

Enterococcus QuickFISH® BC

Enterococcus faecalis/Altri enterococchi selezionati

Kit per identificazione da coltura



25



QFENTBC1-25

Usso previsto

Enterococcus QuickFISH BC è un saggio multicolore qualitativo basato sull'ibridazione degli acidi nucleici per l'identificazione di *Enterococcus faecalis* e/o per il rilevamento di altri enterococchi selezionati, su strisci da emocolture positive contenenti cocchi Gram-positivi in coppie e catene, identificati tramite colorazione di Gram.

È necessaria la sottocoltura di emocolture positive per recuperare gli organismi per il test di suscettibilità e/o per la differenziazione di una crescita mista.

Il saggio *Enterococcus QuickFISH BC* è indicato come ausilio per la diagnosi di batteriemia causata da enterococchi.

IVD Per uso diagnostico *in vitro*.

Riepilogo e spiegazione

Nel corso degli ultimi anni, gli enterococchi sono emersi come cause importanti delle infezioni nosocomiali e comunitarie.

L'identificazione degli enterococchi nelle emocolture si basa solitamente sull'individuazione presuntiva di cocchi Gram-positivi in coppie e catene (GPCPC), seguita dall'identificazione definitiva dopo sottocoltura e analisi biochimica (1).

Enterococcus QuickFISH BC un metodo di ibridazione a fluorescenza *in situ* (FISH) multicolore che utilizza sonde a PNA che si ibridano con sequenze specifiche di RNA ribosomiale di *E. faecalis* e con le sequenze di RNA ribosomiale di altre specie di *Enterococcus* selezionate.

Il test consente di identificare rapidamente *E. faecalis* e/o altri enterococchi selezionati su strisci preparati da emocolture positive.

Principio della procedura

Una miscela di sonde a PNA specifiche per *E. faecalis* marcate con fluoresceina e di sonde a PNA marcate con Tamra specifiche per altre specie di enterococchi selezionate viene aggiunta a uno striscio preparato da emocolture positive.

L'ibridazione viene eseguita a 55 ± 1 °C per 15 minuti e lo striscio viene esaminato mediante microscopia a fluorescenza.

Reagenti

Il kit *Enterococcus QuickFISH BC* comprende i seguenti componenti:

PNA per *Enterococcus* blu

0,85 ml di sonde a PNA in soluzione di ibridazione. Contiene formammide al 15%.

Enterococcus PNA Blue

Enterococcus PNA Yellow

PNA per *Enterococcus* giallo

Precauzioni

IVD Per uso diagnostico *in vitro*.

Attenzione: la legge federale statunitense limita la vendita di questo dispositivo ai medici o su presentazione di prescrizione medica.

Esclusivamente per uso professionale da parte di personale addestrato nelle tecniche di laboratorio e con esperienza nella microscopia a fluorescenza.

Precauzioni di sicurezza

| | | |
|-----------------------------------|-----------------------------|---|
| <i>Enterococcus</i> PNA Blue | Pericolo | Può essere nocivo per i nascituri. Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. Evitare l'esposizione - Richiedere istruzioni speciali prima dell'uso. La scheda dati di sicurezza è disponibile su richiesta. |
| <i>Enterococcus</i> PNA Yellow | Contiene formammide al 15%. | |
| QuickFix-1 | Contiene etanolo al 24%. | Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. La scheda dati di sicurezza è disponibile su richiesta. Disponibile nel kit di fissaggio QuickFISH. |
| QuickFix-2 | Pericolo | Liquido e vapori altamente infiammabili. Tossico se ingerito. Tossico per contatto con la pelle. Tossico se inalato. Provoca lesioni al sistema nervoso centrale. La scheda dati di sicurezza è disponibile su richiesta. Disponibile nel kit di fissaggio QuickFISH. |
| | Contiene metanolo al 97%. | |

Stabilire le precauzioni contro i rischi biologici.

Non mangiare, bere, fumare, usare cosmetici, conservare o preparare cibo nell'area di lavoro designata.

Smaltire i reagenti in conformità alle normative nazionali, regionali e locali.

Precauzioni tecniche

I reagenti non devono essere utilizzati oltre le date di scadenza indicate sulle etichette.

I reagenti sono forniti in concentrazioni fisse. L'alterazione o la conservazione dei reagenti in modo non conforme alle condizioni raccomandate, descritte in "Conservazione dei componenti del kit" può influire sul rendimento del saggio.

