

Enterococcus QuickFISH® BC

Testkit zum Kulturnachweis von *Enterococcus faecalis*/ausgewählten anderen Enterokokken



25



QFENTBC1-25

Verwendungszweck

Der *Enterococcus QuickFISH BC* Test ist ein mehrfarbiger, qualitativer Nukleinsäurehybridisierungstest zum Nachweis von *Enterococcus faecalis* und/oder ausgewählten anderen Enterokokken auf Ausstrichen aus positiven Blutkulturen mit in Paaren und Ketten vorliegenden grampositiven Kokken, die mittels Gramfärbung beobachtet wurden.

Zur Gewinnung von Organismen für Empfindlichkeitstests und/oder Differenzierung von Mischwachstum ist eine Subkultivierung positiver Blutkulturen erforderlich.

Der *Enterococcus QuickFISH BC* Test ist als Hilfsmittel in der Diagnostik von durch Enterokokken verursachten Bakteriämien vorgesehen.

IVD In-vitro-Diagnostikum.

Zusammenfassung und Erklärung

In den letzten Jahren wurde erkannt, dass Enterokokken eine bedeutende Ursache nosokomialer und ambulant erworbener Infektionen sind.

Die Identifikation von Enterokokken in Blutkulturen erfolgt routinemäßig anhand einer mutmaßlichen Identifikation von in Paaren und Ketten vorliegenden grampositive Kokken (GPCPC) und einer anschließenden endgültigen Identifikation nach Subkultur und biochemischer Analyse (1).

Der *Enterococcus QuickFISH BC* Test ist ein mehrfarbiger Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungstest (FISH) mit PNA-Sonden, die an für *E. faecalis* spezifische ribosomale RNA-Sequenzen sowie an ribosomale RNA-Sequenzen ausgewählter anderer *Enterococcus*-Spezies hybridisieren.

Der Test ermöglicht eine schnelle Identifikation von *E. faecalis* und/oder ausgewählten anderen Enterokokken auf Ausstrichen aus positiven Blutkulturen.

Verfahrensprinzip

Ein Gemisch aus einer Fluorescein-markierten *E.-faecalis*-spezifischen PNA-Sonde und einer Tamra-markierten PNA-Sonde, die für ausgewählte andere Enterokokken spezifisch ist, wird auf einen aus einer positiven Blutkultur hergestellten Ausstrich gegeben.

Die Hybridisierung erfolgt bei 55 ± 1 °C für 15 Min. Der Ausstrich wird mittels Fluoreszenzmikroskopie untersucht.

Reagenzien

Das *Enterococcus QuickFISH BC* Testkit enthält die folgenden Komponenten:

Enterococcus PNA Blue

0,85 ml PNA-Sonden in
Hybridisierungslösung. Enthält 15 %
Formamid.

Enterococcus PNA Blue

Enterococcus PNA Yellow

Enterococcus PNA Yellow

Vorsichtsmaßnahmen

IVD In-vitro-Diagnostikum.

Achtung: Gemäß US-Bundesgesetz darf dieses Produkt ausschließlich an einen zugelassenen Arzt bzw. auf dessen Anordnung verkauft werden.

Ausschließlich zur professionellen Verwendung durch entsprechend geschultes Laborpersonal mit Erfahrung in der Fluoreszenzmikroskopie.

Sicherheitsmaßnahmen

<i>Enterococcus PNA Blue</i>	Gefahr	Kann das Kind im Mutterleib schädigen. Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Exposition vermeiden. Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen. Das Sicherheitsdatenblatt (SDB) ist auf Anfrage erhältlich.
<i>Enterococcus PNA Yellow</i>	Enthält 15 % Formamid.	
<i>QuickFix-1</i>	Enthält 24 % Ethanol.	Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Das Sicherheitsdatenblatt (SDB) ist auf Anfrage erhältlich. Im <i>QuickFISH</i> Fixation Kit enthalten.
<i>QuickFix-2</i>	Gefahr	Flüssigkeit und Dampf hochentzündlich. Giftig bei Verschlucken. Giftig bei Hautkontakt. Giftig bei Einatmen. Schädigt das zentrale Nervensystem. Das Sicherheitsdatenblatt (SDB) ist auf Anfrage erhältlich. Im <i>QuickFISH</i> Fixation Kit enthalten.
	Enthält 97 % Methanol.	

Sicherheitsmaßnahmen hinsichtlich mikrobieller Gefährdung treffen.

Im Arbeitsbereich weder Essen, Trinken, Rauchen, Schminken noch Lebensmittel aufbewahren oder zubereiten.

Die Reagenzien gemäß den bundesweiten, landesweiten und lokalen Vorschriften entsorgen.

Technische Sicherheitsmaßnahmen

Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf dem jeweiligen Etikett aufgedruckten Verfalldatums nicht verwendet werden.

