

## Gram-Negative QuickFISH® BC

Testkit zum Kulturnachweis von *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* und *Pseudomonas aeruginosa*



25



QFGNRBC1-25

### Verwendungszweck

Der Gram-Negative QuickFISH BC Test ist ein mehrfarbiger, qualitativer Nukleinsäurehybridisierungstest zum Nachweis von *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Klebsiella pneumoniae* auf Ausstrichen aus positiven Blutkulturen mit gramnegativen Bacilli, die mittels Gramfärbung beobachtet wurden.

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

Der Gram-Negative QuickFISH BC Test ist als Hilfsmittel in der Diagnostik von *E.-coli*-, *K.-pneumoniae*- und *P.-aeruginosa*-Bakteriämien vorgesehen.



In-vitro-Diagnostikum.

### Zusammenfassung und Erklärung

*E. coli*, *P. aeruginosa* und *K. pneumoniae* sind als Ursache sowohl von ambulant erworbenen als auch von nosokomialen Bakteriämien bekannt.

Die Identifikation von *E. coli*, *P. aeruginosa* und *K. pneumoniae* in Blutkulturen erfolgt routinemäßig anhand einer mutmaßlichen Identifikation von gramnegativen Bacilli (GNB) und einer anschließenden endgültigen Identifikation nach Subkultur und biochemischer Analyse (1).

Der Gram-Negative QuickFISH BC Test ist ein mehrfarbiger Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungstest (FISH) mit PNA-Sonden, die an spezifische ribosomale RNA-Sequenzen von *E. coli*, *P. aeruginosa* und *K. pneumoniae* (einschließlich der drei Subspezies *pneumoniae*, *ozaenae* und *rhinoscleromatis*) hybridisieren.

Der Test ermöglicht eine schnelle Identifikation von *E. coli*, *P. aeruginosa* und *K. pneumoniae* auf Ausstrichen aus positiven Blutkulturen.

### Verfahrensprinzip

Ein Gemisch aus einer Fluorescein-markierten *E.-coli*-spezifischen PNA-Sonde, einer Tetramethylrhodamin-markierten *P.-aeruginosa*-spezifischen PNA-Sonde und einer Fluorescein- und Tetramethylrhodamin-markierten *K.-pneumoniae*-spezifischen PNA-Sonde wird zu einem Ausstrich aus einer positiven Blutkultur gegeben. Die Hybridisierung erfolgt bei 55 ± 1 °C für 15 Min. Der Ausstrich wird mittels Fluoreszenzmikroskopie untersucht.

### Reagenzien

Das Gram-Negative QuickFISH BC Testkit enthält die folgenden Komponenten:

**Gram-Negative PNA Blue**  
0,85 ml PNA-Sonden in Hybridisierungslösung. Enthält 15 % Formamid.

**Gram-Negative PNA Blue**

**Gram-Negative PNA Yellow**  
0,85 ml PNA-Sonden in Hybridisierungslösung. Enthält 15 % Formamid.

**Gram-Negative PNA Yellow**

### Vorsichtsmaßnahmen



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

Gram-Negative PNA Blue		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.
Gram-Negative PNA Yellow	Gefahr Enthält 15 % Formamid.	
QuickFix-1	Enthält 24 % Ethanol.	Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Das Sicherheitsdatenblatt (SDB) ist auf Anfrage erhältlich. Im QuickFISH Fixation Kit enthalten.
QuickFix-2	 Gefahr Enthält 97 % Methanol.	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 QuickFISH Fixation Kit enthalten.

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 erhältlichiger 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.

Lichtquellen mit Ausnahme von Hochdruck-Quecksilberdampflampen und modifizierten Quecksilberdampflampen (Metallhalid) besitzen im Allgemeinen keine gleichwertige spektrale Leistung und werden nicht empfohlen. Bevor Ergebnisse mit irgendeiner Lichtquelle als Befund gemeldet werden, ist sicherzustellen, dass die Positivkontrolle deutlich drei verschiedene Fluoreszenzfarben zeigt: grün, rot und gelb.

