

Gram-Negative QuickFISH® BC

Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae*
e *Pseudomonas aeruginosa*
Kit per identificazione da coltura



25



QFGNRBC1-25

Uso previsto

Gram-Negative QuickFISH BC è un saggio multicolore qualitativo basato sull'ibridazione degli acidi nucleici per l'identificazione di *Escherichia coli* e/o *Pseudomonas aeruginosa* e/o *Klebsiella pneumoniae* su strisci da emocolture positive contenenti bacilli Gram-negativi 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 Gram-Negative QuickFISH BC è indicato per la diagnosi di batteriemia da *E. coli* e/o *K. pneumoniae* e/o *P. aeruginosa*.

IVD Per uso diagnostico *in vitro*.

Riepilogo e spiegazione

E. coli, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae* sono causa di batteriemie sia comunitarie che acquisite in ospedale.

L'identificazione di *E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae* nelle emocolture si basa solitamente sull'individuazione presuntiva di bacilli gram-negativi (GNB), seguita dall'identificazione definitiva dopo sottocoltura e analisi biochimica (1).

Gram-Negative QuickFISH è un metodo multicolore di ibridazione a fluorescenza *in situ* (FISH) che impiega sonde a PNA che si ibridano a sequenze specifiche di RNA ribosomiale di *E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae* comprese le tre sottospecie: *pneumoniae*, *ozeanae* e *rhinoscleromatis*.

Il test consente di identificare rapidamente *E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae* su strisci per microscopia preparati da emocolture positive.

Principio della procedura

Una miscela di sonde a PNA specifiche per *E. coli* marcate con fluoresceina, di sonde a PNA specifiche per *P. aeruginosa* marcate con tetrametilrodamina e di sonde a PNA specifiche per *K. pneumoniae* marcate con tetrametilrodamina e fluoresceina viene aggiunta su uno striscio per microscopia 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 Gram-Negative QuickFISH BC comprende i seguenti componenti:

Gram-Negative PNA Blue

Sonde a PNA per gram-negativi blu
0,85 ml di sonde a PNA in soluzione di ibridazione. Contiene formammide al 15%.

Gram-Negative PNA Yellow

Sonde a PNA per gram-negativi gialle
0,85 ml di sonde a PNA in soluzione di ibridazione. Contiene formammide al 15%.

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

Gram-Negative PNA Blue	Pericolo Contiene formammide al 15%.	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.
Gram-Negative PNA Yellow	Pericolo 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-1	Pericolo Contiene metanolo al 97%.	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.

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 una punta per pipetta e un ago per inoculazione nuovi per 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.

Sorgenti di luce diverse dalle lampade ad arco ai vapori di mercurio ad alta pressione o dalle lampade ad arco modificate ai vapori di mercurio (alogenuri metallici) non hanno, generalmente, intensità ed emissione spettrale equivalenti e se ne sconsiglia l'utilizzo. Prima di riportare i risultati con una qualsiasi sorgente di luce, assicurarsi che il pozzetto del controllo positivo mostri colori fluorescenti distinti: verde, rosso e giallo.

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 richiuderli 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.

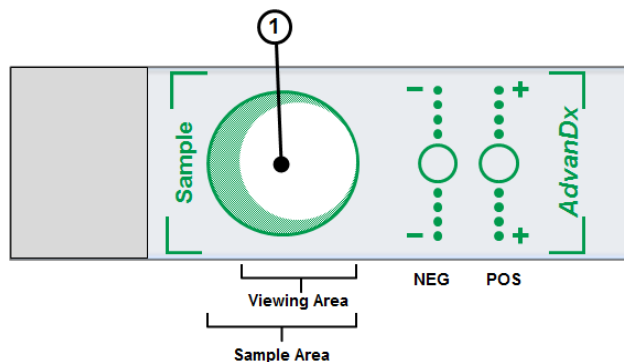
Raccolta e preparazione dei campioni

Preparazione degli strisci per microscopia Gram-Negative *QuickFISH*

Gram-Negative *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 su SlideStation a 55 ± 1 °C. In caso di campioni multipli, assicurarsi che i vetrini non entrino in contatto tra di loro per evitare la contaminazione.
- 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 flaconi che contengono microsferi di resina: aggiungere 10 o più gocce di campione ad una fiala con filtro AdvanDx. Non superare la linea di riempimento. Inserire lo stantuffo del filtro nella fiala e premere fino in fondo per rimuovere le microsferi di resina.
 - Rimuovere il tappo della fiala con filtro AdvanDx per accedere al campione e preparare lo striscio.
- Assicurarsi che il campione di sangue sia ben miscelato. Usando la pipetta AdvanDx da 10 µl trasferire 10 µl di campione al centro dell'area del campione di un vetrino *QuickFISH*. Fare riferimento al numero ① nel diagramma 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 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.

