

BIOMÉRIEUX

REF 410852

043785-01 - 2020-08

LT

BACT/ALERT® FN Plus

Rx only

IVD



PASKIRTIS

BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukai naudojami BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistemose atliekant kokybines procedūras anaerobiniams ir fakultatyviems anaerobiniams mikroorganizmams išgauti ir aptikti kraujyje ir kituose, paprastai steriluose, kūno skysčiuose.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistemos yra naudojamos mikroorganizmams nustatyti kraujo ar kitų, paprastai sterilių, kūno skysčių mėginiuose, paimtuose iš pacientų, kuriems įtariama septicemija. BACT/ALERT® sistema ir pasėlių buteliukai – tai mikroorganizmų aptikimo sistema ir kultivavimo terpė su mitybos ir aplinkos sąlygomis, kurios tinka dažniausiai kraujo ir kitų paprastai sterilių kūno skysčių infekcijų atveju aptinkamiems organizmams. Inokuliuotas buteliukas įdedamas į instrumentą, kur jis inkubuojamas, nuolat stebint, ar nėra mikroorganizmų, kurie auga BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliuke.



Pastaba. Pateikta informacija taikoma visų konfigūracijų BACT/ALERT® mikrobų aptikimo sistemoms, nebent nurodyta kitaip.

TYRIMO PRINCIPAS

BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistema anglies dioksido (CO₂), išskiriamo iš pasėlio terpės, buvimui ir gamybai stebėti naudoja kolorimetrinį jutiklį ir atspindėtą šviesą. Jei tyrimo mėginyje yra mikroorganizmų, jiems metabolizuojant substratą pasėlio terpėje, išskiriamas anglies dioksidas. Kai augant mikroorganizmams išsiskiria CO₂, dujoms pralaidaus jutiklio, esančio buteliuko su pasėliu dugne, spalva keičiasi iš mėlynai žalios į geltoną.¹ Dėl šviesesnės spalvos padaugėja atspindėjimo vienetų, kuriuos stebi sistema. Instrumentas stebi ir įrašo buteliuko atspindžius kas 10 minučių.

REAGENTAI

Skirta naudoti *in vitro* diagnostikai.

PERSPĖJIMAS. Elkitės su mėginiais ir inokuliuotais pasėlio buteliukais taip, lyg jie galėtų perduoti infekcines medžiagas. Visi inokuliuoti pasėlio buteliukai, adatos, kuriomis buvo paimti mėginiai, ir kraujo siurbimo priemonės turi būti nukenksminti pagal jūsų institucijos metodiką.²

BACT/ALERT® FN Plus (pažymėtas oranžine spalva) – BACT/ALERT® FN Plus vienkartinuose pasėlio buteliukuose yra 40 ml terpės ir ≥ 1,6 g adsorbuojančių polimerinių rutuliukų. Gamybos metu terpę sudaro toliau nurodyti reaguojantieji komponentai: peptonų / biologinių ekstraktų junginys (≥ 1,85 % w/v), antikoaguliantas (≥ 0,083 % w/v), vitaminai ir aminorūgštys (> 0,00145 % w/v), anglies šaltiniai (≥ 0,45 % w/v), mikroelementai (≥ 0,0005 % w/v) ir kiti sudėtiniai aminorūgščių ir angliavandenių substratai išgrynintame vandenyje. Buteliukai yra paruošti su N₂ ir CO₂ atmosfera vakuomo sąlygomis. Terpės sudėtis gali būti pakeista priklausomai nuo specifinių veiksmingumo reikalavimų.



PERSPĖJIMAS. BACT/ALERT® pasėlio buteliukų sudėtyje yra polikarbonato. Ne visi dezinfekantai skirti polikarbonatiniams paviršiams, todėl gali sugadinti buteliukus. Prieš naudodami dezinfekantus ant BACT/ALERT® pasėlio buteliukų paviršiaus įsitikinkite, kad dezinfekantas tinka polikarbonatiniams paviršiams.

PERSPĖJIMAS. Į BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukus, kuriuose kultivuojami ne kraujo mėginiai (paprastai sterilūs kūno skysčiai) arba labai nedidelio tūrio kraujo mėginiai (0,5 ml ar mažiau), gali prireikti pridėti kraujo, pvz., steriliaus defibrinuoto arklio kraujo (10,0 % v/v), augimui palaikyti, ypač išgaunant lėpius mikroorganizmus, tokius kaip *Haemophilus influenzae* ir *Streptococcus pneumoniae*.³

¹ Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al. BacT/Alert: an Automated Colorimetric Microbial Detection System. *J Clin Micro* 1990; 28 (7), 1608-1612.

² *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)* 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

³ Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th ed. 2006, pp. 446,590.

Būtinai papildomi reikmenys

- BACT/ALERT® mikrobu aptikimo sistemos
- Kraujo paėmimo įtaisas
- Sterili „Airway“ adata / subkultūros vienetai
- Vienkartinės pirštinės
- Tinkami biologinį pavojų keliančių atliekų konteineriai medžiagoms, galimai užkrėstoms infekcinėmis medžiagomis
- Alkoholiu sudrėkinti tamponai ar lygiavertės priemonės

bioMérieux tiekiamos priemonės

- Kraujo surinkimo adapterio dangtelis
- BACT/ALERT® mikrobu aptikimo sistemos
- Sterili „Airway“ adata / subkultūros vienetai

Laikymo instrukcijos

BACT/ALERT® FN Plus pasėlių buteliukai yra paruošti naudoti. Laikykite juos vertikaloje padėtyje kambario temperatūroje (15–30 °C), saugokite nuo tiesioginių saulės spindulių. Tinkamumo terminas atspausdintas ant kiekvieno buteliuko etiketės. Neinokuliuokite pasėlio buteliukų pasibaigus tinkamumo terminui. Jei buteliukai laikomi mažesnėje nei 15 °C temperatūroje, gali susidaryti nuosėdų, kurios išnyksta buteliukus atšildžius iki kambario temperatūros. Prieš naudojant buteliukai turi būti kambario temperatūroje.

Cheminiai ir fiziniai nestabilumo požymiai

Prieš naudojant BACT/ALERT® FN Plus pasėlių buteliukus būtina patikrinti, ar nėra pažeidimo arba sugedimo (spalvos pakitimo) požymių. Išmeskite buteliukus, jei pastebėjote pažeidimo, nuotėkio ar nusidėvėjimo požymių. Nejudintuose buteliukuose terpė turi būti skaidri, tačiau galima nežymi opalescencija, gali matytis nuosėdų pėdsakų dėl antikoagulianto SPS ar adsorbento polimerinių rutuliukų; nesumaišykite su drumstumu dėl augančių mikroorganizmų. Nenaudokite buteliukų, jei juose esanti terpė drumsta, jutiklis geltonas ar susidarė perteklinis dujų slėgis; tai yra galimo užterštumo požymiai.

PRIETAISAI

Prieš naudodami peržiūrėkite atitinkamą BACT/ALERT® mikrobu nustatymo sistemos naudotojo vadovą.

MĖGINIO PAĖMIMAS IR PARUOŠIMAS**Bendrosios nuostatos**

1. BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukus turi naudoti išmokyti sveikatos priežiūros specialistai. Ypač svarbu taisyklingai imti kraujo pasėlio mėginius. Informaciją dėl tinkamos mėginių ėmimo procedūros žr. „Cumitech 1C“.⁴
2. Norėdami išvengti užteršimo, atsargiai atlikite buteliuko paruošimo ir paciento mėginio inokuliacijos procedūras. Ypač svarbu tinkamai dezinfekuoti odą, siekiant sumažinti taršos tikimybę.
3. „bioMérieux“ to nerekomenduoja, tačiau kraujas gali būti paimtas tiesiogiai į paėmimo mėgintuvėlius su SPS. Mėgintuvėliai su kitais antikoagulantais negali būti naudojami kraujo pasėliui.⁵
4. „bioMérieux“ rekomenduoja, kad inokuliuoti pasėlio buteliukai būtų patalpinti į BACT/ALERT® mikrobinio aptikimo sistemą kaip įmanoma greičiau po surinkimo. Jei delsos neįmanoma išvengti, jie gali būti laikomi kambario temperatūroje iki 24 valandų prieš dedant į instrumentą.
5. Optimalus izoliatų išgavimas pavyksta tada, kai yra įdedamas maksimalus mėginio kiekis. Mažesnis mėginio tūris gali neigiamai paveikti kai kurių organizmų išgavimą ir (arba) aptikimą. Neviršykite maksimalaus mėginio kiekio buteliuke – 10 ml. Vakuumas, esantis buteliuke, paprastai viršija 10 ml; stebėkite paimtą tūrį pagal 5 ml žymas, esančias ant buteliuko etiketės.

Buteliuko paruošimas

1. Užrašykite paciento duomenis ant pasėlio buteliuko. Piktogramas ant buteliuko etiketės (Ⓢ, #, Ⓢ) gali pasirinkti naudotojas.
2. Nuo kiekvieno pasėlio buteliuko nuimkite plastikinę apsaugą. Prieš inokuliuodami dezinfekuokite pasėlio buteliuko dangtelį alkoholyje sumirkytu tamponu ar pan. Leiskite nudžiūti.

⁴ Baron EJ, Weinstein MP, Dunne Jr. WM, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. 2005. Cumitech 1C, Blood Cultures IV. Coordinating ed. Baron EJ. ASM Press, Washington, DC.

⁵ CLSI. *Principles and Procedures for Blood Cultures*; Approved Guideline. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.

3. Nuvalykite pasirinktą venos punkcijos vietą, kaip nurodyta jūsų įstaigos procedūros rekomendacijose.
4. Inokuliacijai naudokite 21 ar didesnio dydžio adatas (pavyzdžiui, 22, 23 ar 25). Naudodami mažesnio nei 21 dydžio adatas (pavyzdžiui, 16, 18, 19 ar 20) galite išleisti buteliuko atmosferą.

Inokuliacijos procedūra tiesiogiai paimant mėginį venos punkcijos metodu

Pastaba. Jei norite inokuliuoti daugiau kaip vienos rūšies BACT/ALERT® kraujo pasėlio buteliuką, naudodami peteliškės formos kraujo paėmimo rinkinį ir tiesioginio paėmimo adapterio dangtelį, pirma inokuliuokite aerobinio pasėlio buteliuką, tada inokuliuokite anaerobinio pasėlio buteliuką, kad į anaerobinį buteliuką nepatektų sistemoje esantis deguonis.

Pastaba. Nors galima naudoti ir mažesnę mėginio tūrį, bet geriausia atlikti išgavimą naudojant maždaug rekomenduojamo 10 ml tūrio mėginį.^{6,7}

Pastaba. Stebėkite į pasėlio buteliuką tekančio kraujo tūrį, kad išvengtumėte perteklinės inokuliacijos. Norint nustatyti maždaug 10 ml mėginio tūrį, galima naudotis tiksline pripildymo žyma ant buteliuko etiketės. Norint nustatyti mėginio tūrį, taip pat galima naudotis 5 ml padalomis ant buteliuko etiketės.

Pastaba. Visada atidžiai stebėkite tiesioginio paėmimo procesą, kad būtų užtikrinta reikiama srovė ir buteliuko turinys nepatektų į adapterio sistemą. Pasėlio buteliuke yra cheminių priedų, todėl svarbu užkirsti kelią galimai atgalinei srovei ir jos sukeltoms pašalinėms reakcijoms, atliekant toliau nurodytus veiksmus.