Evitare la contaminazione microbiologica dei reagenti.

Evitare la cross-contaminazione dei campioni e dei reagenti poiché potrebbe causare risultati erranei.

Non lasciare che la punta del flacone contagocce tocchi lo striscio poiché ciò potrebbe causare la cross-contaminazione del materiale tra i vetrini oppure la contaminazione del reagente.

Assicurarsi di utilizzare sempre un puntale per pipetta e un ago per inoculazione nuovi per la miscelazione di ciascun campione.

Non utilizzare filtri per microscopio che siano diversi dai filtri per microscopio AdvanDX elencati nella sezione **Materiali necessari e disponibili da AdvanDx**.

Non utilizzare vetrini per microscopia diversi dai vetrini *QuickFISH* (CS012).

È importante che la piastra riscaldante AdvanDx SlideStation 10 sia disposta su un piano uniforme e che la temperatura sia stabile a 55 ± 1 °C prima dell'esecuzione del test.

È importante che il microscopio funzioni correttamente. Assicurarsi che la lampadina del microscopio sia regolata correttamente e che non abbia un tempo operativo superiore a quello raccomandato.

Conservazione e preparazione dei componenti del kit

Per garantire una prestazione ottimale del kit è importante che i componenti siano conservati secondo le istruzioni seguenti:

Conservare i componenti del kit a 2-8 °C. Conservare i flaconi in posizione verticale e chiuderli bene con il tappo dopo l'uso. I reagenti sono forniti pronti per l'uso.

I vetrini *QuickFISH* sono forniti in confezioni sigillate singolarmente contenenti azoto e un essiccante. Conservare i vetrini a 2-8 °C. I vetrini devono essere utilizzati immediatamente dopo l'apertura della confezione. Non usare i vetrini dopo la data di scadenza.

Raccolta e preparazione dei campioni

Preparazione degli strisci per microscopia *Enterococcus QuickFISH*

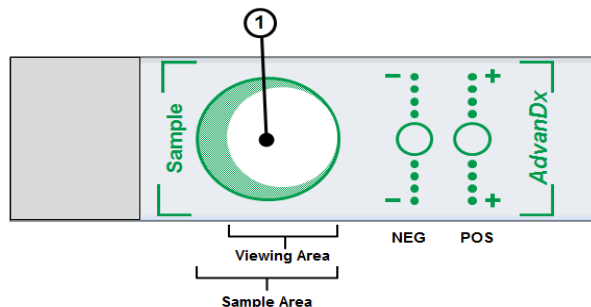
Il test *Enterococcus QuickFISH* BC deve essere eseguito solo su emocolture positive che sono state sottoposte a colorazione di Gram e contengono cocci Gram-positivi in coppie e catene.

Enterococcus QuickFISH BC non è compatibile con mezzi per emocoltura contenenti carbone o con flaconi per emocoltura tipo VersaTREK REDOX 2.

- Seguire le istruzioni del produttore del sistema per emocoltura per la corretta miscelazione dei flaconi per emocoltura prima della preparazione degli strisci.
- Posizionare un vetrino sulla piastra SlideStation a 55 ± 1 °C. In caso di campioni multipli, assicurarsi che i vetrini non entrino in contatto tra di loro per evitare contaminazioni.
- Non lasciare che la punta del flacone contagocce tocchi lo striscio poiché ciò potrebbe causare la cross-contaminazione del materiale tra i vetrini oppure la contaminazione del reagente.
- Aggiungere 1 o più gocce del campione di emocoltura in un contenitore secondario (ad esempio, una provetta per microcentrifuga).
 - Per campioni che contengono microsfele di resina (flaconi BD BACTEC Plus): aggiungere 10 o più gocce di campione ad una fiala dotata di filtro AdvanDx. Non superare la linea di riempimento. Inserire lo stantuffo del filtro nella fiala e premere fino in fondo per rimuovere le microsfele di resina.
 - Rimuovere il tappo della fiala con filtro AdvanDx per accedere al campione e preparare lo striscio.
- Assicurarsi che il campione di emocoltura sia ben miscelato. Usando la pipetta AdvanDx da 10 µl, trasferire 10 µl di campione (se nel frattempo si è visibilmente sedimentato, occorre prima mescolarlo) al centro dell'area del campione di un vetrino *QuickFISH*. Fare riferimento al numero ① nel diagramma N. 1 del vetrino *QuickFISH*.
- Applicare immediatamente una goccia di *QuickFix-1* sul campione e distribuire uniformemente su tutta l'area del campione con un ago per inoculazione in plastica. Evitare le bolle d'aria.
- Lasciar asciugare lo striscio (1-3 minuti). Lo striscio deve essere visibilmente asciutto.
- Aggiungere due gocce di *QuickFix-2* al centro dell'area del campione. Fare riferimento al numero ① nel diagramma N. 1 del vetrino *QuickFISH*.