Die Reagenzien werden in fixen Konzentrationen bereitgestellt. Die Testleistung ist möglicherweise beeinträchtigt, wenn die Reagenzien in irgendeiner Weise verändert werden oder nicht gemäß den empfohlenen Bedingungen (siehe „Lagerung der Kit-Komponenten“) gelagert werden.

Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden.

Jegliche Kreuzkontamination von Proben und Reagenzien vermeiden, da dies zu falschen Ergebnissen führen kann.

Die Spitze der Tropfflasche darf nicht mit dem Ausstrich in Kontakt kommen, da dies zu einer Kreuzkontamination von Material zwischen den Objektträgern oder einer Kontamination des Reagens führen kann.

Unbedingt für jede Probe eine neue Pipettenspitze und eine neue Impföse verwenden.

Als Mikroskopfilter ausschließlich die unter **Von AdvanDX erhältlichem Materialbedarf** aufgeführten AdvanDx Mikroskopfilter verwenden.

Als Objektträger ausschließlich *QuickFISH* Slides (CS012) verwenden.

Die AdvanDx SlideStation 10 muss vor dem Test auf einer ebenen Fläche stehen und auf 55 ± 1 °C äquilibriert sein.

Die ordnungsgemäße Funktion des Mikroskops muss sichergestellt sein. Sicherstellen, dass die Lichtquelle des Mikroskops korrekt eingestellt ist und deren angegebene Lebensdauer noch nicht überschritten ist.

Vorbereitete Ausstriche, die nicht innerhalb von 5 Minuten verwendet werden, können vor dem Testen bis zu 1 Stunde bei Raumtemperatur oder bis zu 1 Tag lang bei 2–8 °C aufbewahrt werden.

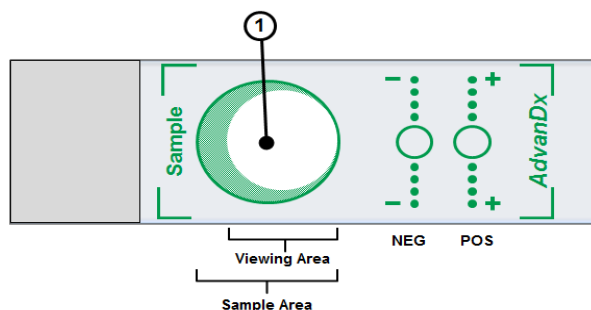
Lagerung und Vorbereitung der Kit-Komponenten

Um eine optimale Testleistung sicherzustellen, müssen die Kit-Komponenten gemäß den nachfolgenden Anweisungen gelagert werden:

Die Kit-Komponenten bei 2–8 °C lagern. Die Flaschen aufrecht lagern und nach Gebrauch fest verschließen. Die Reagenzien werden gebrauchsfertig geliefert.

Die *QuickFISH* Objektträger werden in einzeln versiegelten Beuteln mit Stickstoff und einem Trockenmittel bereitgestellt. Objektträger bei 2–8 °C lagern. Die Objektträger müssen umgehend nach dem Öffnen des Beutelverschlusses verwendet werden. Objektträger nicht nach dem Verfalldatum verwenden.

Grafische Darstellung *QuickFISH* Objektträger (Abbildung 1)



Probenahme und Vorbereitung

Vorbereitung von *Enterococcus QuickFISH* Ausstrichen

Der *Enterococcus QuickFISH* BC Test darf nur an positiven Blutkulturen durchgeführt werden, die mit Gramfärbung angefärbt wurden und in denen in Paaren und Ketten vorliegende grampositive Kokken nachgewiesen wurden.

Der *Enterococcus QuickFISH* BC Test ist nicht mit aktivkohlehaltigen Blutkulturmedien und VersaTREK REDOX 2 Blutkulturflaschen kompatibel.