1. Pasėlio buteliuką laikykite žemiau paciento rankos vertikaliaje padėtyje (kamštelis viršuje).
 2. Kraują imkite naudodami peteliškės formos kraujo ėmimo rinkinį ir kraujo ėmimo adapterio dangtelį, laikydamiesi įstaigoje patvirtintos procedūros, ir inokuliuokite tiesiai į pasėlio buteliuką prie paciento lovos. Nors galima naudoti ir mažesnę mėginio tūrį, bet geriausia atlikti išgavimą naudojant maždaug rekomenduojamo 10 ml tūrio mėginį. Norėdami išvengti perteklinio inokuliacijos, stebėkite kraujo tūrio didėjimą pasėlio buteliuke pagal 5 ml žymas ant buteliuko etiketės.
 3. Atleiskite turniketą iškart, kai kraujas ima tekėti į kultivavimo buteliuką arba po 2 minučių po uždėjimo.
 4. Surinkimo procedūros metu neleiskite, kad buteliuko turinys paliestų kamštelį arba adatos galiuką.
PERSPĖJIMAS. Užterštame pasėlio buteliuke gali būti susidaręs teigiamas slėgis; jei toks buteliukas naudojamas tiesiogiai imant kraujo mėginį, tai gali sukelti refliuksą į paciento veną. Pasėlio buteliuko tarša gali būti ne iš karto matoma. Įdėmiai stebėkite tiesioginio paėmimo procesą, kad išvengtumėte refliukso. Nenaudokite buteliuko, jei jame esanti terpė yra drumsta, jutiklis yra geltonas arba buteliuke per didelis dujų slėgis. Šie požymiai gali rodyti užteršimą.
5. Inokuliuotą pasėlio buteliuką iš karto perkelti į tyrimo laboratoriją.

Inokuliacijos procedūra mėginį imant švirkštu

Pastaba. Jei norite inokuliuoti daugiau kaip vienos rūšies BACT/ALERT® kraujo pasėlio buteliuką įtraukdami švirkštu, pirma inokuliuokite anaerobinio pasėlio buteliuką, tada inokuliuokite aerobinio pasėlio buteliuką, kad į anaerobinį buteliuką nepatektų švirkšte esantis deguonis. Įvertindami mėginio tūrį remkitės ant buteliuko etiketės esančiomis linijos žymėmis.

1. Atlikite venos punkciją ir surinkite kraują į BACT/ALERT® pasėlio buteliuką, laikydamiesi Jūsų įstaigoje naudojamų procedūrų.

PERSPĖJIMAS. Inokuliacijos metu niekada nespaukite švirkšto stūmoklio žemyn, nes galite ištaškyti mėginį. Kai bus pasiektas užpildymo tūris, nuimkite švirkštą, nes vakuumas automatiškai ištrauks daugiau nei rekomenduojamas tūris. Norėdami išvengti vakuumo išleidimo, pradurkite buteliuko kamštį vertikaliai; buteliukas be vakuumo neturi būti inokuliuotas.

2. Inokuliuotą pasėlio buteliuką iš karto perkelti į tyrimo laboratoriją.

BACT/ALERT® FN PLUS PASĖLIO BUTELIUKO TYRIMO PROCEDŪRA

Išankstinės pastabos ir atsargumo priemonės

1. Mūvėkite vienkartinę pirštines, su inokuliuotais pasėlio buteliukais elkitės atsargiai – lyg jie galėtų perduoti infekcines medžiagas. Jei prarijote užterštų medžiagų arba jos susilietė su atviromis žaizdomis, pažeistomis vietomis ar kitaip sužalota oda, nedelsdami kreipkitės į gydytoją.
2. Išsiliejusią užterštą medžiagą nedelsdami išvalykite 5 % natrio hipochlorito tirpalu (santykis 1:10). Valymo medžiagą išmeskite priimtiniu būdu.

⁶ Baron EJ, Weinstein MP, Dunne Jr. WM, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. 2005. Cumitech 1C, Blood Cultures IV. Coordinating ed. Baron EJ. ASM Press, Washington, DC.

⁷ CLSI/NCCLS. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*; Approved Standard—Third Edition. CLSI/NCCLS document M22-A3. Wayne, PA: NCCLS; 2004.

3. Visi inokuliuoti pasėlio buteliukai, adatos, kuriomis buvo paimti mėginiai, ir kraujo siurbimo priemonės turi būti nukenksminti pagal jūsų institucijos metodiką.⁸
4. Šiuos buteliukus turi naudoti kvalifikuotas sveikatos priežiūros personalas.

PERSPĖJIMAS. Tik JAV: Federaliniai JAV įstatymai apriboja teisę praktikuojantiems gydytojams pardavinėti šį prietaisą.

Procedūrinės pastabos ir atsargumo priemonės

1. Norint išvengti paciento mėginio taršos praduriant veną ar inokuliuojant į pasėlio buteliuką, procedūrą reikia atlikti ypač atsargiai. Dėl taršos mėginio rezultatas gali būti teigiamas, nors ir nėra kliniškai reikšmingo izoliato.
2. Kraujo mėginius imkite prieš pradėdami gydymą antibiotikais. Jeigu to padaryti neįmanoma, kraują paimkite prieš pat suleisdami kitą antibiotikų dozę.
3. Jeigu inokuliuotų pasėlio buteliukų pristatymas į laboratoriją buvo uždelstas arba jeigu jie buvo inkubuojami prieš sudedant juos į BACT/ALERT® instrumentą, patikrinkite, ar nėra mikrobiologinio augimo požymių. Jei pastebėsite mikroorganizmų augimą, elkitės su buteliukais taip, lyg jų rezultatai būtų teigiami, ir nedėkite jų į BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistemą stebėti.

Laboratorijos procedūra

PERSPĖJIMAS. Atsargiai sėkite pasėlius iš buteliukų, kurių rezultatas laikomas teigiamu, nes jie gali būti perpildyti arba juose gali būti dujas išskiriančių mikroorganizmų. Pasėlio buteliukų, kurių rezultatas teigiamas, vidinis slėgis gali būti padidėjęs. Pasėlio buteliukai, kurių rezultatas teigiamas, turėtų būti laikinai ventiliuojami prieš dažymą arba išmetimą, kad būtų išleistos dujos, susidariusios dėl mikroorganizmo metabolizmo.

1. Prieš tirdami apžiūrėkite ir įvertinkite buteliukus. Nenaudokite buteliukų, jei pastebėjote pažeidimo, nuotėkio ar nusidėvėjimo požymių. Buteliukų, kuriuose pastebima hemolizė, drumstumas, padidėjęs dujų slėgis, kurių jutikliai geltoni ir (arba) yra augimo požymių, rezultatas turėtų būti laikomas teigiamu. Paruoškite tepinėlį ir auginkite pasėlį. Neinkubuokite, nebent tepinėlio rezultatas neigiamas.
2. Įstatę pasėlio buteliukus į instrumentą, inkubuokite juos 5 dienas arba tol, kol jie bus nustatyti esantys teigiami.
3. Paimkite visų teigiamų buteliukų tepinėlius ir juos persėkite. Jei tepinėlis neigiamas, bet nurodomas kaip galimai klaidingai teigiamas, buteliukas turi būti iš naujo įdedamas į instrumentą, kol persėtas pasėlis užaugs arba kol bus iš naujo nustatytas teigiamas rezultatas. Jeigu buteliukai iš pradžių buvo nustatyti kaip klaidingai teigiami ir buvo iš naujo priskirti teigiamiems, būtina paimti jų tepinėlį ir persėti.
4. Pasėliai, kurių rezultatas neigiamas, prieš išmetant gali būti patikrinti darant tepinėlį ir (arba) sėjant pasėlį.
5. Nurodymai, kaip įdėti ir išimti pasėlio buteliukus iš BACT/ALERT® prietaiso, pateikti naudotojo vadove.
6. **BACT/ALERT® pasėlio buteliukų pakartotinai nenaudokite.** Inokuliuotus BACT/ALERT® pasėlio buteliukus išmeskite pagal savo laboratorijos protokolą. Inokuliuotus BACT/ALERT® buteliukus galima dėti į autoklavą ir (arba) sudeginti.⁹
7. Pertvarą perduriant duriančiomis priemonėmis (pvz., buka adata), gali ištekėti šiek tiek buteliuko turinio.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Kiekvienai pasėlio buteliukų partijai suteiktas atitiktis sertifikatas. Pageidaujant atskiros laboratorijos gali atlikti BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukų kokybės kontrolės tyrimą. Žr. atitinkamą BACT/ALERT® naudotojo vadovą ir CLSI® dokumentą M22-A3.¹⁰

Instrumentas

BACT/ALERT® atspindžio standartų rinkinys pateikiamas su kiekvienu BACT/ALERT® 3D instrumentu, o atspindžio kalibravimo standartai yra pridėdami prie kiekvieno BACT/ALERT® VIRTUO® instrumento kokybės kontrolės ir kalibravimo procedūroms atlikti. Kokybės kontrolė turi būti sistemos įprastos priežiūros dalis. Daugiau informacijos žr. atitinkamame BACT/ALERT® naudotojo vadove.

⁸ *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)* 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

⁹ *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)* 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

¹⁰ CLSI®/NCCLS. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*; Approved Standard—Third Edition. CLSI®/NCCLS document M22-A3. Wayne, PA: NCCLS; 2004.

PERSPĖJIMAS. Jei įstaigos LIS tiekėjas nusiunčia buteliukų identifikavimo numerius ir buteliukų tipų santrumpas į BACT/ALERT® prietaisą, naudokite tinkamą buteliuko tipo santrumpą, kad išvengtumėte galimų klaidingai teigiamų ir klaidingai neigiamų rezultatų. Norėdami gauti daugiau informacijos, kreipkitės į vietinį „bioMérieux“ atstovą.

REZULTATAI

Pasėlio buteliukų teigiamą arba neigiamą rezultatą nustato BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistemose esanti sprendimų priėmimo programinė įranga. Nereikia imtis jokių veiksmų, kol BACT/ALERT® prietaisas nenurodo pasėlio buteliukų kaip teigiamų ar neigiamų.

TYRIMO APRIBOJIMAI

Yra daug kintamųjų, susijusių su kraujo ir kitų, paprastai sterilių, kūno skysčių pasėlių tyrimais, kurių praktiškai neįmanoma kontroliuoti, todėl neįmanoma visiškai užtikrinti, kad gauti rezultatai pagrįsti tik tinkamu ar netinkamu pasėlio terpės ar aptikimo sistemos veikimu.

1. Pacientų mėginiuose, kurių rezultatas BACT/ALERT® sistemoje yra teigiamas, gali būti tokių organizmų, kurie bus matomi darant tepinėlį, bet neaugs įprastinėje terpėje sėjant iš buteliuko. Jei įtariamas toks atvejis, mėginys turi būti pakartotinai sėjamas į specialią terpę. Be to, mėginiuose, kurių rezultatas BACT/ALERT® sistemoje yra teigiamas, gali būti mikroorganizmų, kurie gali būti nematomi įprastai naudojant tepinėlį, todėl jiems aptikti ir išgauti gali prireikti ir specialaus tepinėlio, ir terpės, skirtos sėti iš buteliuko.
2. Gali būti, kad kai kurie reti ir reiklūs mikroorganizmai BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliuko augimo terpėje neaugs arba augs lėtai. Be to, retais atvejais mikroorganizmai gali augti BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliuko terpėje, bet neišskirti tiek anglies dioksido, kad būtų nustatytas teigiamas rezultatas. Jei įtariate, kad yra retų ir reiklių mikroorganizmų, kuriems reikia specialios terpės ir auginimo sąlygų, išgaunant gali prireikti alternatyvių metodų arba ilgesnės inkubacijos trukmės.
3. Tam tikros *Peptostreptococcus anaerobius* padermės gali būti jautrios antikoagulantui natrio polianetosulfonatui (SPS) ir dėl to neaugti ar išskirti mažai CO₂, jei į pasėlio buteliukus inokuluota nepakankamai kraujo mėginio.
4. Retais atvejais, jei mėginyje yra labai daug baltųjų kraujo kūnelių, BACT/ALERT® gali nurodyti pasėlių buteliuką kaip teigiamą. Tokiu atveju tepinėlio ir persėjimo rezultatai gali būti neigiami.
5. Mikroorganizmų kraujyje paprastai būna mažai ir su pertraukomis, todėl iš kiekvieno paciento turėtų būti paimami keli kraujo mėginiai iš eilės.
6. Nedelsdami išimkite teigiamus pasėlių buteliukus, kai BACT/ALERT® apie juos praneša, kad pasėliai netaptų negyvybingi dėl autolizės ar kitų priežasčių. Kai kurios *Streptococcus pneumoniae* padermės gali būti ypač linkusios į autolizę, jei nepašalinamos iškart, pranešus, kad jų rezultatas teigiamas.
7. Gramo metodu nudažyti neigiamų buteliukų tepinėliuose gali būti labai mažas negyvybingų organizmų kiekis, atsiradusių iš kultūrinės terpės komponentų, dažymo reagentų, imersinio aliejaus ar stiklelių, dėl to gali būti gaunamas klaidingai teigiamas rezultatas.
8. „bioMérieux“ rekomenduoja, kad inokuluoti pasėlio buteliukai būtų patalpinti į BACT/ALERT® mikrobinio aptikimo sistemą kaip įmanoma greičiau po surinkimo. Bet jei buteliukus į laboratoriją tenka siųsti vėliau, skyriuje „Tyrimo veikimo charakteristikos“ pateikiama tyrimų informacija apie vėliau gautus mėginius.
9. Cefprozidimo, ceftriaksono ir cefepimo antimikrobinės savybės nebuvo neutralizuotos.