- Lasciar asciugare lo striscio (circa 1 minuto). Lo striscio deve essere visibilmente asciutto.
- Gli strisci *QuickFISH* fissati possono essere lasciati sulla piastra per vetrini a 55 ± 1 °C fino a 5 minuti. Gli strisci preparati che non vengono utilizzati entro 5 minuti possono essere lasciati a temperatura ambiente per 1 ora o conservati a 2-8 °C per un massimo di 1 giorno prima di eseguire l'esame.

Vetrino *QuickFISH* (Diagramma N. 1)



Procedura del test

Materiale fornito

Enterococcus QuickFISH BC QFENTBC1-25

Ogni kit contiene materiale sufficiente per 25 test. I reagenti sono forniti pronti per l'uso. La data di scadenza del kit è indicata sull'etichetta della scatola esterna.

Materiale necessario e disponibile da AdvanDx.

Large Coverslips Coprioggetti grandi 50 x 24 mm N. 1 coprioggetti in vetro. AC027

Advandx Microscope Filter Filtro a doppia banda da utilizzare con lampade ad arco ai vapori di mercurio ad alta pressione o equivalenti AC007

Advandx Metal Halide Filter Filtro a doppia banda da utilizzare con lampade ad arco modificate ai vapori di mercurio (alogenuri metallici) AC033

Advandx SlideStation-10 Stufetta per vetrini (55 ± 1 °C) AC028

QuickFISH Coverslip Mixing Station AC030

Porta-vetrini per la miscelazione

Contiene fino a 3 coprioggetti per la miscelazione di *Enterococcus* PNA Yellow e Blue

Advandx 10 µL Pipette Pipetta da 10 µl a volume fisso AC029

QuickFISH Slide Vetrino di controllo *QuickFISH* *CS012

QuickFix-1 Soluzione di fissaggio primaria *CP0169

QuickFix-2 Soluzione di fissaggio secondaria *CP0170

Advandx Filter Vials Dispositivo di filtrazione del campione AC008

* Il vetrino *QuickFISH*, *QuickFix-1* e *QuickFix-2* sono disponibili nel kit di fissaggio *QuickFISH*.

Materiale necessario ma non fornito

- Microscopio a fluorescenza con obiettivo in olio da 60x o 100x e lampada ad arco ai vapori di mercurio ad alta pressione, lampada ad arco modificata ai vapori di mercurio (alogenuri metallici) o sorgente luminosa con emissione spettrale equivalente.
- Olio per immersione. Deve essere conforme all'obiettivo del microscopio e non fluorescente.
- Puntali per pipetta.
- Aghi per inoculazione in plastica.

Procedura del saggio:

- Si consiglia di esaminare gli strisci *QuickFISH* immediatamente dopo il fissaggio. Nel caso in cui gli strisci siano stati conservati a 2-8 °C o a

temperatura ambiente, scaldarli sulla stufetta per vetrini per circa 5 minuti a 55 ± 1 °C prima di aggiungere i reagenti per ibridazione.

- È importante che la piastra riscaldante AdvanDx SlideStation-10 sia disposta su un piano uniforme e che la temperatura sia stabile a 55 ± 1 °C prima dell'esecuzione del test.
- Utilizzare il display digitale e il termometro per superfici (in dotazione) per verificare che la temperatura della SlideStation-10 sia 55 ± 1 °C.

Ibridazione

- Posizionare un coprioggetto in uno degli slot della stazione di miscelazione QuickFISH. Fare riferimento al diagramma N. 2.
- Capovolgere ogni flacone e aspettare che si formi una goccia sulla punta del contagocce prima di spremere il flacone, per evitare la formazione di schiuma nella miscela di ibridazione.
- Aggiungere una goccia di *Enterococcus* PNA Blue al centro del coprioggetto. Nota: l'apertura ovoidale degli slot della stazione di miscelazione QuickFISH marca il centro del coprioggetto. Applicare una goccia di *Enterococcus* PNA Yellow direttamente al di sopra della prima goccia. Evitare le bolle d'aria. Fare riferimento al diagramma N. 2.
- Miscelare accuratamente PNA Blue e PNA Yellow con un ago per inoculazione di plastica fino ad ottenere un colore verde uniforme o fino a che non siano più identificabili i colori blu e giallo. Distribuire su tutta la lunghezza in modo da riempire il template ovoidale. Fare riferimento al diagramma N. 3.