- Die Anweisungen des Herstellers des Blutkultursystems beachten, um ein ordnungsgemäßes Mischen der Blutkulturflasche vor der Vorbereitung des Ausstrichs sicherzustellen.
- Den Objektträger bei 55 ± 1 °C auf die SlideStation geben. Beim Testen mehrerer Proben sicherstellen, dass die Objektträger nicht miteinander in Kontakt kommen, um eine Kontamination zu vermeiden.
- Die Spitze der Tropfflasche darf nicht mit dem Ausstrich in Kontakt kommen, da dies zu einer Kreuzkontamination von Material zwischen den Objektträgern oder einer Kontamination des Reagens führen kann.
- 1 oder mehrere Tropfen Blutkulturprobe in ein Sekundärgefäß (z. B. ein Mikrozentrifugenröhrchen) geben.
 - Für Proben mit Harzperlen (BD BACTEC Plus Flaschen): 10 oder mehr Tropfen der Probe in ein AdvanDx Filter-Vial geben. Fülllinie nicht überschreiten. Den Filterkolben in das Vial einsetzen und den Kolben zum Entfernen der Harzperlen ganz nach unten drücken.
 - Die Kappe des AdvanDx Filter-Vials abnehmen, um Zugang zur Probe zu erhalten.
- Sicherstellen, dass die Blutkulturprobe gut gemischt wurde. Mit der AdvanDx 10- μ l-Pipette 10 μ l Probe in die Mitte des Probenbereichs eines *QuickFISH* Objektträgers überführen. Siehe Ziffer ① in der grafischen Darstellung des *QuickFISH* Objektträgers (Abb. 1).
- Umgehend 1 Tropfen QuickFix-1 auf die Probe geben und die Probe mit einer Kunststoff-Impföse gleichmäßig über den gesamten Proben-Well verstreichen. Luftblasen vermeiden.
- Den Ausstrich trocknen lassen (1–3 Minuten). Der Ausstrich muss sichtbar trocken sein.
- 2 Tropfen QuickFix-2 in die Mitte des Probenbereichs geben. Siehe Ziffer ① in der grafischen Darstellung des *QuickFISH* Objektträgers (Abb. 1).
- Den Ausstrich trocknen lassen (ca. 1 Minute). Der Ausstrich muss sichtbar trocken sein.
- Fixierte *QuickFISH* Ausstriche dürfen maximal 5 Minuten auf dem 55 ± 1 °C warmen Objektträgerwärmer belassen werden.

Testverfahren

Packungsinhalt

Enterococcus QuickFISH BC QFENTBC1-25

Jedes Kit enthält ausreichend Materialien für 25 Tests. Die Reagenzien werden gebrauchsfertig geliefert. Das Verfalldatum des Kits befindet sich auf dem Etikett des Umkartons.

Von AdvanDX erhältlichlicher Materialbedarf

Large Coverslips (Große Deckgläser) 50 x 24 mm No. 1.	AC027
AdvanDx Microscope Filter Dualbandfilter für Hochdruck-Quecksilberdampflampen o. Ä.	AC007
AdvanDx Metal Halide Filter Dualbandfilter für modifizierte Quecksilberdampflampen (Metallhalid)	AC033
AdvanDx SlideStation-10 Objektträgerwärmer (55 ± 1 °C)	AC028
QuickFISH Coverslip Mixing Station	AC030
Kann bis zu 3 Deckgläser zum Mischen von <i>Enterococcus</i> PNA Yellow und Blue aufnehmen.	
AdvanDx 10 μl Pipette 10 μ l Fixvolumen-Pipette	AC029
QuickFISH Slide <i>QuickFISH</i> Objektträger mit Kontrollen*	CS012
QuickFix-1 Primäre Fixierlösung*	CP0169
QuickFix-2 Sekundäre Fixierlösung*	CP0170
AdvanDx Filter Vials Filterfläschchen zur Probenfiltration	AC008

* *QuickFISH* Slide, *QuickFix*-1 und *QuickFix*-2 sind im *QuickFISH* Fixation Kit enthalten.

Zusätzlich benötigtes Material

- Fluoreszenzmikroskop mit 60x (Öl) oder 100x (Öl) Objektiv und Hochdruck-Quecksilberdampflampe, modifizierter Quecksilberdampflampe (Metallhalid) oder Lichtquelle mit gleichwertigem Spektrum.
- Immersionsöl. Kompatibel mit dem Mikroskopobjektiv und nicht-fluoreszierend.
- Pipettenspitzen.
- Kunststoff-Impfösen.

Testablauf

- Wenn die *QuickFISH* Ausstriche nach der Fixierung bei 2–8 °C bzw. Raumtemperatur gelagert wurden, müssen sie vor der Zugabe der Hybridisierungsreagenzien für etwa 5 Minuten bei 55 ± 1 °C auf den Objektträgerwärmer gelegt werden.
- Die AdvanDx SlideStation-10 muss vor dem Test auf einer ebenen Fläche stehen und auf 55 ± 1 °C äquilibriert sein.

- Mithilfe des Displays und des (mitgelieferten) Oberflächenthermometers sicherstellen, dass die Temperatur der SlideStation-10 55 ± 1 °C beträgt.

Hybridisierung

- Ein Deckglas in eine der Mulden der QuickFISH Coverslip Mixing Station einlegen. Siehe Abbildung 2.
- Zur Vermeidung von Schaumbildung im Hybridisierungsgemisch die jeweilige Flasche zunächst auf den Kopf stellen und warten, bis sich in der Spitze der Tropfflasche ein Tropfen bildet, und dann erst die Flasche zusammendrücken.
- 1 Tropfen *Enterococcus* PNA Blue in die Mitte des Deckglases geben. Hinweis: Die ovale Aussparung in der Mulde der QuickFISH Mixing Station markiert die Mitte des Deckglases. 1 Tropfen *Enterococcus* PNA Yellow direkt auf den ersten Tropfen geben. Luftblasen vermeiden. Siehe Abbildung 2.
- PNA Blue und PNA Yellow mithilfe einer Kunststoff-Impföse so lange gründlich miteinander mischen, bis eine einheitlich grüne Farbe entsteht bzw. keine erkennbare blaue oder gelbe Farbe mehr vorhanden ist. Das Gemisch der Länge nach ausstreichen, um die ovale Aussparung zu füllen. Siehe Abbildung 3.