TIKĖTINOS VERTĖS

1. Bendroji trijų klinikinių tyrimų įstaigų teigiamų reikšmingų izoliatų kultūrų procentinė išraiška buvo 11,1 % (diapazonas: 8,7–14,3 %), o reikšmingų izoliatų – 8,0 % (diapazonas: 6,4–9,3 %) reikšmingi izoliatai BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukuose, į kuriuos įpilta 6–10 ml kraujo per BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukų klinikinį tyrimą, atliktą naudojant BACT/ALERT® 3D.
2. Bendroji trijų klinikinių tyrimų įstaigų teigiamų reikšmingų izoliatų kultūrų procentinė išraiška buvo 20,3 % (diapazonas: 17,0–25,3 %), o reikšmingų izoliatų – 14,6 % (diapazonas: 6,1 %–24,1 %) reikšmingi izoliatai BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukuose, į kuriuos įpilta sterilių kūno skysčių per BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukų klinikinį tyrimą, atliktą naudojant BACT/ALERT® 3D.
3. Tiriant BACT/ALERT® 3D per BACT/ALERT® VIRTUO® klinikinį tyrimą, trijų klinikinių tyrimų centrų reikšmingų izoliatų teigiamų kultūrų procentinė reikšmė buvo 6,3 % (diapazonas: 5,1–6,7 %), o 5,4 % sudarė (diapazonas: 5,1–5,8 %) naudojant BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukus, į kuriuos įpilta ≤ 10 ml kraujo.
4. Tiriant BACT/ALERT® 3D per BACT/ALERT® VIRTUO® klinikinį tyrimą, trijų klinikinių tyrimų centrų reikšmingų izoliatų teigiamų kultūrų procentinė reikšmė buvo 10,5 % (diapazonas: 7,5–14,9 %), o 7,9 % sudarė (diapazonas: 6,9 %–10,4 %) naudojant BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukus, į kuriuos įpilta sterilių kūno skysčių.

- Atliekant BACT/ALERT® VIRTUO® klinikinį tyrimą, trijų klinikinių tyrimų centrų reikšmingų izoliatų teigiama procentinė reikšmė buvo 6,4 % (diapazonas: 4,5–6,8 %), o 5,2 % sudarė (diapazonas: 4,5–5,6 %) naudojant BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukus, į kuriuos įpilta ≤ 10 ml kraujo.
- Atliekant BACT/ALERT® VIRTUO® klinikinį tyrimą, trijų klinikinių tyrimų centrų reikšmingų izoliatų teigiama procentinė reikšmė buvo 11,0 % (diapazonas: 9,8–13,4 %), o 8,1 % sudarė (diapazonas: 7,3 %–10,4 %) naudojant BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukus, į kuriuos įpilta sterilių kūno skysčių.
- Tikėtinos procentinės teigiamosios reikšmės kinta atsižvelgiant į pacientų populiaciją, svarbių organizmų paplitimą, įstaigos vietą ir užteršimo dažnį. Pateiktos tikėtinos reikšmės paremtos klinikinių tyrimų duomenimis, gautais atliekant keletą klinikinių tyrimų.

ANTIMIKROBINIŲ MEDŽIAGŲ NEUTRALIZAVIMAS



Antimikrobinų medžiagų neutralizavimas adsorbuojančiais polimeriniais rutuliukais gali skirtis priklausomai nuo dozės dydžio ir mėginio paėmimo laiko. Vidiniais tyrimais testuojant BACT/ALERT® 3D mikrobu aptikimo sistemą, nustatyta, kad antimikrobinės medžiagos veiksmingai neutralizuojamos naudojant BACT/ALERT® FN Plus terpę, sprendžiant pagal 100 % tirtų organizmų išgavimą. Atliekant tyrimus, antimikrobinės medžiagos buvo dedamos į kliniškai reikšmingas koncentracijas tiesiai į pasėlio buteliukus inokuliacijos jautriomis obligatyviųjų ir fakultatyviųjų anaerobinių mikroorganizmų padermėmis metu. Antimikrobinų medžiagų poveikis buvo patvirtintas lygiagrečiai tiriant neneutralizuojančią terpę kaip kontrolinę medžiagą. Tyrimai parodė, kad terpė neutralizavo toliau pateiktų kategorijų antimikrobines medžiagas: imipenemą, meropenemą, oksaciliną, glicilciklinus, makrolidus, cefoksitiną, ceftaroliną, aminoglikozidus, fluorochinolonus, linkozamidus, ketolidus ir glikopeptidus.

Ceftazidimo, ceftriaksono ir cefepimo antimikrobinės savybės nebuvo neutralizuotos. Cefotaksimas, cefazolinus, ampicilinas, penicilinas ir ertapenemas neutralizuoti nevisiškai. Atsižvelgiant į mikroorganizmą, cefotaksimas neutralizuotas esant nuo 40 % iki 3 % didžiausio serumo lygio (PSL). Atsižvelgiant į mikroorganizmą, cefazolinus neutralizuotas esant nuo 25 % iki 5 % didžiausio serumo lygio (PSL). Ertapenemas neutralizuotas esant 5 % PSL. Ampicilinas neutralizuotas esant 75 % *E. faecalis* PSL. Penicilinas neutralizuotas esant 120 % *S. pneumoniae* PSL. Esant 100 % PSL, nei ampicilino, nei penicilino poveikis *C. perfringens* nebuvo neutralizuotas.

Antimikrobinų medžiagų neutralizavimo savybės priklauso nuo pasėlio buteliuko medžiagos sudėties ir nėra nustatomos pagal BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistemų analizės algoritmus. Pavyzdinės antimikrobinės medžiagos atrinktos iš keleto antimikrobinų agentų kategorijų, iširtos naudojant BACT/ALERT® VIRTUO® mikroorganizmų aptikimo sistemą, siekiant patvirtinti BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukų neutralizavimo savybes. Pademonstruotas cefoksitino, ceftarolino, imipenemo, vankomicino ir piperacilino-tazobaktamo neutralizavimas. Tyrimai parodė, kad instrumento sistema neturėjo įtakos pasėlio buteliuko antimikrobinų medžiagų neutralizavimo savybėms.

Norėdami gauti daugiau informacijos apie BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukų neutralizuojamas antimikrobines medžiagas, kreipkitės į vietos „bioMérieux“ atstovą.

VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS

BACT/ALERT® 3D mikroorganizmų aptikimo sistemos

Galimos trukdančios medžiagos

Vidiniai pasėlių tyrimai atlikti su smegenų skysčiu, pleuros skysčiu, sąnarių skysčiu, plazma, krauju ir kraujo krešuliais. Į kiekviena šių skysčių alikvotinę dalį pridėta leukocitų, kad būtų gauta koncentracija, nustatoma kiekviename kūno skystyje esant bakteremijai. Tyrimai atlikti su mikroorganizmais ir be jų. Šios medžiagos netrukdydė išgauti ir aptikti organizmus bei nelėmė klaidingai teigiamų rezultatų, kai organizmų nėra.

Analitinis jautrumas: aptikimo riba (LoD)

Šioje lentelėje pateikiami vidinių pasėlių tyrimų rezultatų duomenys. Kiekviena rūšis tirta ne mažiau kaip 30 kartų. Šioje lentelėje pateikti duomenys gauti naudojant besibaigiančio galiojimo termino buteliukus. Į *B. fragilis* ir *S. pneumoniae* inokuliuotus buteliukus pridėta 1 ml žmogaus kraujo. Ties LoD aptikimas buvo bent 95 %.

1 lent.: Analitinis jautrumas: aptikimo riba (LoD)

Mikroorganizmas	Padermės ID	LoD (KSV buteliuke)
<i>Bacteroides fragilis</i>	ATCC® 25285™	5

Mikroorganizmas	Padermės ID	LoD (KSV buteliuke)
<i>Clostridium perfringens</i>	NCTC 8798	4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC® 13048™	8
<i>Enterococcus faecalis</i>	NCTC 12697	4
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 12923	4
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC® 15313™	6
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC® 14028™	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC 10788	4
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC® 6305™	6

Pastaba. pažymėjus teigiamais, 86,6 % butelių subkultivuoti per 30 minučių.

Analitinis jautrumas: augimo vertinimas

Šioje lentelėje pateikti duomenys gauti atlikus vidaus tyrimus su krauju, surinktu iš sveikų savanorių žmonių, ir be jo. Buvo tirtos kelios padermės, kiekvienos rūšies tikslinis inokuliavimo lygis buvo 125 KSV buteliuke. Tikrieji inokuliatų lygiai buvo 3–299 KSV buteliuke. Šiame pasėlių tyrime instrumentui pažymėjus BACT/ALERT® FN Plus pasėlio butelius kaip teigiamus, jie subkultivuoti bent 24 valandas. Toliau išvardytos rūšys atspindi kliniškai dominuojančius organizmus kraujo kultūrose ir steriliuose kūno skysčiuose.

2 lent.: Analitinis jautrumas: augimas

Mikroorganizmas	Kraujas				Ne kraujas			
	Išgavimo % (n)	Diapazonas (KSV buteliuke)	Laikas iki aptikimo (valandos)		Išgavimas %* (n=3)	Diapazonas (KSV buteliuke)	Laikas iki aptikimo (valandos)	
			Vidurkis	Diapazonas			Vidurkis	Diapazonas
<i>Staphylococcus aureus</i>	100,0 (15/15)	54–150	14,6	12,9–16,7	100,0	116–150	21,8	21,3–22,0
<i>Escherichia coli</i>	100,0 (15/15)	73–254	10,9	10,4–12,4	100,0	73–176	11,6	10,4–12,9
<i>Bacteroides fragilis</i>	100,0 (18/18)	9–154	29,7	24,3–43,6	66,7 (2/3)	19–154	97,2	79,2–115,2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100,0 (15/15)	4–260	16,5	11,5–43,8	100,0	4–25	17,5	16,0–19,3
<i>Clostridium perfringens</i>	100,0 (18/18)	58–210	17,3	12,0–40,1	100,0 (8/8)	76–210	27,1	14,1–35,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100,0 (15/15)	89–123	11,2	10,4–13,1	100,0	95–123	12,6	12,1–13,4
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	70,6 (12/17)	19–204	74,4	36,0–108,0	75,0 (3/4)	19–116	56,1	41,2–64,8
<i>Streptococcus agalactiae</i>	100,0 (15/15)	14–194	16,9	12,7–28,9	100,0	21–34	25,9	20,5–33,4
<i>Enterococcus faecalis</i>	100,0 (15/15)	63–259	13,7	11,9–19,4	100,0	71–169	22,4	17,8–24,8
<i>Parvimonas micra</i>	80,0 (16/20)	46–154	51,4	37,3–69,6	0,0 (0/4)	46–154	–	–
<i>Enterobacter cloacae</i>	100,0 (15/15)	111–200	11,9	11,1–12,5	100,0	111–185	13,0	11,9–14,7
<i>Proteus mirabilis</i>	100,0 (15/15)	36–213	11,4	10,9–12,5	100,0	36–213	11,9	11,5–12,7
<i>Eggerthella lenta</i>	86,7 (13/15)	83–175	41,0	34,8–60,0	66,7 (2/3)	83–151	46,0	44,0–48,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100,0 (15/15)	44–135	21,0	17,4–25,3	100,0	44–105	29,3	24,5–36,8
<i>Listeria monocytogenes</i>	100,0 (15/15)	121–251	17,1	15,5–19,3	100,0	121–251	19,2	17,7–20,3
<i>Clostridium tertium</i>	100,0 (15/15)	24	12,5	11,4–13,5	100,0	24	14,8	14,1–16,0
<i>Clostridium septicum</i>	50,0 (20/40)	25–146	31,7	13,9–62,4	40,0 (2/5)	90–146	43,4	17,1–69,6
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	60,0 (12/20)	49–296	50,9	34,4–79,2	25,0 (1/4)	81–296	44,7	–

* Jei išgavimas yra mažesnis nei 100,0 %, rekomenduojama pridėti kraujo, pvz., sterilus defibrinuoto arklio kraujo (10,0 % v/v).¹¹

Išgavimas naudojant kai kurias rūšis yra mažesnis nei 100 %, pavyzdžiui, *Capnocytophaga ochracea*, *Cardiobacterium hominis*, *Haemophilus parainfluenzae*, ir *Granulicatella adiacens*.