Diagramma N. 2

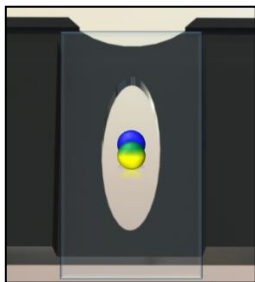


Diagramma N. 3



- Capovolgere il coprioggetto e applicarlo sul vetrino allineando i margini con gli indicatori del bordo contrassegnati sul vetrino. Il coprioggetto deve essere posizionato tra gli indicatori. Se il coprioggetto viene posizionato sull'area bianca satinata, il saggio potrebbe non riuscire a causa del flusso insufficiente dei reagenti.
- Incubare per 15-20 min a 55 ± 1 °C.
- Nota: evitare la cross-contaminazione dei flaconi. Richiudere i flaconi con i tappi dotati di contagocce corrispondenti.
- Esaminare i vetrini come indicato di seguito.

Non esporre i vetrini alla luce solare diretta o ad altre forti sorgenti di luce, in quanto ciò può provocare l'indebolimento della fluorescenza.

Controllo di qualità

Il controllo di qualità per valutare la fluorescenza deve essere eseguito ad ogni test.

Il materiale di controllo deve essere testato secondo le linee guida o i requisiti delle normative locali, regionali e/o nazionali o delle organizzazioni competenti accreditate.

Utilizzare i vetrini di controllo QuickFISH (CS012).

I vetrini di controllo QuickFISH sono forniti in confezioni sigillate singolarmente contenenti azoto e un essiccante. Conservare i vetrini a 2-8 °C. I vetrini devono essere utilizzati immediatamente dopo l'apertura della confezione. Non usare i vetrini dopo la data di scadenza.

I controlli positivi mostreranno simultaneamente cocci multipli in coppie e catene di colore verde e rosso fluorescente, i controlli negativi non presentano cellule fluorescenti verdi o rosse. I pozzetti di controllo sia positivi (POS,+) che negativi (NEG,-) contengono organismi caratteristici in comune a tutti i kit AdvanDx QuickFISH BC. Gli organismi di controllo degli altri kit potrebbero essere debolmente visibili (non fluorescenti) in entrambi i pozzetti positivi e negativi di controllo.

La morfologia delle cellule potrebbe variare naturalmente tra campioni e controlli.

Se i controlli positivi e negativi non sono conformi alla sezione "Interpretazione dei risultati" in basso, i risultati non si possono considerare validi e i risultati del paziente non sono refertabili.

Localizzare i controlli:

Allineare il centro dell'obiettivo del microscopio con i puntini del pozzetto POS (+) sul vetrino QuickFISH (vedere il diagramma N. 1). Spostare la piattaforma del vetrino in avanti e indietro fino a far comparire il contorno verde del pozzetto nel campo visivo. Utilizzare la manopola micrometrica per mettere a fuoco il contorno verde del pozzetto (questo è il piano focale corretto per leggere il vetrino). Spostare l'obiettivo nella regione centrale del controllo POS da visualizzare. Per vedere il controllo NEG, spostare l'obiettivo lateralmente al centro del pozzetto NEG. Continuare a spostarsi lateralmente per trovare l'area di visualizzazione del pozzetto campione.

Note procedurali

Compatibilità tra i principali sistemi di emocoltura e i tipi di flaconi:

La piattaforma QuickFISH è compatibile con i sistemi di emocoltura a monitoraggio continuo e con i tipi di flaconi disponibili in commercio tranne con i flaconi che contengono carbone e con il flacone VersaTREK Redox-2 anaerobic. Sono stati testati i seguenti tipi di flaconi:

BacT/Alert (SA, SN)

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

VersaTREK (REDOX 1 aerobic)