Abbildung 2

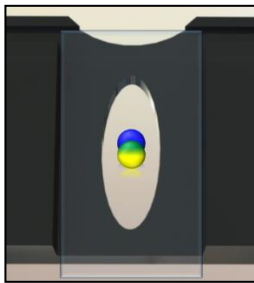
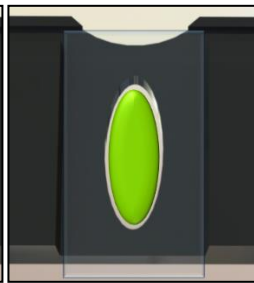


Abbildung 3



- Das Deckglas umdrehen und so auf den Objektträger legen, dass die Ränder mit den Randmarkierungen auf dem Objektträger übereinstimmen. Das Deckglas muss innerhalb dieser Markierungen positioniert werden. Wenn das Deckglas auf dem weißen Mattbereich positioniert wird, ist der Test aufgrund eines unzureichenden Reagenzflusses möglicherweise ungültig.
- 15–20 Minuten bei 55 ± 1 °C inkubieren.
- Hinweis: Eine Kreuzkontamination der Flaschen vermeiden. Die Tropferverschlüsse wieder auf die entsprechenden Flaschen aufsetzen.
- Die Objektträger wie unten erläutert auswerten.

Die Objektträger keinem direkten Sonnenlicht oder anderen starken Lichtquellen aussetzen, da dies zum Ausbleichen der Fluoreszenz führen kann.

Qualitätskontrolle

Bei jedem Test sollte eine Qualitätskontrolle für Fluoreszenztests mitgeführt werden.

Die Kontrollen sind gemäß den Anforderungen lokaler, landes- und/oder bundesweiter Vorschriften bzw. den Vorgaben von Akkreditierungsstellen zu testen.

QuickFISH Slides mit Kontrollen (CS012) verwenden.

Die QuickFISH Objektträger mit Kontrollen werden in einzeln versiegelten Beuteln mit Stickstoff und einem Trockenmittel bereitgestellt. Die Objektträger bei 2–8 °C lagern. Die Objektträger müssen umgehend nach dem Öffnen des Beutelverschlusses verwendet werden. Objektträger nicht nach dem Verfalldatum verwenden.

Die Positivkontrolle zeigt mehrere grün und rot und grün fluoreszierende, in Paaren und Ketten vorliegende Kokken an, die Negativkontrolle enthält keine rot oder grün fluoreszierenden Zellen. Die Wells der Positiv- und Negativkontrollen (POS + bzw. NEG -) enthalten repräsentative Organismen für alle AdvanDx QuickFISH BC Testkits. Kontrollorganismen für andere Kits sind möglicherweise in den Wells der Positiv- wie auch der Negativkontrolle schwach sichtbar (nicht-fluoreszierend).

Die Zellmorphologie und Farbe der Proben und Kontrollen kann sich aufgrund der natürlichen Variationen voneinander unterscheiden.

Wenn sich die interne Positiv- und Negativkontrolle nicht wie oben erläutert verhalten, sind die Ergebnisse ungültig und die Patientenergebnisse dürfen nicht als Befund gemeldet werden.

Lokalisierung der Kontrollen:

Die Mitte des Mikroskopobjektivs an den Punkten des POS(+)-Wells auf dem QuickFISH Objektträger ausrichten (siehe Abbildung 1). Den Objektträgertisch solange vor- bzw. rückwärts bewegen, bis die grüne Umrandung des Wells im Sehfeld erscheint. Mithilfe der Feinfokussierung auf die grüne Umrandung des Wells fokussieren (dies ist die richtige Fokusebene für das Auslesen der Objektträger). Zum Auslesen der Positivkontrolle das Objektiv in den zentralen Bereich der POS-Kontrolle bewegen. Zum Auslesen der Negativkontrolle das Objektiv seitwärts in die Mitte des NEG-Wells bewegen. Durch weitere Seitwärtsbewegung den Sehbereich des Proben-Wells aufsuchen.