Klinikinių tyrimų rezultatai (kraujo pasėliai)

Rezultatuose lyginami BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN kraujo pasėliai (visos atitinkančios poros).

Trijose skirtingose įstaigose JAV atliktas daugiacentris klinikinis tyrimas, kuriame lygintos BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN anaerobinio pasėlio buteliukų, į kuriuos įpilta nuo 6 ml iki 10 ml kraujo (atitinkančios poros), charakteristikos. Iš 1080 suaugusių pacientų, kuriems įtariamos bakterinės ar mieliagybių kraujo infekcijos, gautos 2514 anaerobinių buteliukų poros. Kai BACT/ALERT® sistema nustatydavo, kad nors vienas buteliukas yra teigiamas, abu buteliukai būdavo subkultivuojami. Buteliukai buvo laikomi teigiamais, kai arba BACT/ALERT® FN Plus, arba BACT/ALERT® FN pasėlių buteliukų subkultūros buvo teigiamos. Pasėlio buteliukas buvo laikomas „tikrai teigiamu“, jei BACT/ALERT® sistema nustatydavo teigiamą pasėlį, o šį buteliuką subkultivuojant augo izoliatai. Apskaičiuoti BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN pasėlio buteliukų tikrųjų teigiamų rezultatų dažniai, o charakteristikoms palyginti apskaičiuoti BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN pasėlio buteliukų tikrųjų teigiamų rezultatų santykiai. Klinikinio tyrimo centruose išgauti klinikiniai izoliatai klasifikuoti kaip reikšmingi, užkrečiami arba nežinomi.

Iš visų tinkamų teigiamų anaerobinių kraujo kultūrų porų išgauta 312 izoliatų. Iš 289 BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN pasėlio buteliukų porų subkultivuojant išgautas bent vienas izoliatas. Iš viso iš 266 buteliukų porų išgauta po vieną izoliatą, o iš 23 buteliukų porų išgauta po du izoliatus. Bendrąją 3 lentelėje pateiktą populiaciją sudaro 312 izoliatų, atkurtų iš teigiamų buteliukų porų, ir 2225 neigiamų buteliukų porų, iš viso 2537 rezultatų. BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 282 izoliatai, o BACT/ALERT® FN pasėlio buteliukuose – 192 izoliatai. Iš jų BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 202 reikšmingi izoliatai, o BACT/ALERT® FN pasėlio buteliukuose – 150 izoliatų. Subkultivuojant teigiamus BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukus nustatyti trys klaidingai teigiami rezultatai, jie sudarė 0,12 % (3/2537) tyrimo populiacijos.

Toliau pateiktose lentelėse palyginami tinkamų BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN kraujo pasėlio buteliukų, kuriuos subkultivuojant gautas bet koks skaičius izoliatų (3 lentelė), vienas izoliatas (4 lentelė) ir keli izoliatai (5 lentelė), rezultatai.

3 lent.: Visos tinkamos poros, pavieniai ir keli izoliatai kartu (kraujo pasėliai)

Klinikinis izoliato apibrėžimas	BACT/ALERT® FN Plus tikrai teigiami	BACT/ALERT® FN Plus % tikrai teigiamų rezultatų populiacijoje	BACT/ALERT® FN tikrai teigiami rezultatai	BACT/ALERT® FN tikrai teigiamų rezultatų %	Tikrai teigiamų rezultatų santykis*
Reikšmingas	202	8,0 (202/2537)	150	5,9 (150/2537)	1,347
Užkrečiamas	58	2,3 (58/2537)	30	1,2 (30/2537)	1,933
Nežinoma	22	0,9 (22/2537)	12	0,5 (12/2537)	1,833
Iš viso	282	11,1 (282/2537)	192	7,6 (192/2537)	1,469

* Tiek BACT/ALERT® FN Plus, tiek BACT/ALERT® FN aptikti vienas šimtas šešiasdešimt du (162) izoliatai, 120 aptikti tik BACT/ALERT® FN Plus, o 30 – tik BACT/ALERT® FN. Tikrai teigiamų ir bendrųjų izoliatų santykis buvo 1,469 (282/192), esant 95 % PI (1,317, 1,621).¹²

4 lent.: Visos tinkamos poros su pavieniais izoliatais (kraujo pasėliai)

Klinikinis apibrėžimas	BACT/ALERT® FN Plus tikrai teigiami	BACT/ALERT® FN tikrai teigiami rezultatai	Tikrai teigiamų rezultatų santykis*
Reikšmingas	177	133	1,331
Užkrečiamas	51	27	1,889
Nežinoma	15	9	1,667
Iš viso	243	169	1,438

¹¹ Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th ed. 2006, pp. 446,590.

¹² Kondratovich M. Comparing Two Medical Tests When Results of Reference Standard Are Unavailable for Those Negative via Both Tests. *J. Biopharm Stat* 2008;18:1,145-166.

* Tiek BACT/ALERT® FN Plus, tiek BACT/ALERT® FN aptikti vienas šimtas keturiasdešimt šeši (146) izoliatai, 97 aptikti tik BACT/ALERT® FN Plus, o 23 – tik BACT/ALERT® FN. Tikrai teigiamų ir bendrųjų pavienių izoliatų santykis buvo 1,438 (243/169), esant 95 % PI (1,286, 1,590).¹³

5 lent.: Visos tinkamos poros su keliais izoliatais (kraujo pasėliai)

Klinikinis apibrėžimas	BACT/ALERT® FN Plus tikrai teigiami	BACT/ALERT® FN tikrai teigiami rezultatai	Tikrai teigiamų rezultatų santykis*
Reikšmingas	25	17	1,471
Užkrečiamas	7	3	2,333
Nežinoma	7	3	2,333
Iš viso	39	23	1,696

* Tiek BACT/ALERT® FN Plus, tiek BACT/ALERT® FN aptikta šešiolika (16) izoliatų, 23 aptikti tik BACT/ALERT® FN Plus, o septyni – tik BACT/ALERT® FN. Tikrai teigiamų ir bendrųjų kelių izoliatų santykis buvo 1,696 (39/23), esant 95 % CI (1,088, 2,304).¹⁴

Šiame tyrime nustatyta 2218 tinkamų anaerobinių kraujo kultūrų BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN pasėlio buteliukų porų, kurias inkubavus 5 dienas instrumento rezultatai buvo neigiami. Iš šių porų 63 galutinai subkultivuotos – nustatyti septyni klaidingai neigiami BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN pasėlio buteliukų rezultatai; subkultivuotos 848 BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukų poros – nustatyti keturi klaidingai neigiami rezultatai; 1307 buteliukų poros nebuvo subkultivuotos. Rezultatai yra apibendrinti šioje lentelėje.

6 lent.: Anaerobinių sterilių kūno skysčių kultūrų porų klaidingų neigiamų rezultatų, kurių abu buteliukus instrumentas pažymėjo kaip neigiamus, procentinės išraiškos

Subkultivuota BACT/ALERT® FN Plus	Subkultivuota BACT/ALERT® FN	BACT/ALERT® FN Plus klaidingai neigiamų rezultatų % FN Plus	BACT/ALERT® FN klaidingai neigiamų rezultatų %
Taip	Taip	11,1 (7/63)	11,1 (7/63)
Taip	Ne	0,5 (4/848)	–

Iš šių septynių teigiamų subkultūrų, dviejose izoliuoti griežtieji anaerobai (*Acinetobacter baumannii* ir *Pseudomonas aeruginosa*). BACT/ALERT® FN Plus pasėlių buteliukai neskirti griežtiesiems aerobams kraujyje ar įprastai steriliuose kūno skysčiuose aptikti. Pagal galutines subkultūras, bendrasis BACT/ALERT® FN Plus klaidingų neigiamų rezultatų dažnis buvo 1,2 % (11/911), o atmetus griežtuosius aerobus – 1,0 % (9/911).

Palyginamoji mikroorganizmų (izoliatų skaičius), išgautų iš BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN subkultūrų, išeiga pateikta šioje lentelėje.

7 lent.: Palyginamoji mikroorganizmų išeiga (izoliatų skaičius) – kraujo pasėliai

Grupė	BACT/ALERT® FN Plus	BACT/ALERT® FN
Anaerobai*	10	4
Enterobacteriaceae	50	43
<i>Enterococcus</i> spp.	28	19
Mieliagrybiai	0	0
Kiti gramneigiami	6	3
Kiti gramteigiami	9	6
Neigiamos koaguliazės <i>Staphylococcus</i>	93	53

¹³ Kondratovich M. Comparing Two Medical Tests When Results of Reference Standard Are Unavailable for Those Negative via Both Tests. *J. Biopharm Stat* 2008;18:1,145-166.

¹⁴ Kondratovich M. Comparing Two Medical Tests When Results of Reference Standard Are Unavailable for Those Negative via Both Tests. *J. Biopharm Stat* 2008;18:1,145-166.

Grupė	BACT/ALERT® FN Plus	BACT/ALERT® FN
<i>Staphylococcus aureus</i>	65	42
<i>Streptococcus spp.</i>	21	22

Pastaba. Į izoliatų lentelę įtraukti polimikrobiniai pasėliai.

*Klinikiniame tyrime išgauti šie anaerobų izoliatai: *Bacteroides caccae* (4), *Bacteroides fragilis* (2), *Lactobacillus spp.* (1), *Peptostreptococcus micros* (1), *Prevotella denticola* (1), *Propionibacterium acnes* (1), *Propionibacterium spp.* (1).

Klinikinių tyrimų rezultatai (sterilių kūno skysčių kultūros)

Keturiuose skirtingose JAV ir Kanados įstaigose atliktas daugiacentris tyrimas, kuriuo palygintos BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN pasėlio buteliukų charakteristikos tiriant sterilių kūno skysčių mėginius. Iš 310 suaugusių pacientų, kuriems įtariamos bakterijų ar mieliagybių sterilių kūno skysčių infekcijos, gautos 339 buteliukų poros. Iš sterilių kūno skysčių vertinti nepertraukiamos ambulatorinės peritoninės dializės (CAPD) skystis, nugaros smegenų skystis (CSF), pilvaplėvės skystis, pleuros skystis ir sąnarių skystis. Klinikinio tyrimo centruose išgauti klinikiniai izoliatai klasifikuoti kaip reikšmingi, užkrečiami arba nežinomi.

Iš visų teigiamų anaerobinių sterilių kūno skysčių kultūrų porų išgauti 77 izoliatai. Iš 61 BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN pasėlio buteliukų porų subkultivuojant išgautas bent vienas izoliatas. Iš viso iš 50 buteliukų porų išgauta po vieną izoliatą, iš septynių buteliukų porų – po du izoliatus, o iš trijų buteliukų porų – po tris izoliatus. Bendrąją 8 lentelėje pateiktą populiaciją sudaro 77 izoliatai, išgauti iš teigiamų buteliukų porų ir 278 neigiamų buteliukų porų, iš viso 355 rezultatai. BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 72 izoliatai, o BACT/ALERT® FN pasėlio buteliukuose – 59 izoliatai. Iš jų BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 52 reikšmingi izoliatai, o BACT/ALERT® FN pasėlio buteliukuose – 50 izoliatų. BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukuose nebuvo nustatytas nei vienas klaidingai teigiamas rezultatas (0/355).