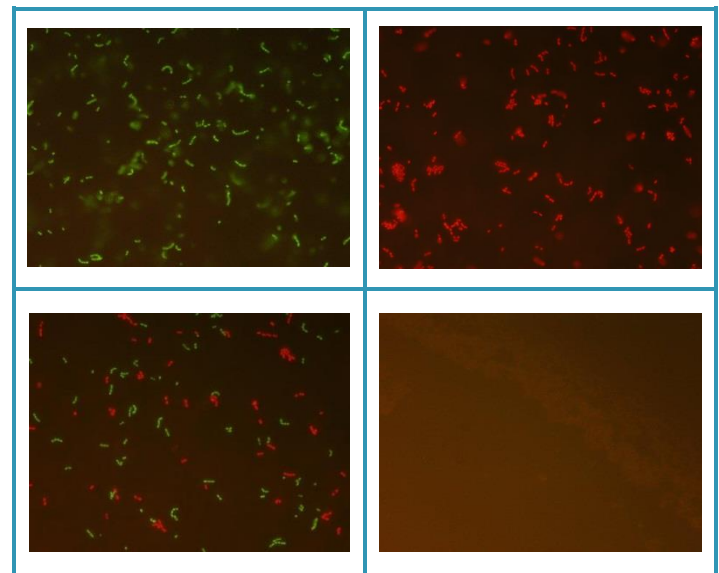
Controllo della temperatura:

È importante che la piastra riscaldante AdvanDx SlideStation-10 sia disposta su un piano uniforme e che la temperatura sia stabile a 55 ± 1 °C prima dell'esecuzione del test.

Interpretazione dei risultati

Leggere i vetrini entro 2 ore dall'ibridazione.

Esaminare i vetrini con il microscopio a fluorescenza con obiettivo da 60x o 100x. Esaminare il campione nell'area di visualizzazione all'interno dell'area del campione. Lo sfondo dello striscio può apparire di colore rossastro. *Enterococcus faecalis* viene identificato come cocci multipli di colore verde vivo fluorescente, in campi visivi multipli, mentre gli altri enterococchi selezionati vengono identificati come cocci multipli di colore rosso vivo fluorescente, in campi visivi multipli. Gli organismi non-enterococchi e le specie di enterococchi non identificate da questo saggio appaiono non fluorescenti. Gli organismi o i detriti galleggianti non devono essere interpretati o confusi con organismi positivi.



Esempi rappresentativi di aree positive a *E. faecalis* in verde (in alto a sinistra), *E. faecium* in rosso (in alto a destra), miscela di *E. faecalis* ed

E. faecium in verde (in basso a sinistra), e risultati negativi del test (in basso a destra).

Nota: negli studi analitici, sono stati rilevati deboli segnali verdi con *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Granulicatella elegans*, *Serratia marcescens* e 2 ceppi di *Streptococcus anginosus* (una limitazione nota del test) che non rientravano nei criteri necessari ai fini di un reale segnale positivo ovvero cellule fluorescenti di colore vivido in campi visivi multipli.

Risoluzione dei problemi

Possono verificarsi risultati falsi positivi e/o falsi negativi del campione e del controllo se non si usano i filtri per microscopio AdvanDx oppure in seguito a contaminazione dei campioni.

Possono verificarsi risultati falsi negativi del campione o del controllo se non vengono utilizzati i vetrini per microscopia AdvanDx QuickFISH (CS012) oppure se la temperatura non viene accuratamente controllata durante l'ibridazione.

Consultare le sezioni "Precauzioni" e "Limitazioni" del foglietto illustrativo o rivolgersi ad AdvanDx.

Non è necessario coprire la piastra riscaldante SlideStation affinché il kit funzioni correttamente.

Il saggio può essere sensibile a piccole variazioni di volume di *Enterococcus* PNA Blue e *Enterococcus* PNA Yellow. Se fuoriesce della schiuma dai flaconi, NON UTILIZZARLI e preparare un nuovo vetrino partendo da reagenti per ibridazione freschi.