Verfahrenshinweise

Häufig verwendete Blutkultursysteme und Kompatibilität von Flaschentypen:

Der QuickFISH Test ist mit handelsüblichen Blutkultursystemen mit kontinuierlicher Messung und handelsüblichen Flaschentypen kompatibel, mit Ausnahme von Aktivkohle-Flaschen sowie der anaeroben VersaTREK REDOX 2 Flasche. Folgende Flaschentypen wurden getestet:

BacT/Alert (SA, SN)

BACTEC (Lytic 10 anaerobic, Aerobic plus, Anaerobic plus, Peds Plus, Standard 10 aerobic, Standard anaerobic)

VersaTREK (REDOX 1 aerobic)

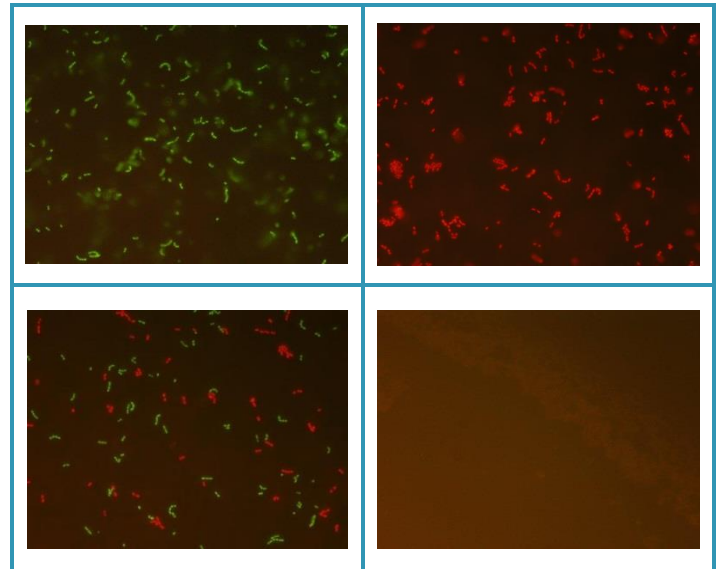
Temperaturregulierung:

Die AdvanDx SlideStation-10 muss vor dem Test auf einer ebenen Fläche stehen und auf 55 ± 1 °C äquilibriert sein.

Auswertung der Ergebnisse

Die Objektträger innerhalb von 2 Stunden nach der Hybridisierung auslesen.

Zum Auslesen der Objektträger ein Fluoreszenzmikroskop mit 60x (Öl) oder 100x (Öl) Objektiv verwenden. Die Probe im Sehfeld innerhalb des Probenbereichs auslesen. Der Hintergrund des Ausstrichs erscheint möglicherweise rötlich. *Enterococcus faecalis* wird anhand von mehreren hellgrün fluoreszierenden Kokken in mehreren Sehfeldern identifiziert, ausgewählte andere Kokken, die mit diesem Test identifiziert werden können, werden anhand von mehreren hellrot fluoreszierenden Kokken in mehreren Sehfeldern identifiziert. Nicht-Enterokokken und Enterokokken-Spezies, die nicht mit diesem Test identifiziert werden können, erscheinen ohne Fluoreszenz. Schwebende Organismen oder Fragmente dürfen nicht ausgewertet bzw. mit positiven Organismen verwechselt werden.



Typische Ergebnisbeispiele für grün-positive *E. faecalis* (oben links), rot-positive *E. faecium* (oben rechts), Mischung von grün-positiven *E. faecalis* und *E. faecium* (unten links) sowie negativen Test (unten rechts).

Hinweis: In den analytischen Studien wurden schwache Grünsignale bei *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Granulicatella elegans*, *Serratia marcescens* und 2 Stämmen von *Streptococcus anginosus* (bekannte Einschränkung) beobachtet, die jedoch nicht das Kriterium von hell fluoreszierenden Zellen in mehreren Sehfeldern für ein richtig-positives Signal erfüllten.

Fehlerbehebung

Bei einer Verwendung anderer Filter als dem AdvanDx Microscope Filter (AC007) oder kontaminierten Proben kann es zu falsch-positiven und/oder falsch-negativen Testergebnissen bei Kontrollen und Proben kommen.

Bei einer Verwendung anderer Objektträger als den AdvanDx QuickFISH Slides (CS012) oder einer ungenauen Temperaturregulierung während der Hybridisierung kann es zu falsch-negativen Testergebnissen bei Kontrollen bzw. Proben kommen.

Siehe Abschnitte „Vorsichtsmaßnahmen“ und „Einschränkungen“ dieser Produktbeilage oder AdvanDx kontaktieren.

Für die ordnungsgemäße Funktion des Testkits ist es nicht erforderlich, dass der Deckel der SlideStation geschlossen ist.

Der Test kann auf kleine Änderungen bei der Tropfenmenge von *Enterococcus* PNA Blue und *Enterococcus* PNA Yellow reagieren. Das Deckglas NICHT verwenden, wenn Schaum aus den Flaschen austritt. Mit frischen Hybridisierungsreagenzien ein neues Deckglas vorbereiten.