Šioje lentelėje palyginami BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN sterilių kūno skysčių pasėlių, kuriuos subkultivuojant išgauta po vieną ar kelis izoliatus, rezultatai.

8 lent.: Visos poros, vienas ir keli izoliatai kartu (sterilių kūno skysčių pasėliai)

Klinikinis izoliato apibrėžimas	BACT/ALERT® FN Plus tikrai teigiami	BACT/ALERT® FN Plus % tikrai teigiamų rezultatų populiacijoje	BACT/ALERT® FN tikrai teigiami rezultatai	BACT/ALERT® FN tikrai teigiamų rezultatų %	Tikrai teigiamų rezultatų santykis*
Reikšmingas	52	14,6 (52/355)	50	14,1 (50/355)	1,040
Užkrečiamas	12	3,4 (12/355)	2	0,6 (2/355)	6,000
Nežinoma	8	2,2 (8/355)	7	2,0 (7/355)	1,143
Iš viso	72	20,3 (72/355)	59	16,6 (59/355)	1,220

* Tiek BACT/ALERT® FN Plus, tiek BACT/ALERT® FN aptikta penkiasdešimt keturi (54) izoliatai, 18 aptikta tik BACT/ALERT® FN Plus, o penki – tik BACT/ALERT® FN. Iš tikro teigiamų ir bendrųjų izoliatų santykis buvo 1,220 (72/59), esant 95 % CI (1,044, 1,396).⁷

Šioje lentelėje apibendrintas mažiausias mėginio tūris, gautas atliekant anaerobinių sterilių kūno skysčių organizmų klinikinius tyrimus.

9 lent.: BACT/ALERT® FN Plus sterilių kūno skysčių užpildymo tūris (ml) – teigiami rezultatai

Mėginio tipas	Bendras mėginių sk.	Teigiamų sk.	Mažiausias mėginio tūris (ml)
CAPD skystis	75	22	1,0
CSF	24	2	0,1
Pilvaplėvės skystis	106	16	0,3
Pleuros skystis	93	22	0,5
Sąnarių skystis	41	10	0,2
Iš viso	339	72	–

Klinikiniame tyrime nustatytos 277 BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN pasėlio buteliukų poros, kurių abu buteliukus inkubavus 5 dienas instrumento rezultatai buvo neigiami. 166 iš šių porų buvo subkultivuotos, buvo nustatyta 11 klaidingai neigiamų rezultatų naudojant tiek BACT/ALERT® FN Plus, tiek BACT/ALERT® FN. 111 porų buvo subkultivuotos tik naudojant BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukus, nebuvo gauta nei vieno klaidingai neigiamo rezultato. Rezultatai yra apibendrinti šioje lentelėje.

10 lent.: Klaidingai neigiamų rezultatų iš anaerobinių sterilių kūno skysčių pasėlių porų, kurios abiejų instrumentų buvo pažymėtos kaip neigiamos, procentinių reikšmių suvestinė

Subkultivuota BACT/ALERT® FN Plus	Subkultivuota BACT/ALERT® FN	BACT/ALERT® klaidingai neigiamų rezultatų % FN Plus	BACT/ALERT® FN klaidingai neigiamų rezultatų %
Taip	Taip	6,6 (11/166)*	6,6 (11/166)*
Taip	Ne	0,0 (0/111)	–

* Iš šių 11 teigiamų subkultūrų 8 subkultūrose izoliuoti griežtieji aerobai: *Acinetobacter baumannii* (2), *Candida albicans* (1), *Candida parapsilosis* (2), *Cryptococcus neoformans* (1), *Micrococcus* spp. (1), *Pseudomonas aeruginosa* (1).

Pastaba. BACT/ALERT® FN Plus pasėlių buteliukai neskirti griežtiesiems aerobams kraujyje ar įprastai steriliuose kūno skysčiuose aptikti.

Pagal galutines subkultūras, bendrasis BACT/ALERT® FN Plus klaidingų neigiamų rezultatų dažnis buvo 4,0 % (11/277), o atmetus griežtuosius aerobus – 1,1 % (3/277).

Palyginamoji mikroorganizmų (izoliatų skaičiaus), išgautų iš BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN subkultūrų, išėiga pateikta šioje lentelėje.

11 lent.: Palyginamoji mikroorganizmų išėiga (izoliatų skaičius) – sterilių kūno skysčių pasėliai

Grupė	BACT/ALERT® FN Plus	BACT/ALERT® FN
Anaerobai*	6	6
Enterobacteriaceae	9	8
<i>Enterococcus</i> spp.	14	11
Mieliagrybiai	4	2
Kiti gramneigiami	2	1
Kiti gramteigiami	1	0
Neigiamos koaguliazės <i>Staphylococcus</i>	19	16
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	9
<i>Streptococcus</i> spp.	8	6

Pastaba. Į izoliatų lentelę įtraukti polimikrobiniai pasėliai.

* Klinikiniame tyrime išgauti anaerobai: *Bacteroides fragilis* (2: tik 1 BACT/ALERT® FN; 1 BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN), *Clostridium ramosum* (1 BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN), *Clostridium* spp. (1 BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN), *Prevotella loescheii* (1 BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN), *Prevotella melaninogenica* (tik 1 BACT/ALERT® FN Plus), *Veillonella* spp. (1 BACT/ALERT® FN Plus ir BACT/ALERT® FN).

Atliekant klinikinį tyrimą kokybė kontroliuota su visais trimis organizmais (*Bacteroides fragilis*, *Bacteroides vulgatus* ir *Clostridium perfringens*), paruoštais nuosekliai skiedžiant ir sėjant į BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukus, esant 100 KSV buteliuke tikslinei inokuliacijai, kai priimtinas diapazonas buvo 30–300 KSV buteliuke. Gauti priimtini kokybės kontrolės rezultatai. Nepriimtini kokybės kontrolės rezultatai gauti dėl techninių klaidų (t. y. ne pridėta papildoma, į diapazoną nepatenkantis kolonijų skaičius, netinkamas skiediklis, įstaigai nepakeitus buteliuko būsenos instrumentui nustačius, kad subkultūra teigiama, nenaudotos iš anksto redukuotos terpės ar reagentai). Tiriant pakartotinai gauti priimtini rezultatai.

Atidėtas įkėlimas

Šioje lentelėje pateikti 6 rūšių pasėlių tyrimai (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Bacteroides fragilis* ir *Clostridium perfringens*), atlikti trijose įstaigose, tikslinės koncentracijos buvo 100 KSV buteliuke (priimtinas diapazonas – 30–300 KSV buteliuke). Tikrieji inokuliuoto lygiai buvo 41–253 KSV buteliuke. Visi

buteliukai buvo tiriami su žmogaus krauju, paimtu iš sveikų savanorių. Prieš įkeliant į BACT/ALERT® 3D instrumentą, buteliukai nurodytą laiką buvo laikomi nurodytoje temperatūroje. Procentinė išgavimo reikšmė nurodo, kiek buteliukų instrumento pažymėti kaip teigiami ir subkultivuoti su kolonijų morfologija, sutampančia su pasėtu mikroorganizmu.

12 lent.: Atidėtas įkėlimas

Mėginio įdėjimas	Inkubacijos temperatūra (°C)	Laikymo trukmė (valandos)	Išgavimas, %	Laikas iki aptikimo nuo mėginio inokuliacijos (laikymo laikas + instrumento TTD valandomis)	
				Vidurkis	Diapazonas
Inokuliuoti tyrimo buteliukai	Kontrolė	Be atidėjimo	100,0 (89/89)	15,9	9,5–52,8
	2–8	48	100,0 (65/65)	63,3	50,1–90,4
	20–25	24	100,0 (62/62)	34,7	26,0–79,2
	20–25	36	100,0 (62/62)	43,6	38,0–78,6
	35–37	8	100,0 (72/72)	17,7	10,0–53,4
	35–37	24	80,0 (64/80)	28,6	26,0–52,3
Neigiamos kontrolės	Visos sąlygos		0,0 (0/51)	–	–

PERSPĖJIMAS. Pasėlio buteliukuose, 35–37 °C temperatūroje laikytuose 24 valandas ar ilgiau, gali nebūti aptikta mikroorganizmų, todėl juos reikėtų subkultivuoti.

Laboratorijos tikslumas (pakartojamumas)

Šioje lentelėje pateikti vidinių pasėlių tyrimų, atliktų per 12 dienų, skirtingiems operatoriams naudojant skirtingus instrumentus, rezultatai. Mikroorganizmai buvo auginami esant klinikinui požiūriui svarbioms antimikrobinėms medžiagoms, kuriems jie jautrūs, koncentracijoms. Šiame pasėlių tyrime instrumentui pažymėjus BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukus teigiamais, jie subkultivuoti bent 24 valandas. Ištirta mažiausiai 108 kiekvieno organizmo / antimikrobinės medžiagos kombinacijos replikų.

13 lent.: Laboratorijos tikslumas (pakartojamumas)

Mėginio įdėjimas		Diapazonas (KSV buteliuke)	Išgavimas, %				Laikas iki aptikimo (valandos)	
Organizmas	Antimikrobinė medžiaga		1 partija	2 partija	3 partija	Iš viso	Vidurkis	Diapazonas
<i>B. fragilis</i>	Imipenemas	136–406	100,0	100,0	100,0	100,0	36,9	30,2–55,2
<i>C. perfringens</i>	Vankomicinas	75–204	100,0	94,4	100,0	98,2	14,5	11,1–22,0
<i>S. aureus</i>	Oksacilinas	94–158	100,0	100,0	100,0	100,0	17,7	15,1–24,3

Atkartojamumas

Šioje lentelėje pateikti pasėlių tyrimų, atliktų trijose įstaigose, duomenys; kiekvienoje jų per 3 dienas bent du operatoriai pakartojo tyrimus 144 kartus. Vertintas kiekvieno iš aštuonių organizmų atkuriamumas. Vienas organizmas (*S. pneumoniae*) paruoštas nuosekliai skiedžiant, kiti septyni – naudojant BIONALL® produktus. *S. pneumoniae* pasėtas į BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliuką tikslinė 100 KSV inokuliacija, priimtinas diapazonas 30–300 KSV buteliuke, o kiti septyni organizmai – 1–17 KSV buteliuke tiksliniu diapazonu. Tikroji 30–300 KSV buteliuke diapazono inokuliacija buvo 5–500 KSV buteliuke, o 1–17 KSV buteliuke diapazono – 1–270 KSV buteliuke. Procentinė išgavimo reikšmė rodo, kiek buteliukų instrumentas pažymėjo kaip teigiamus, ir dažymo Gramo metodu bei subkultivavimo rezultatai, sutampančių su pasėtu mikroorganizmu.

14 lent.: Atkartojamumas

Mėginio įdėjimas	Išgavimas, %				Laikas iki aptikimo (valandos)		Inokuliacijos diapazonai (CFU buteliuke)
	1 vieta	2 vieta	3 vieta	Iš viso	Vidurkis	Diapazonas	
<i>S. aureus</i>	96,3 % (26/27)	79,2 % (19/24)	100,0 % (33/33)	92,9 % (78/84)	20,2	18,5–35,7	2–12
<i>E. coli</i>	100,0 % (18/18)	79,2 % (19/24)	100,0 % (33/33)	93,3 % (70/75)	12,8	11,4–20,8	2–11
<i>E. faecalis</i>	100,0 % (30/30)	83,3 % (20/24)	97,0 % (32/33)	94,3 % (82/87)	24,6	17,9–30,4	2–15
<i>C. perfringens</i>	100,0 % (18/18)	96,8 % (61/63)	100,0 % (33/33)	98,2 % (109/111)	12,2	10,2–17,3	< 1–122
<i>E. aerogenes</i>	90,0 % (27/30)	75,0 % (18/24)	90,5 % (38/42)	86,5 % (83/96)	14,6	11,9–16,7	1–270*
<i>L. monocytogenes</i>	100,0 % (21/21)	100,0 % (24/24)	100,0 % (33/33)	100,0 % (78/78)	22,8	20,6–37,0	1–13
<i>S. enterica</i>	100,0 % (24/24)	79,2 % (19/24)	100,0 % (30/30)	93,6 % (73/78)	13,3	12,4–14,4	1–16
<i>S. pneumoniae</i>	100,0 % (30/30)	100,0 % (36/36)	100,0 % (18/18)	100,0 % (84/84)	17,5	13,3–23,1	5–500
Iš viso	98,0 % (194/198) 95 % PI: 94,9 %, 99,5 %	88,9 % (216/243) 95 % PI: 84,3 %, 92,6 %	98,0 % (247/252) 95 % PI: 95,4 %, 99,4 %	94,8 % (657/693) 95 % PI: 92,9 %, 96,3 %	–		

* 270 KSV buteliuke skaičius gautas nuosekliai skiedžiant.