Limitazioni

- Gli altri enterococchi "selezionati" a cui ci si riferisce nella "Dichiarazione d'uso previsto" sono *E. faecium* (che è stato rappresentato negli studi clinici) e 13 altre specie di *Enterococcus* che sono state testate in studi analitici e/o in numero limitato in studi clinici. Vedere le sezioni "Studi Clinici" e "Sensibilità e specificità analitica" sotto "Caratteristiche prestazionali".
- Alcune specie di *Enterococcus* non vengono rilevate da nessuna delle due sonde a PNA: *E. asini*, *E. cecorum*, *E. columbae*, *E. dispar*, *E. pallens*, *E. saccharolyticus*, e *E. sulfureus*.
- E. caccae*, *E. haemoperoxidus*, *E. moraviensis* e alcuni ceppi di *Streptococcus anginosus* vengono identificati come *E. faecalis* a causa di somiglianze di sequenza.
- Enterococcus QuickFISH BC* non è compatibile con mezzi per emocoltura contenenti carbone o con flaconi per emocoltura tipo VersaTREK REDOX 2.
- Negli studi clinici sono stati usati i flaconi per emocoltura BACTEC Plus aerobic, BACTEC Plus Anaerobic, BACTEC Lytic/10 Anaerobic, BACTEC Peds Plus e Bact/ALERT SA e SN. Il rendimento del test *Enterococcus QuickFISH BC* non è stato verificato con altri tipi di flaconi per emocoltura.
- I flaconi BACTEC Plus Anaerobic e BACTEC Peds Plus non sono stati valutati dettagliatamente durante le indagini cliniche, quindi non è stato possibile determinare adeguatamente il rendimento.
- Il rendimento dei flaconi per emocoltura VersaTREK REDOX 1, BACTEC (Anaerobic Plus, Standard 10 Aerobic, Standard Anaerobic/F) è stato valutato solamente in uno studio di compatibilità interno. Di conseguenza, il rendimento clinico non è noto.
- L'autofluorescenza falsa positiva di colore verde può verificarsi in caso di uso di un filtro FITC standard al posto di un filtro per microscopio AdvanDx.
- Raramente, possono verificarsi falsi negativi nel caso di colture miste o a causa di errori nella tecnica del saggio.
- La condizione e la tipologia degli strumenti usati potranno influenzare l'aspetto finale delle immagini. La fluorescenza può variare in base al tipo di microscopio utilizzato, alla fonte di luce e al livello di rRNA nelle cellule. Ciascun laboratorio deve stabilire i propri criteri di lettura dei risultati utilizzando dei controlli adeguati.

- L'isolamento su un mezzo solido è necessario per differenziare la crescita mista con altri organismi e per identificare le emocolture positive che producono un risultato negativo.

Il prodotto non è stato validato con campioni diversi dalle emocolture.

Risultati previsti

Il tasso di risultati positivi ottenuti negli studi clinici per *E. faecalis* e per gli altri enterococchi selezionati dai flaconi di emocoltura positiva a cocchi Gram-positivi in coppia e catene variava dal 21% al 38% e dal 9% al 21%, rispettivamente. Specie non-enterococco sono state identificate nel 49% - 59% dei campioni. La popolazione di studio dei flaconi di coltura ematica positivi ai cocchi Gram-positivi in coppia e catene è stata ottenuta da 5 istituti sanitari negli Stati Uniti ed era costituita da 244 emocolture ottenute da 244 pazienti. I tassi sono presentati sotto forma di percentuale del numero di ogni specie oggetto di studio identificata in ciascuna emocoltura mediante metodi ordinari, come percentuale del numero totale di tutte le specie identificate negli studi (fare riferimento alla sezione "Caratteristiche prestazionali"). I tassi reali per utente possono variare in base all'istituto e alla popolazione di pazienti (2).

Caratteristiche prestazionali

Il rendimento del test *Enterococcus QuickFISH BC* rispetto ai metodi ordinari di laboratorio è stato valutato in cinque studi clinici di laboratorio.

Questi studi sono stati condotti su un totale di 244 flaconi di emocoltura positivi ai GPCPC ordinari ottenuti da 244 pazienti. Gli studi hanno dimostrato una percentuale di concordanza positiva del 100% (70/70) per *E. faecalis* e del 97,5% (39/40) per gli altri enterococchi selezionati. La percentuale di concordanza negativa ottenuta dai flaconi di emocoltura positivi contenenti GPCPC era del 100% (135/135).

Studi clinici

| | | Identificazione di routine | | |
|----------------------------------|--------------------------------|--|--|---|
| | | <i>E. faecalis</i> | <i>E. faecium</i> e altri enterococchi ¹ | Altro |
| <i>Enterococcus QuickFISH BC</i> | <i>E. faecalis</i> | 70 | 0 | 0 |
| | Altri enterococchi selezionati | 0 | 39 | 0 |
| | Negativo | 0 | 1 ² | 135 |
| Totale | | Percentuale di concordanza positiva 100% (70/70) ³ IC al 95% (94,8-100) | Percentuale di concordanza positiva 97,5% (39/40) ³ IC al 95% (87,1-99,6) | Percentuale di concordanza negativa 100% (135/135) IC al 95% (97,2-100) |

¹Negli studi clinici sono stati inoltre identificati 36 *E. faecium*, 3 *E. gallinarum* e 1 *E. raffinosus*.