Einschränkungen

- Die „ausgewählten“ anderen Enterokokken, die unter „Verwendungszweck“ erwähnt werden, sind *E. faecium* (in den klinischen Studien vertreten) und 13 andere *Enterococcus*-Spezies, die in den analytischen Studien und in begrenzter Zahl in den klinischen Studien untersucht wurden. Siehe hierzu „Klinische Studien“ sowie den Abschnitt „Analytische Spezifität und Sensitivität“ unter „Leistungsdaten“.
- Einige *Enterococcus*-Spezies werden von keiner der beiden PNA-Sonden erkannt: *E. asiini*, *E. cecorum*, *E. columbae*, *E. dispar*, *E. pallens*, *E. saccharolyticus* und *E. sulfureus*.
- E. caccae*, *E. haemoperoxidus*, *E. moraviensis* und einige Stämme von *Streptococcus anginosus* werden aufgrund von Sequenzähnlichkeiten als *E. faecalis* identifiziert.
- Der *Enterococcus* QuickFISH BC Test ist nicht mit aktivkohlehaltigen Blutkulturmedien und VersaTREK REDOX 2 Blutkulturflaschen kompatibel.
- Es wurden klinische Studien unter Verwendung der BACTEC Plus Aerobic, BACTEC Plus Anaerobic, BACTEC Lytic/10 Anaerobic, BACTEC Peds Plus und BacT/ALERT SA und SN Blutkulturflaschen durchgeführt. Die Testleistung des *Enterococcus* QuickFISH BC Tests mit anderen Blutkulturflaschentypen wurde nicht untersucht.
- Die BACTEC Plus Anaerobic und BACTEC Peds Plus Flaschen wurden im Rahmen der klinischen Prüfung nicht eingehend evaluiert, daher wurde die Leistung nicht adäquat bestimmt.
- Die Leistung der VersaTREK REDOX 1 und BACTEC (Anaerobic Plus, Standard 10 Aerobic, Standard Anaerobic/F) Blutkulturflaschen wurde ausschließlich in einer internen Kompatibilitätsstudie untersucht. Daher ist die klinische Leistung unbekannt.
- Wenn anstelle des AdvanDx Microscope Filters ein FITC-Standardfilter verwendet wird, kann eine falsch-positiv grüne Autofluoreszenz auftreten.
- Falsch-negative Testergebnisse treten in seltenen Fällen aufgrund von Mischwachstum oder Fehlern beim Testverfahren auf.

- Die visuelle Erscheinung des erhaltenen Bilds wird von der Art und dem Zustand des verwendeten Instruments beeinflusst. Die Fluoreszenz kann aufgrund des verwendeten Mikroskoptyps, der verwendeten Lichtquelle sowie der rRNA-Konzentration in den Zellen variieren. Jedes Labor sollte zum Auslesen der Ergebnisse unter Verwendung geeigneter Kontrollen seine eigenen Kriterien festlegen.
- Zur Differenzierung eines gemischten Wachstums mit anderen Organismen und zur Identifikation positiver Blutkulturen, die ein negatives Ergebnis liefern, ist eine Isolierung auf festem Medium erforderlich.

Das Produkt wurde ausschließlich mit Proben aus Blutkulturen validiert.

Erwartete Ergebnisse

Die Rate der Positivergebnisse für *E. faecalis* und ausgewählte andere Enterokokken bei Blutkulturflaschen, die auf in Paaren und Ketten vorliegende grampositive Kokken positiv waren, lag in den klinischen Studien bei 21–38 % bzw. 9–21 %. Nicht-*Enterococcus*-Spezies wurden in 49–59 % der Proben identifiziert. Die Studienpopulation der Blutkulturflaschen, die auf in Paaren und Ketten vorliegende grampositive Kokken positiv waren, stammte von 5 Gesundheitszentren in den USA und umfasste 244 Blutkulturen von 244 Patienten. Die dargestellten Raten sind ein prozentualer Anteil an der Anzahl der einzelnen Zielspezies, die mittels Routineverfahren in den einzelnen Blutkulturproben identifiziert wurden, als prozentualer Anteil an der Gesamtzahl aller in den Studien identifizierten Spezies (siehe Abschnitt „Leistungsdaten“). Die tatsächlichen Benutzerraten können je nach Einrichtung und Patientenpopulation variieren (2).

Leistungsdaten

Die Leistung des *Enterococcus* QuickFISH BC Tests im Vergleich zu Routinelabormethoden wurde im Rahmen von fünf Studien mit klinischen Laboren beurteilt.

In den Studien wurden insgesamt 244 GPCPC-positive Routine-Blutkulturflaschen von 244 Patienten untersucht. Die Studien ergaben eine prozentuale positive Übereinstimmung von 100 % (70/70) bei *E. faecalis* und 97,5 % (39/40) bei ausgewählten anderen Enterokokken. Die prozentuale negative Übereinstimmung betrug 100 % (135/135) bei positiven Blutkulturflaschen mit GPCPC.