Šiuos duomenis sudaro pakartotiniai tyrimai, atlikti dėl vienos įstaigos laboratorijos klaidų (t. y. užterštų butelių ar reagentų, į diapazoną nepatenkančio kolonijų skaičiaus ir įstaigai nepakeitus buteliuko būsenos instrumentui nustačius, kad subkultūra teigiama). Atmetus laboratorijos klaidas, atkuriamumas buvo 100 %, išskyrus *E. aerogenes*, kurio bendrasis atkuriamumas visuose centruose buvo 96,3 %.

BACT/ALERT® VIRTUO® mikroorganizmų aptikimo sistemos**Galimos trukdančios medžiagos**

Vidiniai pasėlių tyrimai atlikti su smegenų skysčiu, pleuros skysčiu, sąnarių skysčiu, plazma, krauju ir kraujo krešuliais. Į kiekvieną šių skysčių alikvotinę dalį pridėta baltųjų kraujo kūnelių, kad būtų gauta koncentracija, nustatoma kiekviename kūno skystyje esant bakteremijai. Tyrimai atlikti su mikroorganizmais ir be jų. Šios medžiagos netrukdo išgauti ir aptikti organizmus bei nelėmė klaidingai teigiamų rezultatų, kai organizmų nėra.

Analitinis jautrumas: aptikimo riba (LoD)

Šioje lentelėje pateikiami vidinių pasėlių tyrimų rezultatų duomenys. Mažiausiai 60 BACT/ALERT® FN Plus butelių buvo ištirta pagal rūšis. Ties LoD aptikimas buvo bent 95 %. Į *B. fragilis* ar *S. pneumoniae* inokuliuotus BACT/ALERT® FN Plus pasėlio butelius įpilta 4 ml arba 1 ml žmogaus kraujo, gauto iš sveikų suaugusiųjų.

15 lent.: Analitinis jautrumas: aptikimo riba (LoD)

Mikroorganizmas	Padermės ID	BACT/ALERT® VIRTUO® (KSV buteliuke)
<i>Bacteroides fragilis</i>	ATCC® 25285™	4
<i>Clostridium perfringens</i>	NCTC 8798	4
<i>Enterococcus faecalis</i>	NCTC 12697	3

Mikroorganizmas	Padermės ID	BACT/ALERT® VIRTUO® (KSV buteliuke)
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 12923	4
<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC 10788	6
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC® 6305™	5

Atidėtas įkėlimas

Šioje lentelėje pateikti 6 rūšių pasėlių tyrimai (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Bacteroides fragilis* ir *Clostridium perfringens*), tikslinės koncentracijos buvo ≤ 100 KSV buteliuke. Tikrieji inokuliuoti lygiai buvo 9–84 KSV buteliuke. Buteliukai buvo tiriami be kraujo ir su 4 ml bei 10 ml žmogaus kraujo, paimto iš sveikų savanorių. Prieš įkeliant į BACT/ALERT® VIRTUO® instrumentą, buteliukai nurodytą laiką buvo laikomi nurodytoje temperatūroje. Procentinė išgavimo reikšmė nurodo, kiek buteliukų instrumento pažymėti kaip teigiami, ir subkultūrą su kolonijų morfologija, sutampančia su pasėtu mikroorganizmu.

16 lent.: Atidėtas įkėlimas

Mėginio įdėjimas	Inkubacijos temperatūra (°C)	Laikymo trukmė (valandos)	Išgavimas, %	Laikas iki aptikimo nuo mėginio inokuliuavimo (laikymo laikas + instrumento TTD valandomis)	
				Vidurkis	Diapazonas
Inokuliuoti tyrimo buteliukai	Kontrolė	Be atidėjimo	100,0 (144/144)	16,0	9,1–40,5
	2–8	48	100,0 (141/141)	65,1	56,9–87,5
	20–25	24	100,0 (143/143)	37,0	27,5–78,8
	20–25	36	100,0 (141/141)	48,1	37,9–130,1
	35–37	8	100,0 (143/143)	18,9	10,8–37,4
Neigiamos kontrolės	Visos sąlygos		0,0 (0/30)	–	–

PERSPĖJIMAS. Prieš įkeliant į instrumentą, kambario temperatūroje ilgiau kaip 24 valandas laikomi pasėlio buteliukai gali neaptikti mikroorganizmų, todėl juos reikia subkultivuoti.

Laboratorijos tikslumas (pakartojamumas)

Šioje lentelėje pateikti vidinių pasėlių tyrimų, vykdytų 20 dienų, skirtingiems operatoriams naudojant skirtingus instrumentus, rezultatai. Kiekvienas mikroorganizmas ir tiriamą partiją iširta mažiausiai 60 kartų. Buteliukai buvo tiriami be kraujo, nebent nurodyta kitaip.

17 lent.: Laboratorijos tikslumas (pakartojamumas)

Mėginio įvestis – organizmai	Diapazonas (KSV buteliuke)	Išgavimas, %				Laikas iki aptikimo (valandos)	
		1 partija	2 partija	3 partija	Iš viso	Vidurkis	Diapazonas
<i>Bacteroides fragilis</i> *	4–33	100,0 (162/162)	100,0 (163/163)	100,0 (60/60)	100,0 (385/385)	24,5	21,8–26,7
<i>Clostridium perfringens</i>	4–16	99,4 (179/180)	99,4 (177/178)	100,0 (60/60)	99,5 (416/418)	9,9	8,4–14,5
<i>Enterococcus faecalis</i>	3–16	100,0 (160/160)	100,0 (157/157)	100,0 (60/60)	100,0 (377/377)	19,9	18,2–21,8
<i>Escherichia coli</i>	4–20	100,0 (154/154)	100,0 (153/153)	100,0 (60/60)	100,0 (367/367)	9,1	8,3–10,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	5–17	100,0 (171/171)	100,0 (171/171)	100,0 (60/60)	100,0 (402/402)	17,4	15,4–19,9
<i>Streptococcus pneumoniae</i> *	1–29	100,0 (162/162)	100,0 (162/162)	100,0 (60/60)	100,0 (384/384)	14,5	12,4–20,2

* Iširta su 1 ml krauju.

BACT/ALERT® 3D ir BACT/ALERT® VIRTUO® sistemų lyginamieji duomenys

Analitinis jautrumas: augimas

Šiose lentelėse pateikti duomenys rodo vidinių pasėlių tyrimų be krauju ir su krauju (4 ir 10 ml), paimtu iš sveikų žmonių donorų, rezultatus. Iširta viena padermė, kiekvienos rūšies tikslinis inokuliacijos lygis buvo ≤ 30 KSV buteliuke. Tikrieji inokuliacijos lygiai buvo 3–27 KSV buteliuke tiek naudojant BACT/ALERT 3D®, tiek BACT/ALERT® VIRTUO®. Subkultivuoti du teigiami buteliukai mikroorganizmui, siekiant įvertinti grynumą. Toliau išvardytos rūšys atspindi kliniškai dominuojančius organizmus kraujo kultūrose ir steriliuose kūno skysčiuose.

18 lent.: Analitinis jautrumas: Augimas BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D buteliukuose, iširtas su krauju

Mikroorganizmas	BACT/ALERT® FN Plus BACT/ALERT® VIRTUO® – tirta su krauju				BACT/ALERT® FN Plus BACT/ALERT® 3D – tirta su krauju			
	Išgavimo % (n)	Vidutiniškai KSV buteliuke	Iki aptikimo likęs laikas		Išgavimo % (n)	Vidutiniškai KSV buteliuke	Iki aptikimo likęs laikas	
			Vidurkis	Diapazonas			Vidurkis	Diapazonas
<i>Bacteroides fragilis</i>	100,0 (16/16)	3	30,0	25,8–36,0	100,0 (15/15)	3	32,5	27,6–45,6
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	100,0 (9/9)	21	39,9	32,4–58,9	100,0 (13/13)	21	46,3	36,7–67,9
<i>Bacteroides vulgatus</i>	100,0 (13/13)	14	30,9	24,1–49,4	100,0 (15/15)	14	31,5	26,9–34,6
<i>Clostridium perfringens</i>	100,0 (18/18)	27	9,7	9,0–11,0	100,0 (18/18)	27	12,9	12,2–14,2
<i>Clostridium septicum</i>	100,0 (18/18)	14	11,2	9,8–14,9	100,0 (18/18)	14	15,4	13,7–22,3
<i>Eggerthella lenta</i>	100,0 (18/18)	18	33,5	27,9–43,2	88,9* (16/18)	18	35,0	32,6–40,1
<i>Enterococcus faecalis</i>	100,0 (18/18)	11	11,8	10,5–13,1	100,0 (18/18)	11	14,7	13,0–25,0
<i>Escherichia coli</i>	100,0 (18/18)	9	9,2	8,6–9,5	100,0 (18/18)	9	11,3	11,0–12,0
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	100,0 (18/18)	13	53,0	29,3–67,5	46,2 (6/13)	13	81,0	43,4–108,5
<i>Parvimonas micra</i>	100,0 (18/18)	24	38,1	33,9–41,6	100,0 (18/18)	24	46,3	43,9–50,6
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	100,0 (18/18)	7	48,9	38,8–61,7	100,0 (18/18)	7	53,2	49,2–62,9
<i>Staphylococcus aureus</i>	100,0 (18/18)	14	17,4	16,0–19,1	100,0 (18/18)	15	20,9	18,5–22,8
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100,0 (18/18)	22	14,2	12,3–23,0	100,0 (18/18)	22	16,4	15,1–25,4
<i>Streptococcus pyogenes</i>	100,0 (18/18)	16	11,4	10,1–13,9	100,0 (18/18)	16	14,0	12,0–16,6

* Subkultivavus neigiamus buteliukus į kietą terpę, stebėtas grynas augimas.

19 lent.: Analitinis jautrumas: Augimas BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D buteliukuose, iširtas be krauju

Mikroorganizmas	BACT/ALERT® FN Plus BACT/ALERT® VIRTUO® – tirta be krauju				BACT/ALERT® FN Plus BACT/ALERT® 3D – tirta be krauju			
	Išgavimo % (n)	Vidutiniškai KSV buteliuke	Iki aptikimo likęs laikas		Išgavimo % (n)	Vidutiniškai KSV buteliuke	Iki aptikimo likęs laikas	
			Vidurkis	Diapazonas			Vidurkis	Diapazonas
<i>Bacteroides fragilis</i>	100,0 (6/6)	3	39,1	36,9–44,7	100,0 (10/10)	9	43,4	39,8–47,3
<i>Clostridium perfringens</i>	100,0 (9/9)	27	10,1	8,9–10,9	100,0 (9/9)	27	12,5	12,0–13,0
<i>Clostridium septicum</i>	100,0 (8/8)	14	20,9	18,6–22,3	100,0 (9/9)	14	26,3	25,7–26,6
<i>Eggerthella lenta</i>	100,0 (9/9)	18	31,2	27,7–33,9	100,0 (9/9)	18	33,4	31,0–34,8
<i>Enterococcus faecalis</i>	100,0 (9/9)	11	22,0	19,6–23,7	100,0 (9/9)	11	26,1	24,5–27,8
<i>Escherichia coli</i>	100,0 (9/9)	9	9,4	9,0–9,7	100,0 (9/9)	9	11,8	11,3–12,2

Mikroorganizmas	BACT/ALERT® FN Plus BACT/ALERT® VIRTUO® – tirta be kraujo				BACT/ALERT® FN Plus BACT/ALERT® 3D – tirta be kraujo			
	Išgavimo % (n)	Vidutiniškai KSV buteliuke	Iki aptikimo likęs laikas		Išgavimo % (n)	Vidutiniškai KSV buteliuke	Iki aptikimo likęs laikas	
			Vidurkis	Diapazonas			Vidurkis	Diapazonas
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	100,0 (6/6)	13	69,2	58,5–83,4	100,0 (5/5)	13	94,0	73,7–113,5
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	100,0 (8/8)	7	93,5	82,6–111,0	100,0 (6/6)	7	94,0	89,8–99,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	100,0 (9/9)	14	21,9	19,4–26,5	100,0 (9/9)	15	22,4	21,6–23,5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100,0 (9/9)	22	35,4	24,3–44,4	100,0 (9/9)	22	37,3	28,6–42,5
<i>Streptococcus pyogenes</i>	100,0 (9/9)	16	31,5	28,2–34,5	100,0 (9/9)	16	35,4	28,8–41,3

Pastaba. Atlikus *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus* ir *P. micra* išgavimą į BACT/ALERT® FN Plus buteliukus, išbandytą su abiem instrumentais be kraujo, nebuvo gauti suporuotų duomenų rinkiniai. Todėl BACT/ALERT® FN Plus buteliukai be kraujo buvo pašalinti iš šių mikroorganizmų lyginamosios analizės. Žr. 18 lentelę, kurioje pateikiami duomenys tiriant su krauju.