²Un campione falso negativo (testato dopo 1 ora e 15 minuti dal momento della colorazione di Gram) era costituito da una coltura mista composta da *E. faecium*, MRSA e *K. pneumoniae*. Al riesame eseguito dopo una settimana è risultato di colore rosso debole (positivo).

³Include 1 coltura mista composta da *E. faecalis*, *E. gallinarum* e *S. marcescens*.

Negli studi clinici, i flaconi sono stati conservati a temperatura ambiente dopo la colorazione di Gram e prima di eseguire il test *QuickFISH*. Il tempo intercorso tra la colorazione di Gram e la preparazione del vetrino *Enterococcus QuickFISH BC* variava da meno di due ore a più di 48 ore. Nello studio è stata riscontrata solo una discrepanza del test (1/244). Questo campione derivava da una coltura mista ed è stato testato entro due ore dalla colorazione di Gram.

Limite di rilevamento

Il limite di rilevamento per *E. faecalis* e altri enterococchi selezionati è risultato corrispondere approssimativamente a 10⁵ unità formanti colonie per ml tramite le diluizioni seriali di colture positive. Ciò è coerente con la sensibilità analitica delle tecniche di colorazione basate su vetrini.

Specificità e sensibilità analitica

Enterococcus QuickFISH BC è stato testato su 6 ceppi di laboratorio clinico e di riferimento comprendenti 16 ceppi di *Enterococcus faecalis* e 32 ceppi di altri *Enterococcus*. Tutti i 16 ceppi di *Enterococcus faecalis* testati sono risultati positivi (in verde) e 22 su 32 ceppi di altri enterococchi sono risultati positivi (in rosso). Sette specie di *Enterococcus* erano falsi negativi. Tre specie di *Enterococcus* sono risultate falsi positivi (in verde). Vedere la tabella in basso:

Enterococcus QuickFISH BC è stato anche testato su 76 ceppi di altri batteri e 6 ceppi di lieviti. Tutti questi 82 organismi sono stati, come previsto, negativi al test con l'eccezione di *Granulicatella adiacens* che è apparsa di colore arancione fluorescente. Deboli segnali verdi sono stati riscontrati per *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Granulicatella elegans*, *Serratia marcescens* e 2 ceppi di *Streptococcus anginosus*, ma non rientravano nei criteri necessari per ottenere un vero segnale positivo ovvero cellule fluorescenti di colore vivo in campi visivi multipli.

I seguenti 22 ceppi di *Enterococcus* che rappresentano 14 specie sono stati testati negli studi analitici e hanno prodotto risultati positivi (in rosso).

| Specie | ID del ceppo | Risultato |
|------------------------------------|--------------|-----------|
| <i>Enterococcus avium</i> | ATCC 49463 | Rosso |
| <i>Enterococcus casseliflavus</i> | ATCC 25788 | Rosso |
| <i>Enterococcus durans</i> | ATCC 6056 | Rosso |
| <i>Enterococcus faecium</i> | ATCC 27270 | Rosso |
| <i>Enterococcus faecium</i> | ATCC 35667 | Rosso |
| <i>Enterococcus faecium</i> | ATCC 51559 | Rosso |
| <i>Enterococcus faecium</i> | ATCC 19434 | Rosso |
| <i>Enterococcus faecium</i> | ATCC 49224 | Rosso |
| <i>Enterococcus faecium</i> | BAA 472 | Rosso |
| <i>Enterococcus faecium</i> | ATCC 51858 | Rosso |
| <i>Enterococcus faecium</i> | ATCC 6569 | Rosso |
| <i>Enterococcus faecium</i> | ATCC 49996 | Rosso |
| <i>Enterococcus faecium</i> | ATCC 49573 | Rosso |
| <i>Enterococcus gilvus</i> | ATCC BAA-350 | Rosso |
| <i>Enterococcus hirae</i> | ATCC 8043 | Rosso |
| <i>Enterococcus hirae</i> | ATCC 49135 | Rosso |
| <i>Enterococcus malodoratus</i> | ATCC 43197 | Rosso |
| <i>Enterococcus mundtii</i> | ATCC 43187 | Rosso |
| <i>Enterococcus phoeniculicola</i> | ATCC BAA-412 | Rosso |
| <i>Enterococcus raffinosus</i> | ATCC 49464 | Rosso |
| <i>Enterococcus ratti</i> | ATCC 700914 | Rosso |
| <i>Enterococcus villorum</i> | ATCC 700913 | Rosso |