## 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.

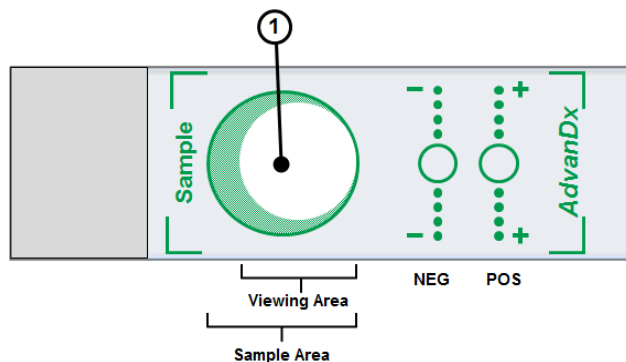
Die *QuickFISH* Objektträger werden in einzeln versiegelten Beuteln mit Stickstoff und einem Trockenmittel bereitgestellt. Die Objektträger bei 2–8 °C lagern. Die Objektträger müssen umgehend nach dem Öffnen des Beutelschlusses verwendet werden. Objektträger nicht nach dem Verfalldatum verwenden.

## Probenahme und Vorbereitung

### Vorbereitung von Gram-Negative *QuickFISH* Ausstrichen

Der Gram-Negative *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 Ausstriches sicherzustellen.
- Den Objektträger bei  $55 \pm 1$  °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 Flaschen mit Harzperlen: 10 oder mehr Tropfen der Probe in ein AdvanDx Filterröhrchen 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- $\mu$ l-Pipette 10  $\mu$ l Probe in die Mitte des Probenbereichs des *QuickFISH* Objektträgers überführen. Siehe Ziffer ① in der grafischen Darstellung des *QuickFISH* Objektträgers.
- 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.
- Den Ausstrich trocknen lassen (ca. 1 Minute). Der Ausstrich muss sichtbar trocken sein.
- Fixierte *QuickFISH* Ausstriche dürfen maximal 5 Minuten auf dem  $55 \pm 1$  °C warmen Objektträgerwärmer belassen werden. 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.



## Testverfahren

### Packungsinhalt

Gram-Negative *QuickFISH* BC QFGNRBC1-25

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 erhältlich Materialbedarf

<b>Large Coverslips</b> (Große Deckgläser) 50 x 24 mm No. 1	AC027
<b>AdvanDx Microscope Filter</b> Dualbandfilter für Hochdruck-Quecksilberdampflampen o. Ä.	AC007
<b>AdvanDx Metal Halide Filter</b> Dualbandfilter für modifizierte Quecksilberdampflampen (Metallhalid)	AC033
<b>AdvanDx SlideStation-10</b> Objektträgerwärmer ( $55 \pm 1$ °C)	AC028
<b>QuickFISH Coverslip Mixing Station</b>	AC030
Kann bis zu 3 Deckgläser zum Mischen von Gram-Negative PNA Yellow und Blue aufnehmen.	
<b>AdvanDx 10 <math>\mu</math>l Pipette</b> 10 $\mu$ l Fixvolumen-Pipette	AC029
<b>QuickFISH Slide</b> <i>QuickFISH</i> Objektträger mit Kontrollen*	CS012
<b>QuickFix-1</b> Primäre Fixierlösung*	CP0169
<b>QuickFix-2</b> Sekundäre Fixierlösung*	CP0170
<b>AdvanDx Filter Vials</b> 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  $55 \pm 1$  °C auf den Objektträgerwärmer gelegt werden.

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

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

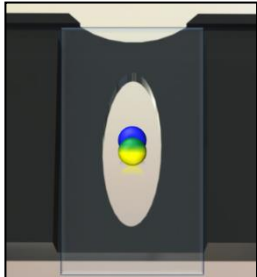
### Hybridisierung

- Ein Deckglas in eine der Mulden der *QuickFISH* Coverslip Mixing Station einlegen. Siehe Abbildung 1.
- 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.

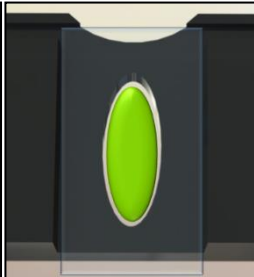
### Grafische Darstellung *QuickFISH* Objektträger

- 1 Tropfen Gram-Negative 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 Gram-Negative PNA Yellow direkt auf den ersten Tropfen geben. Luftblasen vermeiden. Siehe Abbildung 1.
- 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 2.

**Abbildung 1**



**Abbildung 2**



- 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  $55 \pm 1$  °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 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, rot und gelb fluoreszierende Bacilli an. Die Negativkontrolle enthält keine 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 grafische Darstellung des QuickFISH Objektträgers). 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:

Klinisch:

BacT/ALERT (SA, SN), BACTEC (Lytic/10 Anaerobic/F, Plus Aerobic/F, Standard/10 Aerobic/F)

Analytisch:

VersaTREK REDOX 1 Aerobic, BACTEC (Plus Anaerobic/F, Standard/10 Aerobic/F, Standard/10 Anaerobic/F, Peds Plus/F). Die klinische Leistung dieser Blutkulturflaschentypen mit dem Gram-Negative QuickFISH BC Test wurde nicht untersucht.