Klinikinių tyrimų rezultatai (kraujo pasėliai)

Pagal rezultatus lyginami BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D su BACT/ALERT® FN Plus buteliukais naudojant kraujo pasėlius (visoms atitinkančioms poroms).

Daugiacentris klininis tyrimas buvo vykdomas trijose skirtingose geografinėse JAV ir Kanados vietovėse, lygintas BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D anaerobinių kultūrų porų augimas, kai kiekvienas buteliukas buvo pripildytas iki 10 ml kraujo, o buteliuko su mažiausiu tūriu kraujo tūris buvo 30 % buteliuko tūrio, kurio tūris didžiausias (atitinkančios poros). Iš 513 suaugusių pacientų, kuriems įtariamos bakterinės ar mieliagybių kraujo infekcijos, gautos 906 buteliukų poros. Kai BACT/ALERT® VIRTUO® sistema arba BACT/ALERT® 3D sistema nustatydavo, kad nors vienas poros buteliukas yra teigiamas, abu buteliukai būdavo subkultivuojami. Buteliukai buvo laikomi teigiamais, kai arba BACT/ALERT® VIRTUO®, arba BACT/ALERT® 3D FN Plus pasėlio buteliukų subkultūros buvo teigiamos. Pasėlio buteliukas buvo laikomas „tikrai teigiamu“, jei BACT/ALERT® VIRTUO® sistema arba BACT/ALERT® 3D sistema pažymėdavo pasėlį kaip teigiamą, o subkultivuojant šį buteliuką augdavo izoliatas. Apskaičiuoti BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus ir BACT/ALERT® 3D FN Plus pasėlio buteliukų tikrai teigiamų rezultatų dažniai, o charakteristikoms palyginti apskaičiuoti BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus ir BACT/ALERT® 3D FN Plus tikrai teigiamų rezultatų santykiai. Klinikinio tyrimo centruose išgauti klinikiniai izoliatai klasifikuoti kaip reikšmingi, užkrečiami arba nežinomi.

Iš visų tinkamų teigiamų anaerobinių kraujo kultūrų porų išgauti 73 izoliatai. Iš 67 BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D FN Plus pasėlio buteliukų porų subkultivuojant išgautas bent vienas izoliatas. Iš viso iš 62 buteliukų porų išgauta po vieną izoliatą, iš 4 buteliukų porų – po du izoliatus, o iš 1 buteliukų poros – po tris izoliatus. Bendrąją 20 lentelėje pateiktą populiaciją sudaro 73 izoliatai, išgauti iš teigiamų buteliukų porų ir 839 neigiamų buteliukų porų, iš viso 912 rezultatų. BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus pasėlio buteliukuose iš viso aptikta 60 izoliatų, o BACT/ALERT® 3D FN Plus pasėlio buteliukuose – 58 izoliatai. BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus pasėlio buteliukuose iš viso aptikta 47 izoliatai, o BACT/ALERT® 3D FN Plus pasėlio buteliukuose – 48 izoliatai. Tyrimo populiacijos 0,22 % (2/912) nustatyti du klaidingai teigiami rezultatai subkultivuojant teigiamus BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus pasėlio buteliukus. Vienas klaidingai teigiamas rezultatas buvo nustatytas subkultivuojant teigiamus BACT/ALERT® 3D FN Plus pasėlio buteliukus, tai sudarė 0,11 % tyrimo populiacijos (1/912).

Toliau pateiktose lentelėse palyginami tinkamų BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D kraujo pasėlio buteliukų (BACT/ALERT® FN Plus), kuriuos subkultivuojant gautas bet koks skaičius izoliatų (20 lentelė), vienas izoliatas (21 lentelė) ir keli izoliatai (22 lentelė), rezultatai.

20 lent.: Kraujo pasėlis – atitinkantis – vienas izoliatas ir keli izoliatai

Klinikinis apibrėžimas	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	Tikrai teigiamų rezultatų santykis	95 % PI (LCL, UCL)
Reikšmingas	47	5,2 (47/912)	48	5,3 (48/912)	0,979	0,823, 1,135
Užkrečiamas	13	1,4 (13/912)	10	1,1 (10/912)	1,300	–
Nežinoma	0	0,0 (0/912)	0	0,0 (0/912)	–	–

Klinikinis apibrėžimas	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	Tikrai teigiamų rezultatų santykis	95 % PI (LCL, UCL)
Iš viso	60	6,6 (60/912)	58	6,4 (58/912)	1,034	0,852, 1,216

21 lent.: Kraujo pasėlis – atitinkantis – pavieniai izoliatai

Klinikinis apibrėžimas	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	Tikrai teigiamų rezultatų santykis	95 % PI (LCL, UCL)
Reikšmingas	39	4,3 (39/901)	43	4,8 (43/901)	0,907	0,757, 1,057
Užkrečiamas	10	1,1 (10/901)	7	0,8 (7/901)	1,429	–
Nežinoma	0	0,0 (0/901)	0	0,0 (0/901)	–	–
Iš viso	49	5,4 (49/901)	50	5,5 (50/901)	0,980	0,786, 1,174

22 lent.: Kraujo pasėlis – atitinkantis – keli izoliatai

Klinikinis apibrėžimas	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	Tikrai teigiamų rezultatų santykis	95 % PI (LCL, UCL)
Reikšmingas	8	72,7 (8/11)	5	45,5 (5/11)	1,600	0,741, 2,459
Užkrečiamas	3	27,3 (3/11)	3	27,3 (3/11)	1,000	–
Nežinoma	0	0,0 (0/11)	0	0,0 (0/11)	–	–
Iš viso	11	100,0 (11/11)	8	72,7 (8/11)	1,375	0,877, 1,873

Palyginamoji mikroorganizmų, išgautų iš BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D, išėiga (izoliatų skaičius) subkultivuojant „BACT/ALERT® FN Plus“ pasėlio buteliukus, pateikta šioje lentelėje.

23 lent.: Palyginamoji mikroorganizmų išėiga (izoliatų skaičius) – kraujo pasėliai

Grupė	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
Anaerobai	1	1
Enterobacteriaceae	22	19
<i>Enterococcus</i> spp.	6	6
Mieliaigrybiai	–	–
Nefermentuojančios gramneigiamos bakterijos	–	–
Kiti gramteigiami	–	–
Neigiamos koaguliazės <i>Staphylococcus</i>	13	11
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	13
<i>Streptococcus</i> spp.	6	8

Pastaba. Į izoliatų lentelę įtraukti polimikrobiniai pasėliai.

Klinikiniame tyrime nustatytos 1085 BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D pasėlio buteliukų poros, kurių abu buteliukus inkubavus 5 dienas instrumento rezultatai buvo neigiami. Iš šių porų 593 poros subkultivuotos ir nustatyta po šešis klaidingai neigiamus BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D pasėlio buteliukų rezultatus; subkultivuotos 3 tik BACT/ALERT® VIRTUO® buteliukų poros ir nenustatyta jokių klaidingai neigiamų rezultatų; 489 buteliukų poros nebuvo

subkultivuotos. Pasėlio buteliukas nustatytas kaip klaidingai neigiamas, jei buteliuko rezultatas buvo neigiamas instrumente, o subkultivuojant buteliuką pastebėtas augimas.

24 lent.: Klaidingai neigiamų rezultatų iš anaerobinių kraujo pasėlių porų, kurios abiejų instrumentų buvo pažymėtos kaip neigiamos, procentinių reikšmių suvestinė

Subkultivuota BACT/ALERT® VIRTUO®	Subkultivuota BACT/ALERT® 3D	Klaidingai neigiami rezultatai BACT/ALERT® VIRTUO®, %	Klaidingai neigiami rezultatai BACT/ALERT® 3D, %
Taip	Taip	1,01 (6/593)	1,01 (6/593)
Taip	Ne	0,00 (0/3)	–

Iš šių šešių teigiamų subkultūrų, dviejų subkultūrų rezultatas buvo izoliatas, kuris yra griežtasis aerobas (*Pseudomonas aeruginosa*). BACT/ALERT® FN Plus pasėlių buteliukai neskirti griežtiesiems aerobams kraujyje ar įprastai steriliuose kūno skysčiuose aptikti. Pagal galutines subkultūras bendrasis BACT/ALERT® VIRTUO® klaidingų neigiamų rezultatų dažnis buvo 1,01 % (6/596), o atmetus griežtuosius aerobus – 0,67 % (4/596).

Klinikinių tyrimų rezultatai (sterilių kūno skysčių pasėliai)

Trijose skirtingose JAV ir Kanados įstaigose atliktas daugiacentris klinikinis tyrimas, kuriuo palygintos BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus ir BACT/ALERT® 3D FN Plus pasėlio buteliukų charakteristikos tiriant sterilių kūno skysčių mėginius. Iš 333 suaugusių pacientų, kuriems įtariamos bakterijų ar mieliagybių sterilių kūno skysčių infekcijos, gautos 419 buteliukų poros. Vertinti sterilūs kūno skysčių tipai: amniono skystis, nepertraukiamos ambulatorinės peritoninės dializės (CAPD) skystis, smegenų skystis (CSF), dubens skystis, perikardinis skystis, pilvaplėvės skystis, pleuros skystis ir sąnarių skystis. Klinikinio tyrimo centruose išgauti klinikiniai izoliatai klasifikuoti kaip reikšmingi, užkrečiami arba nežinomi.

Iš visų teigiamų anaerobinių sterilių kūno skysčių kultūrų porų išgauti 67 izoliatai. Iš 52 BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus arba BACT/ALERT® 3D FN Plus pasėlio buteliukų porų subkultivuojant išgautas bent vienas izoliatas. Iš viso iš 42 buteliukų porų išgauta po vieną izoliatą, iš 6 buteliukų porų išgauta po du izoliatus, iš 3 buteliukų porų – po tris izoliatus, iš 1 buteliukų poros – po keturis izoliatus. Bendrąją toliau lentelėje pateiktą populiaciją sudaro 67 izoliatų, išgautų iš teigiamų buteliukų porų, ir 370 neigiamos buteliukų poros, iš viso 437 rezultatai. BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 52 izoliatai, o BACT/ALERT® 3D FN Plus pasėlio buteliukuose – 52 izoliatai. BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 39 izoliatai, o BACT/ALERT® 3D FN pasėlio buteliukuose – 38 izoliatai. Tyrimo populiacijoje nenustatyta jokių klaidingai teigiamų rezultatų subkultivuojant teigiamus BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus pasėlio buteliukus (0/437). Tyrimo populiacijoje nenustatyta jokių klaidingai teigiamų rezultatų subkultivuojant teigiamus BACT/ALERT® 3D FN Plus pasėlio buteliukus (0/437).

Toliau lentelėje palyginami BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus ir BACT/ALERT® 3D FN Plus sterilių kūno skysčių pasėlių, kuriuos subkultivuojant išgauta po vieną ar kelis izoliatus, rezultatai.