Diagramma del vetrino *QuickFISH*



Procedura del test

Materiale fornito

Gram-Negative *QuickFISH* BC QFGNRBC1-25

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 Coprioggetto grandi 50 x 24 mm N. 1 coprioggetto 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 Porta-vetrini per la miscelazione AC030

Contiene fino a 3 coprioggetti per la miscelazione di Gram-negativi 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:

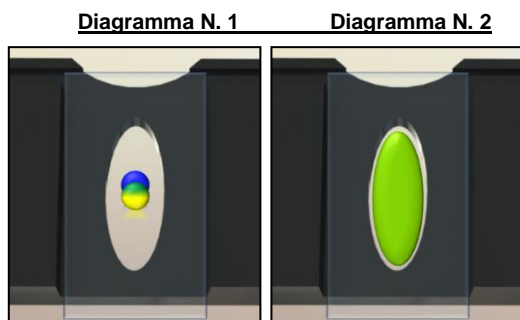
Si consiglia di esaminare gli strisci *QuickFISH* immediatamente dopo il fissaggio. Nel caso in cui gli strisci siano stati conservati a 2-8 °C o a temperatura ambiente, scaldarli sulla stufetta per vetrini per circa 5 minuti a 55 ± 1 °C prima di aggiungere i reagenti per ibridazione.

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. 1.
- 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 Gram-Negative 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 Gram-Negative PNA Yellow direttamente al di sopra della prima goccia. Evitare le bolle d'aria. Fare riferimento al diagramma N. 1.
- 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. 2.



- 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 a 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 *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 bacilli di colore verde, rosso e giallo fluorescente. I controlli negativi non contengono cellule fluorescenti. 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 del vetrino *QuickFISH*). 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 anaerobico. Sono stati testati i seguenti tipi di flaconi:

Clinicamente:

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

Analiticamente:

VersaTREK REDOX 1 Aerobic, BACTEC (Plus Anaerobic/F, Standard/10 Aerobic/F, Standard/10 Anaerobic/F, Peds Plus/F). Il rendimento clinico di questi tipi di flaconi per emocoltura con il saggio Gram-Negative *QuickFISH* BC non è stato stabilito.

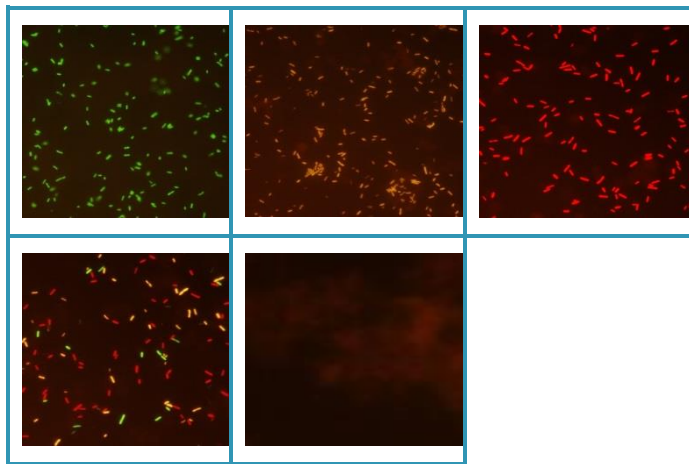
Controllo della temperatura:

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 utilizzando un microscopio a fluorescenza con obiettivo in olio da 60x o 100x e con filtro per microscopio AdvanDx oppure con filtro per alogenuri metallici AdvanDx. Lo sfondo dello striscio appare di colore rossastro. Strisci positivi a *E. coli*: si identificano bacilli multipli di colore verde fluorescente, in campi visivi multipli. Strisci positivi a *P. aeruginosa*: si identificano bacilli multipli di colore rosso fluorescente, in campi visivi multipli. Strisci positivi a *K. pneumoniae*: si identificano bacilli multipli di colore giallo fluorescente, in campi visivi multipli. I bacilli gram-negativi diversi da *E. coli*, *K. pneumoniae* o *P. aeruginosa* appaiono non fluorescenti. Gli organismi o i detriti galleggianti non devono essere interpretati o confusi con organismi positivi.