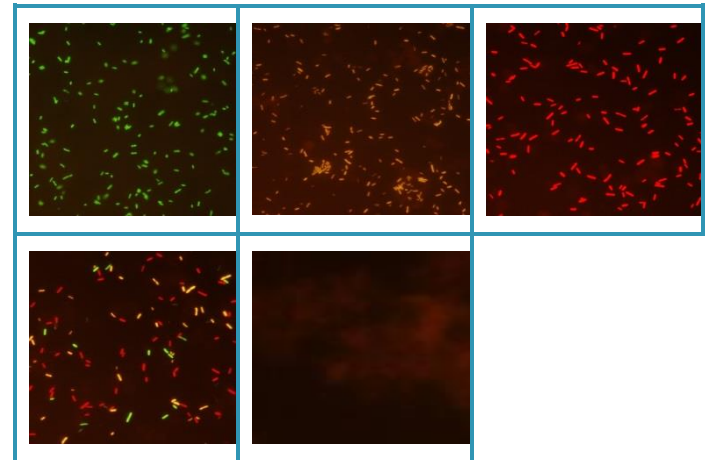
##### Temperaturregulierung:

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

#### Auswertung der Ergebnisse

Die Objektträger innerhalb von 2 Stunden nach der Hybridisierung auslesen.

Die Objektträger mit einem Fluoreszenzmikroskop mit 60x (Öl) oder 100x (Öl) Objektiv und entweder AdvanDx Microscope Filter oder AdvanDx Metal Halide Filter auswerten. Der Hintergrund des Ausstrichs erscheint rötlich. *E. coli* wird anhand von mehreren hellgrün, *P. aeruginosa* anhand von mehreren hellrot und *K. pneumoniae* anhand von mehreren hellgelb fluoreszierenden Bacilli in mehreren Sehfeldern identifiziert. Gramnegative Bacilli, bei denen es sich nicht um *E. coli*, *K. pneumoniae* oder *P. aeruginosa* handelt, erscheinen ohne Fluoreszenz. Schwebende Organismen oder Fragmente dürfen nicht ausgewertet bzw. mit positiven Organismen verwechselt werden.



Typische Ergebnisbeispiele für grün-positive *E. coli* (oben links), gelb-positive *K. pneumoniae* (oben Mitte), rot-positive *P. aeruginosa* (oben rechts), Mischung von grün-positiven *E. coli*, gelb-positiven *K. pneumoniae* und rot-positiven *P. aeruginosa* (unten links) sowie negativem Test mit rötlichem Hintergrund (unten Mitte).

#### 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 Gram-Negative PNA Blue und Gram-Negative PNA Yellow reagieren. Das Deckglas NICHT verwenden, wenn Schaum aus den Flaschen austritt. Mit frischen Hybridisierungsreagenzien ein neues Deckglas vorbereiten.

## Einschränkungen

- Der Gram-Negative QuickFISH BC Test ist nicht mit aktivkohlehaltigen Blutkulturmedien und VersaTREK REDOX 2 Blutkulturflaschen kompatibel.
- *Shigella* spp. (Serogruppen A, B, C und D), *Escherichia albertii* und *Escherichia fergusonii* verursachen aufgrund der Ähnlichkeit der rRNA-Sequenzen eine falsch-positive grüne Fluoreszenz.
- *Brevundimonas diminuta*, *Herbaspirillum huttiense*, *Pseudomonas fulva*, *Acinetobacter radioresistens* und einige Stämme von *Pseudomonas putida* verursachen eine falsch-positive rote Fluoreszenz.
- *Escherichia vulneris* und *Klebsiella variicola* verursachen eine falsch-positive gelbe Fluoreszenz
- Es wurden klinische Studien unter Verwendung der BACTEC Plus Aerobic/F, BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F und BacT/ALERT SA und SN Blutkulturflaschen durchgeführt. Die Testleistung des Gram-Negative QuickFISH BC Tests mit anderen Blutkulturflaschentypen wurde nicht untersucht.
- Die BACTEC Plus Anaerobic/F und BACTEC Peds Plus/F 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 (Standard/10 Aerobic/F, Standard/10 Anaerobic/F) Blutkulturflaschen wurde ausschließlich in einer internen Kompatibilitätsstudie untersucht. Daher ist die Leistung unbekannt.
- Wenn anstelle des AdvanDx Microscope Filters ein FITC-Standardfilter verwendet wird, kann eine falsch-positive 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.
- Bei Verwendung anderer Lichtquellen als Hochdruck-Quecksilberdampflampen und modifizierten Quecksilberdampflampen (Metallhalid) kann es zu falsch-negativen *K. pneumoniae*-Ergebnissen oder einer falsch-positiven grünen Fluoreszenz kommen, aufgrund derer *K. pneumoniae* fälschlicherweise als *E. coli* identifiziert wird.
- Zur Differenzierung von Mischwachstum mit anderen Organismen und zur Identifikation positiver Blutkulturen, die ein negatives Ergebnis beim FISH-Test liefern, ist eine Isolierung auf festem Medium erforderlich.
- Das Produkt wurde ausschließlich mit Proben aus Blutkulturen validiert.