Klinische Studien

		Routine-Identifikation		
		<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i> und andere Enterokokken ¹	Andere
<i>Enterococcus</i> QuickFISH BC	<i>E. faecalis</i>	70	0	0
	Ausgewählte andere Enterokokken	0	39	0
	Negativ	0	1 ²	135
	Gesamt	Positive Übereinstimmung in % 100 % (70/70) ³ 95 % KI (94,8–100)	Positive Übereinstimmung in % 97,5 % (39/40) ³ 95 % KI (87,1–99,6)	Negative Übereinstimmung in % 100 % (135/135) 95 % KI (97,2–100)

¹ Neben 36-mal *E. faecium* wurde in den klinischen Studien 3-mal *E. gallinarum* und 1-mal *E. raffinosus* identifiziert.

² Eine falsch-negative Probe (1 Stunde und 15 Minuten nach Gramfärbung getestet) war eine Mischkultur von *E. faecium*, MRSA und *K. pneumoniae*. Der Wiederholungstest eine Woche später war schwach positiv.

³ Umfasst 1 Mischkultur von *E. faecalis*, *E. gallinarum* und *S. marcescens*.

In den klinischen Studien wurden die Flaschen nach der Gramfärbung und vor dem QuickFISH Test bei Raumtemperatur gelagert. Die Zeit zwischen der Gramfärbung und der Vorbereitung des *Enterococcus* QuickFISH BC Objektträgers schwankte zwischen 2 Stunden und mehr als 48 Stunden. In der Studie gab es nur einen abweichenden Test (1/244). Bei der betreffenden Probe handelte es sich um eine Mischkultur, die innerhalb von zwei Stunden nach der Gramfärbung getestet worden war.

Nachweisgrenze

Als Nachweisgrenze für *E. faecalis* und ausgewählte andere Enterokokken wurde mittels Verdünnungsreihen von Positivkulturen jeweils ein Wert von circa 10⁵ koloniebildenden Einheiten je Milliliter ermittelt. Dies entspricht der analytischen Sensitivität von objektträgerbasierten Anfärbeverfahren.

Analytische Spezifität und Sensitivität

Der *Enterococcus QuickFISH BC* Test wurde an 6 Stämmen klinischen Laboren und 124 Stämmen aus Referenzlaboren, darunter 16 *Enterococcus-faecalis*-Stämme und 32 Stämme anderer *Enterococcus*-Spezies, untersucht. Alle 16 *Enterococcus-faecalis*-Stämme testeten grün-positiv und 22 der 32 anderen Enterokokkenstämme waren rot-positiv. Sieben *Enterococcus*-Spezies wurden falsch-negativ getestet. Drei *Enterococcus*-Spezies lieferten falsch-positive grüne Ergebnisse. Siehe nachstehende Tabellen.

Der *Enterococcus QuickFISH BC* Test wurde zudem an 76 Stämmen anderer Bakterien sowie 6 Hefestämmen untersucht. Mit Ausnahme von *Granulicatella adiacens*, bei dem ein orangefarbenes Fluoreszenzsignal beobachtet wurde, zeigten alle 82 Organismen die erwarteten negativen Testergebnisse. Schwache Grünsignale wurden bei *Enterobacter cloacae* *Proteus mirabilis*, *Granulicatella elegans*, *Serratia marcescens* und 2 Stämmen von *Streptococcus anginosus* beobachtet, die jedoch nicht das Kriterium von hell fluoreszierenden Zellen in mehreren Sehfeldern für ein richtig-positives Signal erfüllten.

Die folgenden 22 *Enterococcus*-Stämme von 14 Spezies wurden in den analytischen Studien untersucht und lieferten positiv-rote Signale.

Spezies	Stamm-ID	Ergebnis
<i>Enterococcus avium</i>	ATCC 49463	Rot
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	ATCC 25788	Rot
<i>Enterococcus durans</i>	ATCC 6056	Rot
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 27270	Rot
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 35667	Rot
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 51559	Rot
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 19434	Rot
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 49224	Rot
<i>Enterococcus faecium</i>	BAA 472	Rot
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 51858	Rot
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 6569	Rot
<i>Enterococcus flavescens</i>	ATCC 49996	Rot
<i>Enterococcus gallinarum</i>	ATCC 49573	Rot
<i>Enterococcus gilvus</i>	ATCC BAA-350	Rot
<i>Enterococcus hirae</i>	ATCC 8043	Rot
<i>Enterococcus hirae</i>	ATCC 49135	Rot
<i>Enterococcus malodoratus</i>	ATCC 43197	Rot
<i>Enterococcus mundtii</i>	ATCC 43187	Rot
<i>Enterococcus phoenicullicola</i>	ATCC BAA-412	Rot
<i>Enterococcus raffinosus</i>	ATCC 49464	Rot
<i>Enterococcus ratti</i>	ATCC 700914	Rot
<i>Enterococcus villorum</i>	ATCC 700913	Rot

Die folgenden 3 *Enterococcus*-Spezies wurden in den analytischen Studien untersucht und lieferten falsch-grüne Ergebnisse; sie wurden in den Abschnitt „Einschränkungen“ aufgenommen.