Le seguenti 3 specie di *Enterococcus* sono state testate negli studi analitici, hanno prodotto risultati falsi (in verde) e sono state indicate nella sezione "Limitazioni".

| Specie | ID del ceppo | Risultato |
|------------------------------------|---------------|-----------|
| <i>Enterococcus caccae</i> | ATCC BAA-1240 | Verde |
| <i>Enterococcus haemoperoxidus</i> | ATCC BAA-382 | Verde |
| <i>Enterococcus moraviensis</i> | ATCC BAA-383 | Verde |

Le seguenti 7 specie di *Enterococcus* sono state testate negli studi analitici, hanno prodotto risultati negativi e sono state indicate nella sezione "Limitazioni".

| Specie | ID del ceppo | Risultato |
|-------------------------------------|--------------|-----------|
| <i>Enterococcus asini</i> | ATCC 700915 | Negativo |
| <i>Enterococcus cecorum</i> | ATCC BAA-597 | Negativo |
| <i>Enterococcus columbae</i> | ATCC 51263 | Negativo |
| <i>Enterococcus dispar</i> | ATCC 51266* | Negativo |
| <i>Enterococcus pallens</i> | ATCC BAA-351 | Negativo |
| <i>Enterococcus saccharolyticus</i> | ATCC 43076 | Negativo |
| <i>Enterococcus sulfureus</i> | ATCC 49903 | Negativo |

*Ceppo non più disponibile da ATCC

Riproducibilità

È stato condotto uno studio di riproducibilità sul test *Enterococcus QuickFISH BC*. Di seguito riportiamo i risultati divisi per centro nell'arco di 3 giorni e per giorno nei 3 centri.

Riepilogo dei risultati di riproducibilità per centro nell'arco di 3 giorni

| | Centro 1 | Centro 2 | Centro 3 | Totale |
|-----------------------------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|
| Concordanza positiva verde | 45/45 | 45/45 | 45/45 | 100% (135/135) |
| Concordanza positiva rosso | 45/45 | 39/45 | 45/45 | 95,6% (129/135) |
| Concordanza negativa | 36/36 | 36/36 | 36/36 | 100% (108/108) |
| Concordanza totale | 100% (126/126) | 95,2% (120/126) | 100% (126/126) | 98,4% (372/378) |

Riepilogo dei risultati di riproducibilità divisi per giorno in 3 centri

| | Giorno 1 | Giorno 2 | Giorno 3 | Totale |
|-----------------------------------|----------|----------|----------|--------|
| Concordanza positiva verde | 45/45 | 45/45 | 45/45 | 100% |

| | | | | (135/135) |
|-----------------------------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|
| Concordanza positiva rosso | 42/45 | 42/45 | 45/45 | 95,6% (129/135) |
| Concordanza negativa | 36/36 | 36/36 | 36/36 | 100% (108/108) |
| Concordanza totale | 97,6% (123/126) | 97,6% (123/126) | 100% (126/126) | 98,4% (372/378) |

Bibliografia

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, Sahn 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 Antibiob.* 3(7).

Definizioni

|  | Codice prodotto/Numero di catalogo |  | Codice lotto |
|--|------------------------------------|---|---|
|  | Consultare le istruzioni per l'uso |  | Limiti della temperatura di conservazione |
|  | Contenuto sufficiente per <n> test |  | Pericolo per la salute |
|  | Produttore |  | Teschio e ossa incrociate |
|  | Rappresentante autorizzato |  | Fiamma |
|  | Usare entro | | |

Consulenza tecnica e assistenza clienti

Per qualsiasi richiesta contattare OpGen o il proprio distributore locale.



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

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

techsupport@opgen.com

Prodotto su licenza di Boston Probes, Inc.

Il prodotto non deve essere utilizzato per citochimica umana basata su vetrini, citogenetica oncologica basata su ISH e citometria a flusso.

30 April 2020

PN1879H-IT
DCR 20-0033

L'acquisto di questo kit ne consente l'utilizzo su licenza ai sensi dei seguenti numeri di brevetto: 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



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

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

www.OpGen.com