Esempi rappresentativi di *E. coli* positivo in verde (in alto a sinistra), di *K. pneumoniae* positivo in giallo (in alto al centro), di *P. aeruginosa* positivo in rosso (in alto a destra), di un insieme di *E. coli* positivo in verde, *K. pneumoniae* positivo in giallo e *P. aeruginosa* positivo in rosso (in basso a sinistra). Risultati negativi con sfondo rossastro (in basso al centro).

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 nel volume delle gocce di Gram-Negative PNA Blue e Gram-Negative PNA Yellow. Se fuoriesce della schiuma dai flaconi, NON UTILIZZARLI, gettare il copri-oggetto e preparare un nuovo vetrino partendo da reagenti per ibridazione freschi.

Limitazioni

- Gram-Negative QuickFISH BC non è compatibile con mezzi per emocoltura contenenti carbone o con flaconi per emocoltura tipo VersaTREK REDOX 2.
- Possono verificarsi risultati falsi positivi (verde) con sottospecie di *Shigella* (sierogruppi A, B, C e D), *Escherichia albertii* e *Escherichia fergusonii* a causa di similarità di sequenze di rRNA.
- Possono verificarsi risultati falsi positivi (rosso) con *Brevundimonas diminuta*, *Herbaspirillum huttiense*, *Pseudomonas fulva*, *Acinetobacter radioresistens* e alcuni ceppi di *Pseudomonas putida*.
- Possono verificarsi risultati falsi positivi (giallo) con *Escherichia vulneris* e *Klebsiella variicola*.
- Negli studi clinici sono stati usati i flaconi per emocoltura BACTEC Plus aerobic, BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F, BacT/ALERT SA e SN. Il rendimento del test Gram-Negative QuickFISH BC non è stato verificato con altri tipi di flaconi per emocoltura.
- I flaconi BACTEC Plus Anaerobic/F e BACTEC Peds Plus/F 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 e BACTEC (Standard 10 Aerobic/F, Standard Anaerobic/F) è stato valutato solamente in uno studio di compatibilità interno. Di conseguenza, il rendimento 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.
- Possono verificarsi dei falsi negativi di *K. pneumoniae* o dei falsi positivi verdi, che portano a identificare erroneamente *K. pneumoniae* come *E. coli* se si utilizzano sorgenti di luce diverse dalle lampade ad arco ai vapori di mercurio ad alta pressione e le lampade ad arco ai vapori di mercurio modificate (alogenuri metallici).
- L'isolamento su un mezzo solido è necessario per differenziare la coltura mista da altri ulteriori organismi e per identificare emocolture positive che diano un risultato negativo nel test FISH.
- Il prodotto non è stato validato con campioni diversi dalle emocolture.

Risultati previsti

La popolazione dello studio clinico dei flaconi di emocoltura positivi ai Gram-negativi è stata ottenuta da 5 istituti sanitari negli Stati Uniti ed era costituita da 306 emocolture ottenute da 263 pazienti e 43 campioni fortificati. Il tasso di risultati positivi per *E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae* variava tra 23-38%, 0-12% e 19-33%, rispettivamente. Altri organismi gram-negativi sono stati identificati nel 25% - 48% dei campioni.

I tassi sono presentati sotto forma di percentuale di emocolture per singolo paziente (non sono stati inclusi i campioni multipli prelevati dallo stesso paziente e i campioni fortificati), identificate con metodi ordinari e cioè come percentuale del numero totale di tutte le specie identificate negli studi.

I tassi relativi alle specie positive e negative ottenuti con il test Gram-Negative QuickFISH BC possono subire variazioni a seconda che la popolazione sia costituita da pazienti nosocomiali o istituzionali (2).

Caratteristiche prestazionali

La popolazione dello studio clinico dei flaconi di emocoltura positivi ai Gram-negativi è stata ottenuta da 5 istituti sanitari negli Stati Uniti ed era costituita da 306 emocolture ottenute da 263 pazienti e 43 campioni fortificati. La sensibilità di Gram-Negative QuickFISH BC rispetto ai metodi ordinari di laboratorio è del 96,8% (91/94) per *E. coli*, 98,1% (52/53) per *P. aeruginosa* e 100% (60/60) for *K. pneumoniae*. La specificità è del 99,0% (99/100) per i flaconi di emocoltura positivi contenenti bacilli Gram-negativi.

