typu půdy jsou někdy pozorovány rozdíly v intenzitě signálu, což je pravděpodobně způsobeno vlivem složení půdy na růst bakterií a/nebo produkci enzymů.

E. Křížová reaktivita

Křížová reaktivita testu RESIST-1 MCR Multi byla dříve hodnocena na souboru bakteriálních izolátů – citlivých i necitlivých ke kolistinu –, které vykazovaly mechanismy rezistence nezávislé na genech MCR-1, -2 a -6, na něž se test RESIST-1 MCR Multi zaměřuje.

Do tohoto hodnocení bylo zahrnuto celkem 114 izolátů, konkrétně 107 zástupců čeledi Enterobacteriaceae, 4 kmeny *Pseudomonas aeruginosa* a 3 kmeny *Acinetobacter baumannii*. Studie probíhala ve třech evropských centrech. Použité organismy vykazovaly různé profily molekulární rezistence, jak je uvedeno v tabulce. Po kultivaci na krevním agaru TSA, agaru COS nebo agaru Mueller-Hinton vykázalo všech 114 izolátů (100 %) v testu RESIST-1 MCR negativní výsledek.

Tabulka mechanismů rezistence hodnocených pro křížovou reaktivitu:

Skupina organismů	Vyhodnocený mechanismus rezistence
Enterobacteriaceae	MCR-3, MCR-4, MCR-5, MCR-7, MCR-8, MCR-9, MCR-10 OXA-1, OXA-10, OXA-48, OXA-181 KPC, KPC-2, NDM, NDM-1, NDM-5, VIM-1, IMP6, IMP-19 CTX-M-2, CTX-M-9, CTX-M-15, CTX-M-55 SHV-12, SHV-106, SHV-158, SHV-187, SHV-212, SHV-229 TEM-1, TEM-150, TEM-210 ACT-45, CMY-41, DHA-1, OXY-6, AmpC, CMY-42, CMY-48
Pseudomonas aeruginosa	na
Acinetobacter baumanii	na

X. LIMITY TESTU

Test je kvalitativní a nedokáže stanovit množství antigenů přítomných ve vzorku. Pro stanovení diagnózy je nutné zohlednit klinický obraz a výsledky dalších testů.

Pozitivní výsledek testu nevylučuje přítomnost jiných mechanismů rezistence vůči antibiotikům, včetně karbapenemáz, které lze detekovat pomocí jiných testů řady RESIST.

K falešně negativním výsledkům může dojít při opakovaných subkulturách bakteriálního izolátu bez selekčního tlaku. Funkčnost testu RESIST-1 MCR Multi nebyla hodnocena u jiných bakterií než Enterobacterales a *Pseudomonas aeruginosa*.

XI. TECHNICKÉ PROBLÉMY/STÍŽNOSTI

Pokud narazíte na technický problém nebo pokud výkony neodpovídají těm uvedeným v tomto návodu:

1. Zaznamenejte číslo šarže sady
2. Pokud je to možné, uchovávejte vzorek za odpovídajících podmínek po dobu vyřizování reklamace.
3. Kontaktujte společnost Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) nebo svého místního distributora.

Jakýkoli závažný incident, k němuž došlo v souvislosti s prostředkem, musí být nahlášen výrobci a příslušnému orgánu členského státu, v němž má uživatel a/nebo pacient sídlo či bydliště.

XII. LITERÁRNÍ ODKAZY

A. C Bastidas-Caldes, JH de Waard, MS Salgado, MJ Villacís, M Coral-Almeida, Y Yamamoto, M Calvopiña Worldwide Prevalence of mcr-mediated Colistin-Resistance Escherichia coli in Isolates of Clinical Samples, Healthy Humans, and Livestock—A Systematic Review and Meta Analysis. Pathogens. 2022 Jun 8;11(6):659.

B. HM Martiny, P Munk, C Brinch, J Szarvas, FM Aarestrup, TN Petersen. Global Distribution of mcr Gene Variants in 214K Metagenomic Samples. mSystems. 2022 Apr 26;7(2):10522 1-15

C. K Song, L Jin, M Cai, Q Wang, X Wu, S Wang, S Sun, R Wang, F Chen, H Wang. Decoding the origins, spread, and global risks of mcr-9 gene. EBioMedicine. 2024 Oct;108:105326.

D. Suardíaz R, Lythell E, Hinchliffe P, van der Kamp M, Spencer J, Fey N,Mulholland AJ. Catalytic mechanism of the colistin resistance protein MCR-1. OrgBiomol Chem. 2021 May 5;19(17):3813-3819. doi: 10.1039/d0ob02566f. PMID:33606866; PMCID: PMC8097703.

Založeno na IFU-58R15/TB/01 Poslední aktualizace: 29. KVĚTNA 2026

REF	Katalogové číslo		Výrobce
IVD	Diagnostické zdravotnické zařízení *in vitro*		Teplotní limity
Σ	Obsahuje dostatek pro počet testů <n>	LOT	Číslo šarže
	Dodržujte návod k použití	2	Nepoužívejte opakovaně
	Udržujte v suchu		Použitelné do
DIL SPE	Ředící pufr		Ne pro samotestování
UDI	Jedinečný identifikátor zařízení		Ne pro testování v blízkosti pacientů

Distributor pro ČR:
GALI spol. s r.o.
Ke Stadionu 179, 513 01 Semily
+420 481 689 050
info@gali.cz
www.gali.cz