## Erwartete Ergebnisse

Die Studienpopulation der Blutkulturflaschen, die auf gramnegative Bacilli positiv waren, stammte von 5 Gesundheitszentren in den USA und umfasste 306 Blutkulturen von 263 Patienten sowie 43 dotierte Proben. Die Raten der Positivergebnisse für *E. coli*, *P. aeruginosa* und *K. pneumoniae* lagen bei 23–38 %, 0–12 % bzw. 19–33 %. Andere gramnegative Organismen wurden in 25–48 % der Proben identifiziert.

Die dargestellten Raten sind ein Prozentsatz an eindeutigen Patientenblutkulturen (mehrere Proben eines Patienten und dotierte Proben wurden nicht einbezogen), die anhand von Routineverfahren identifiziert wurden, als Prozent der Gesamtzahl aller in den Studien identifizierten Spezies.

Die mit dem Gram-Negative QuickFISH BC Test erzielten Raten an positiven und negativen Spezies-Ergebnissen kann je nach Einrichtung und Patientenpopulation variieren (2).

## Leistungsdaten

Die Studienpopulation der Blutkulturflaschen, die auf gramnegative Bacilli positiv waren, stammte von 5 Gesundheitszentren in den USA und umfasste 306 Blutkulturen von 263 Patienten sowie 43 dotierte Proben. Die Sensitivität des Gram-Negative QuickFISH BC Tests im Vergleich zu Routinelabormethoden beträgt für *E. coli* 96,8 % (91/94), für *P. aeruginosa* 98,1 % (52/53) und für *K. pneumoniae* 100 % (60/60); die Spezifität für positive Blutkulturflaschen, die gramnegative Bacilli enthalten, beträgt 99,0 % (99/100).

### Klinische Leistungsdaten des Gram-Negative QuickFISH BC Tests im Vergleich zu Routine-Identifikationsmethoden bei GNB-positiven Blutkulturflaschen

		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	Andere
Gram-Negative QuickFISH	<i>E. coli</i>	91 <sup>1,3</sup>	0	0	0
	<i>P. aeruginosa</i>	0	52 <sup>2</sup>	0	1
	<i>K. pneumoniae</i>	1	0	60 <sup>3</sup>	0
	Negativ	2	1	0	99
N = 307 <sup>3</sup>	Positive Übereinstimmung in %	96,8 % (91/94)	98,1 % (52/53)	100 % (60/60)	99,0 % (99/100)
	Positive Übereinstimmung in %	95 % KI (91,0–98,9)	95 % KI (90,1–99,7)	95 % KI (94,0–100)	95 % KI (94,6–99,8)
	Negative Übereinstimmung in %	3,2 % (2/62)	1,9 % (1/52)	0 % (0/60)	1,0 % (1/99)
	Negative Übereinstimmung in %	3,2 % (2/62)	1,9 % (1/52)	0 % (0/60)	1,0 % (1/99)
	Negative Übereinstimmung in %	3,2 % (2/62)	1,9 % (1/52)	0 % (0/60)	1,0 % (1/99)

<sup>1</sup> Umfasst 9 Blutkulturen, die mit klinischen *E. coli*-Stämmen dotiert wurden.

<sup>2</sup> Umfasst 34 Blutkulturen, die mit klinischen *P. aeruginosa*-Stämmen dotiert wurden.

<sup>3</sup> Umfasst 1 Mischkultur von *E. coli* und *K. pneumoniae*.