Dati sulle prestazioni cliniche del saggio Gram-Negative QuickFISH BC rispetto ai test di identificazione ordinari su flaconi per emocoltura positivi ai bacilli Gram-negativi

	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	Altro	
Gram-Negative QuickFISH	<i>E. coli</i>	91 ^{1,3}	0	0	
	<i>P. aeruginosa</i>	0	52 ²	0	
	<i>K. pneumoniae</i>	1	0	60 ³	0
	Negativo	2	1	0	99
N=307 ³	Percentuale di concordanza positiva	Percentuale di concordanza positiva	Percentuale di concordanza positiva	Percentuale di concordanza negativa	
	96,8% (91/94) IC al 95% (91,0-98,9)	98,1% (52/53) IC al 95% (90,1-99,7)	100% (60/60) IC al 95% (94,0-100)	99,0% (99/100) 95%CI (94,6-99,8)	

¹Include 9 emocolture fortificate con ceppi clinici di *E. coli*

²Include 34 emocolture fortificate con ceppi clinici di *P. aeruginosa*.

³Include 1 coltura mista di *E. coli* e *K. pneumoniae*

I flaconi sono stati conservati a temperatura ambiente dopo la colorazione di Gram e prima di eseguire il test QuickFISH. Il 17% dei flaconi è stato testato entro 2 ore, il 32% entro 4 ore e il 54% entro 8 ore. Il 45% dei flaconi è stato testato tra 8 e 48 ore dopo la colorazione di Gram e l'1% dopo più di 48 ore.

Limite di rilevamento

La sensibilità analitica del saggio Gram-Negative QuickFISH BC determinata in base al limite di rilevamento del saggio mediante diluizioni seriali per *E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae* era

approssimativamente di 2,3x10⁵, 4,0x10⁵ e 4,5x10⁵ CFU/ml, rispettivamente. Ciò è coerente con la sensibilità analitica di altre tecniche di colorazione basate su vetrini.

Specificità e sensibilità analitica (inclusività)

Gram-Negative QuickFISH BC è stato testato su 152 ceppi di laboratorio clinico e di riferimento tra cui 16 ceppi di *E. coli*, 21 ceppi di *P. aeruginosa* e 12 ceppi di *K. pneumoniae*. Tutti i 16 ceppi di *E. coli* testati sono apparsi in verde-positivo, tutti i 21 ceppi di *P. aeruginosa* testati sono apparsi in rosso-positivo e tutti i 12 ceppi di *K. pneumoniae* testati sono apparsi in giallo-positivo. Oltre a queste tre specie target, il saggio è stato eseguito anche su 86 ceppi di altri bacilli gram-negativi, 78 dei quali hanno prodotto il risultato negativo previsto. I 5 ceppi seguenti hanno prodotto risultati falsi positivi (in verde): *Escherichia albertii*, *Escherichia fergusonii*, e i sierogruppi A, B, C e D di *Shigella*. I 3 ceppi seguenti hanno prodotto risultati falsi positivi (in rosso): *Pseudomonas fulva* (2 ceppi) e *Acinetobacter radioresistens*. Il saggio è stato eseguito anche su 17 ceppi di altri batteri (11) e lieviti (6) e tutti hanno prodotto un risultato negativo.

Riproducibilità

È stato condotto uno studio di riproducibilità sul saggio Gram-Negative QuickFISH BC. Di seguito riportiamo i risultati divisi per centro nell'arco di 3 giorni e per giorno nei 3 centri, con 2 operatori per ogni centro.

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

	Centro 1	Centro 2	Centro 3	Totale
Concordanza positiva verde	42/45	45/45	45/45	97,8% (132/135)
Concordanza positiva rosso	42/45	45/45	45/45	97,8% (132/135)
Concordanza positiva giallo	45/45	45/45	45/45	100% (135/135)
Concordanza negativa	42/45	45/45	45/45	97,8% (132/135)
Concordanza totale	95,0% (171/180)	100% (180/180)	100% (180/180)	98,3% (531/540)

Riepilogo dei risultati di riproducibilità divisi per giorno in 3 centri

	Giorno 1	Giorno 2	Giorno 3	Totale
Concordanza positiva verde	42/45	45/45	45/45	97,8% (132/135)
Concordanza positiva rosso	45/45	42/45	45/45	97,8% (132/135)
Concordanza positiva giallo	45/45	45/45	45/45	100% (135/135)
Concordanza negativa	45/45	42/45	45/45	97,8% (132/135)
Concordanza totale	98,3% (177/180)	96,7% (174/180)	100% (180/180)	98,3% (531/540)

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 Antibiol. 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
Stati Uniti

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

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

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

PN2014J-IT
DCR 20-0034

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