Spezies	Stamm-ID	Ergebnis
<i>Enterococcus caccae</i>	ATCC BAA-1240	Grün
<i>Enterococcus haemoperoxidus</i>	ATCC BAA-382	Grün
<i>Enterococcus moraviensis</i>	ATCC BAA-383	Grün

Die folgenden 7 *Enterococcus*-Spezies wurden in den analytischen Studien untersucht und lieferten negative Ergebnisse; sie wurden in den Abschnitt „Einschränkungen“ aufgenommen.

Spezies	Stamm-ID	Ergebnis
<i>Enterococcus asini</i>	ATCC 700915	Negativ
<i>Enterococcus cecorum</i>	ATCC BAA-597	Negativ
<i>Enterococcus columbae</i>	ATCC 51263	Negativ
<i>Enterococcus dispar</i>	ATCC 51266*	Negativ
<i>Enterococcus pallens</i>	ATCC BAA-351	Negativ
<i>Enterococcus saccharolyticus</i>	ATCC 43076	Negativ
<i>Enterococcus sulfureus</i>	ATCC 49903	Negativ

* Stamm bei ATCC nicht mehr erhältlich

Reproduzierbarkeit

Es wurde eine Reproduzierbarkeitsstudie mit dem *Enterococcus QuickFISH BC* Test über 3 Tage in 3 Zentren durchgeführt. Die Ergebnisse nach Zentrum sind nachstehend aufgeführt.

Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsstudie über 3 Tage nach Zentrum

	Zentrum 1	Zentrum 2	Zentrum 3	Gesamt
Positive Übereinstimmung – Grün	45/45	45/45	45/45	100 % (135/135)
Positive Übereinstimmung – Rot	45/45	39/45	45/45	95,6 % (129/135)
Negative Übereinstimmung	36/36	36/36	36/36	100 % (108/108)
Gesamtübereinstimmung	100 % (126/126)	95,2 % (120/126)	100 % (126/126)	98,4 % (372/378)












Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsstudie an 3 Zentren nach Tag

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Gesamt
Positive Übereinstimmung – Grün	45/45	45/45	45/45	100 % (135/135)
Positive Übereinstimmung – Rot	42/45	42/45	45/45	95,6 % (129/135)
Negative Übereinstimmung	36/36	36/36	36/36	100 % (108/108)
Gesamtübereinstimmung	97,6 % (123/126)	97,6 % (123/126)	100 % (126/126)	98,4 % (372/378)

Bibliografie

1. **Baron, E. J.** 1998. Processing and interpretation of blood cultures, chap. 2.3. In: H.D. Isenberg (Ed.) Essential procedures for clinical microbiology, ASM Press, Washington DC.
2. **Karlowsky JA, Jones ME, Draghi DC, Thornsberry C, Sahm DF, Volturo GA.** 2004. Prevalence and antimicrobial susceptibilities of bacteria isolated from blood cultures of hospitalized patients in the United States in 2002. *Ann Clin Micro and Antibi.* 3(7).

Legende

	Produktcode/Bestellnummer		Chargennummer
	Gebrauchsanweisung beachten		Lagertemperaturbereich
	Enthält Material für <n> Tests		Gesundheitsgefahr
	Hersteller		Totenkopf mit gekreuzten Knochen
	Bevollmächtigter		Flamme
	Verwendbar bis		

Technische Hilfe und Kundendienst

Für alle Anfragen kontaktieren Sie bitte OpGen bzw. Ihren Händler vor Ort.



OpGen, Inc.
708 Quince Orchard Rd
Gaithersburg, MD 20878
USA

Tel: +1 301 869 9683
Fax: +1 301 869 9684



Curetis GmbH
Max-Eyth-Straße 42
71088 Holzgerlingen,
Germany

Tel: +49 7031 49195 10
Fax: +49 7031 49195 19

techsupport@opgen.com

www.OpGen.com

Unter Lizenz von Boston Probes, Inc. hergestellt.

Das Produkt darf nicht für objektträgerbasierte humane Zytochemie, ISH-basierte Zytogenetik von Krebszellen sowie für Durchflusszytometrie verwendet werden.

30 March 2020

**PN1879H-DE
DCR 20-0033**

Der Kauf dieses Kits berechtigt zu seiner Verwendung unter den folgenden Patentnummern: US 5,985,563; US 5,888,733; US 6,664,045; US 6,395,474; US 6,357,163; US 5,539,082; US 7,223,833; US 6,361,942; US 7,816,50; EP 862,650; EP 804,456