Die Flaschen wurden nach der Gramfärbung und vor dem QuickFISH BC Test bei Raumtemperatur gelagert. In 17 % der Fälle wurde der Test innerhalb von 2 Stunden, in 32 % der Fälle innerhalb von 4 Stunden und in 54 % der Fälle innerhalb von 8 Stunden durchgeführt. 45 % der Tests wurden 8 bis 48 Stunden und 1 % mehr als 48 Stunden nach der Gramfärbung durchgeführt.

### Nachweisgrenze

Die analytische Sensitivität des Gram-Negative QuickFISH BC Tests, gemessen als Nachweisgrenze des Tests für *E. coli*, *P. aeruginosa* und *K. pneumoniae*, wurde mittels Verdünnungsreihen ein Wert von circa  $2,3 \times 10^5$ ,  $4,0 \times 10^5$  bzw.  $4,5 \times 10^5$  KBE/ml ermittelt. Dies entspricht der analytischen Sensitivität anderer objektträgerbasierter Anfärbeverfahren.

### Analytische Spezifität und Sensitivität (Inklusivität)

Der Gram-Negative QuickFISH BC Test wurde an 152 Stämmen aus Referenz- und klinischen Laboren, darunter 16 *E. coli*-Stämme, 21 *P. aeruginosa*-Stämme und 12 *K. pneumoniae*-Stämme, untersucht. Alle 16 *E. coli*-Stämme wurden grün-positiv, alle 21 *P. aeruginosa*-Stämme rot-positiv und alle 12 *K. pneumoniae*-Stämme gelb-positiv getestet. Neben diesen drei Zielspezies umfassten die Untersuchungen 86 Stämme anderer gramnegativer Bacilli. Von diesen Stämmen lieferten 78 das erwartete negative Ergebnis. Die folgenden 5 Stämme verursachten eine falsch-positive grüne Fluoreszenz: *Escherichia albertii*, *Escherichia fergusonii* und *Shigella* Serogruppe A, B, C und D. Die folgenden 3 Stämme verursachten eine falsch-positive rote Fluoreszenz: *Pseudomonas fulva* (2 Stämme) und *Acinetobacter radioresistens*. Des Weiteren umfasste die Untersuchung 17 Stämme anderer Bakterien (11 und Hefen 6), von denen alle negativ getestet wurden.

### Reproduzierbarkeit

Es wurde eine Reproduzierbarkeitsstudie mit dem Gram-Negative QuickFISH BC Test über 3 Tage in 3 Zentren mit 2 Bedienern je Zentrum durchgeführt. Die Ergebnisse nach Zentrum sind nachstehend aufgeführt.

### Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsstudie über 3 Tage nach Zentrum

Zentrum 1	Zentrum 2	Zentrum 3	Gesamt
-----------	-----------	-----------	--------

<b>Positive Übereinstimmung – Grün</b>	42/45	45/45	45/45	<b>97,8 %</b> (132/135)
<b>Positive Übereinstimmung – Rot</b>	42/45	45/45	45/45	<b>97,8 %</b> (132/135)
<b>Positive Übereinstimmung – Gelb</b>	45/45	45/45	45/45	<b>100 %</b> (135/135)
<b>Negative Übereinstimmung</b>	42/45	45/45	45/45	<b>97,8 %</b> (132/135)
<b>Gesamtübereinstimmung</b>	<b>95,0 %</b> (171/180)	<b>100 %</b> (180/180)	<b>100 %</b> (180/180)	<b>98,3 %</b> (531/540)






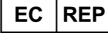

#### Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsstudie an 3 Zentren ach Tag

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Gesamt
<b>Positive Übereinstimmung – Grün</b>	42/45	45/45	45/45	<b>97,8 %</b> (132/135)
<b>Positive Übereinstimmung – Rot</b>	45/45	42/45	45/45	<b>97,8 %</b> (132/135)
<b>Positive Übereinstimmung – Gelb</b>	45/45	45/45	45/45	<b>100 %</b> (135/135)
<b>Negative Übereinstimmung</b>	45/45	42/45	45/45	<b>97,8 %</b> (132/135)
<b>Gesamtübereinstimmung</b>	<b>98,3 %</b> (177/180)	<b>96,7 %</b> (174/180)	<b>100 %</b> (180/180)	<b>98,3 %</b> (531/540)

#### 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, 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 Antibiol. 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

[techsupport@opgen.com](mailto:techsupport@opgen.com)



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

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

[www.OpGen.com](http://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 April 2020

PN2014J-DE  
DCR 20-0034

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