25 lent.: Sterilūs kūno skysčiai – pavieniai ir keli izoliatai

Klinikinis apibrėžimas	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	Tikrai teigiamų rezultatų santykis	95 % PI (LCL, UCL)
Reikšmingas	39	8,9 (39/437)	38	8,7 (38/437)	1,026	0,838, 1,214
Užkrečiamas	9	2,1 (9/437)	8	1,8 (8/437)	1,125	–
Nežinoma	4	0,9 (4/437)	6	1,4 (6/437)	0,667	–
Iš viso	52	11,9 (52/437)	52	11,9 (52/437)	1,000	0,794, 1,206

Palyginamoji mikroorganizmų, išgautų iš BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D, išveiga (izoliatų skaičius) subkultivuojant BACT/ALERT® FN Plus pasėlio buteliukus, pateikta 26 lentelėje, o teigiamų mėginių skaičius pagal skysčio tipą pateiktas 27 lentelėje.

26 lent.: Palyginamoji mikroorganizmų išėiga (izoliatų skaičius) – sterilių kūno skysčių pasėliai

Grupė	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
Anaerobai	4	2
Enterobacteriaceae	14	15
<i>Enterococcus</i> spp.	6	8
Mieliagrybiai	2	0
Nefermentuojančios gramneigiamos bakterijos	2	2
Kiti gramteigiami	1	1
Neigiamos koaguliazės <i>Staphylococcus</i>	9	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	5
<i>Streptococcus</i> spp.	9	12

Pastaba. Į izoliatų lentelę įtraukti polimikrobiniai pasėliai.

27 lent.: Teigiamų mėginių skaičius – sterilių kūno skysčių pasėliai

Sterilių kūno skysčių tipas	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
CAPD	2	2
Perikardo	1	1
Pilvaplėvės	19	21
Pleuros	21	16
Sąnarių	3	4

Klinikiniame tyrime nustatytos 367 BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D pasėlio buteliukų poros, kurių abu buteliukus inkubavus 5 dienas instrumento rezultatai buvo neigiami. Iš šių porų galutinai subkultivuotos 293 poros, aptikti šeši klaidingai neigiami rezultatai naudojant tiek BACT/ALERT® VIRTUO®, tiek BACT/ALERT® 3D; 10 poras subkultivavus tik BACT/ALERT® VIRTUO® buteliukuose jokių klaidingai neigiamų rezultatų neaptikta; subkultivavus 4 poras tik BACT/ALERT® 3D buteliukuose, jokių klaidingai neigiamų rezultatų neaptikta; 60 buteliukų porų nebuvo subkultivuotos. Pasėlio buteliukas nustatytas kaip klaidingai neigiamas, jei buteliuko rezultatas buvo neigiamas instrumente, o subkultivuojant buteliuką pastebėtas augimas.

28 lent.: Klaidingai neigiamų rezultatų iš anaerobinių sterilių kūno skysčių pasėlių porų, kurios abiejų instrumentų buvo pažymėtos kaip neigiamos, procentinių reikšmių suvestinė

Subkultivuota BACT/ALERT® VIRTUO®	Subkultivuota BACT/ALERT® 3D	Klaidingai neigiami rezultatai BACT/ALERT® VIRTUO®, %	Klaidingai neigiami rezultatai BACT/ALERT® 3D, %
Taip	Taip	2,05 (6/293)	2,05 (6/293)
Taip	Ne	0,00 (0/10)	–
Ne	Taip	–	0,00 (0/4)

Visos šešios teigiamos subkultūros išskyrė izoliatus, kurie yra griežtieji aerobai (*Achromobacter denitrificans* ir *Achromobacter xylosoxidans* [2], *Candida albicans* [1], *Candida albicans* ir *Candida dubliniensis* [1], *Candida krusei* [2]). BACT/ALERT® FN Plus pasėlių buteliukai neskirti griežtiesiems aerobams kraujyje ar įprastai steriliuose kūno skysčiuose aptikti. Pagal galutines subkultūras bendrasis BACT/ALERT® VIRTUO® klaidingų neigiamų rezultatų dažnis buvo 1,98 % (6/303), o atmetus griežtuosius aerobus – 0 % (0/303).

Klaidingai teigiamų rezultatų suvestinė

Pasėlio buteliukas buvo laikomas klaidingai teigiamu, jeigu BACT/ALERT® VIRTUO® sistema arba BACT/ALERT® 3D sistema pažymėdavo pasėlį kaip teigiamą, o subkultivavus šį buteliuką rezultatas buvo neigiamas. Tyrimo populiaciją sudarė pasėlių poros, kuriose buvo ≤ 10 ml tūrio mėginio. Klaidingai teigiami rezultatai buvo nustatyti subkultivuojant teigiamus

BACT/ALERT® VIRTUO® buteliukus ir teigiamus BACT/ALERT® 3D buteliukus, atitinkančius tyrimo populiacijų proporcijas pagal atitinkamų kraujo pasėlių arba sterilių kūno skysčių pasėlių bendrus skaičius.

29 lent.: Klaidingai teigiamų rezultatų suvestinė

Buteliuko tipas – mėginio tipas	Klaidingai teigiami rezultatai BACT/ALERT® VIRTUO®, %	Klaidingai teigiami rezultatai BACT/ALERT® 3D, %
BACT/ALERT® FN Plus – tirta su krauju	0,17 (2/1181)	0,08 (1/1181)
BACT/ALERT® FN Plus – tirta su steriliu kūno skysčiu	0,00 (0/419)	0,00 (0/419)

RIBOTOJI GARANTIJA

„bioMérieux“ garantuoja, kad gaminys veiks pagal nurodytą naudojimo paskirtį, jei bus griežtai laikomasi visų naudojimo, laikymo ir tvarkymo procedūrų bei atsižvelgiama į eksploataavimo trukmę (jei taikoma) ir atsargumo priemones, išdėstytas naudojimo instrukcijose.

Išskyrus pirmiau aiškiai išreikštą garantiją, „bioMérieux“ šiuo dokumentu atsisako visų garantijų, įskaitant bet kokias numanomas perkamumo arba tinkamumo konkrečiam tikslui ar naudojimo paskirčiai garantijas, ir atsisako tiek tiesioginės, tiek netiesioginės, tiek šalutinės atsakomybės už reagentų, programinės įrangos, instrumentų ir vienkartinį medžiagų („sistema“) naudojimą naudojimo instrukcijose nenurodytais tikslais.

PRIEINAMUMAS

BIOMÉRIEUX BACT/ALERT® FN Plus	100/dėžėje	REF 410852
-----------------------------------	------------	-------------------

Techninės pagalbos JAV kreipkitės į „bioMérieux“ klientų aptarnavimo skyrių telefonu 1-800-682-2666. Ne JAV kreipkitės į vietinį „bioMérieux“ atstovą.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simbolis	Reikšmė
REF	Katalogo numeris
	Gamintojas
	Pagaminimo data
	Temperatūriniai apribojimai
	Snaudoti iki
LOT	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
EC REP	Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje
	Šia puse į viršų

Simbolis	Reikšmė
	In Vitro diagnostinės medicinos priemonė
	Nenaudokite pakartotinai
	Sudėtyje nėra latekso
	Tik JAV: Federaliniai JAV įstatymai apriboja teisę praktikuojantiems gydytojams pardavinėti šią priemonę
	Pripildymo žyma

Naudojimo instrukcijos pridedamos prie rinkinio, jas taip pat galite atsisiųsti iš tinklalapio www.biomerieux.com/techlib

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ

Pakeitimo tipo kategorijos

Net.	Netaikoma (pirmoji publikacija)
Pataisymas	Dokumentų klaidų pataisymas
Techninis pakeitimas	Su produktu susijusios informacijos papildymas, pakeitimas ir (arba) pašalinimas
Administracinis reikalavimas	Naudotojui pastebimų netechninių pakeitimų atlikimas

Pastaba. Nedideli tipografiniai, gramatikos ir formataavimo pakeitimai nėra įtraukti į laidos istoriją.

Leidimo data	Dalies numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2020-08	043785-01	Administracinis pakeitimas	Perėjimas į CMS, įskaitant turinio standartizavimą, jokių techninių pakeitimų.
2017-11	9314506 H	Techniniai pakeitimai:	Mėginio paėmimas ir paruošimas – pastabos dėl buteliuko etiketės pripildymo informacijos įtraukimas
		Administracinis:	Simbolių lentelė – atnaujinimas, įtraukiant naujus gaminio simbolius
2017-04	9313399 E	Techniniai pakeitimai	Papildymas informacija apie VIRTUO®, įskaitant skyrius Tikėtinis vertės, Antimikrobinių medžiagų neutralizavimas ir Tyrimo veikimo charakteristikos (15–29 lentelės)
2016-04	9309504 D	Techniniai pakeitimai:	Reagentai
			<ul style="list-style-type: none"> Informacijos apie sudėtį atnaujinimas Tinkamumo termino paaiškinimas
			Mėginio paėmimas ir paruošimas – perspėjimo apie buteliuko slėgį įtraukimas
			Kokybės kontrolė – perspėjimo, susijusio su LIS ir buteliukų tipų santrumpomis, įtraukimas
		Perspėjimo ir simbolio „Receptinis“ įtraukimas JAV klientams	
Administracinis:	Ribotoji garantija – pareiškimo įtraukimas		
			Simbolių lentelė – atnaujinimas, įtraukiant naujus gaminio simbolius

Leidimo data	Dalies numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2013-04	9305049 C	Techniniai pakeitimai:	Mėginio paėmimas ir paruošimas, Tikėtinios vertės, Antimikrobinių medžiagų neutralizavimas, Tyrimo veikimo charakteristikos: tekstas peržiūrėtas, įtraukta papildoma klinikinių tyrimų informacija apie gaminio charakteristikas
		Administracinis:	Tyrimo apribojimai: po FDA peržiūros pridėti 2, 8 ir 9 apribojimai Reagentai: įspėjimai perkelti į skyrių Tyrimo apribojimai

BIOMERIEUX, BIOMERIEUX logotipas, BACT/ALERT, BIOBALL, FAN ir VIRTUO yra naudojami, registruotieji ir (arba) laukiantys registravimo prekių ženklai, priklausantys „bioMérieux“ ar vienam iš jos filialų ar kompanijų.

Šis produktas gali būti apsaugotas vienu ar keliais patentais, žr. <http://www.biomerieux-usa.com/patents>.

ATCC prekės ženklas ir prekinis pavadinimas bei visi ATCC katalogo numeriai yra „American Type Culture Collection“ prekių ženklai.

CLSI yra registruotasis Clinical and Laboratory Standards Institute prekės ženklas.

Bet kuris kitas pavadinimas ar prekybinis ženklas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.

©BIOMÉRIEUX 2011, 2013, 2016, 2017, 2020

BACT/ALERT® FN Plus**Intended Use**

BACT/ALERT® FN Plus culture bottles are used with BACT/ALERT® Microbial Detection Systems in qualitative procedures for the recovery and detection of anaerobic and facultative anaerobic microorganisms from blood and other normally sterile body fluids.

Summary and Explanation

BACT/ALERT® Microbial Detection Systems are used to determine if microorganisms are present in blood or other normally sterile body fluid samples taken from a patient suspected of having septicemia. The BACT/ALERT® System and culture bottles provide both a microbial detection system and a culture medium with suitable nutritional and environmental conditions for organisms commonly encountered in blood infections and other normally sterile body fluid infections. An inoculated bottle is placed into the instrument where it is incubated and continuously monitored for the presence of microorganisms that will grow in the BACT/ALERT® FN Plus culture bottle.

Note: The information provided applies to all configurations of BACT/ALERT® Microbial Detection Systems, unless otherwise noted.

Principle of the Test

BACT/ALERT® Microbial Detection Systems utilize a colorimetric sensor and reflected light to monitor the presence and production of carbon dioxide (CO₂) dissolved in the culture medium. If microorganisms are present in the test sample, carbon dioxide is produced as the organisms metabolize the substrates in the culture medium. When growth of the microorganisms produces CO₂, the color of the gas-permeable sensor installed in the bottom of each culture bottle changes from blue-green to yellow.¹ The lighter color results in an increase of reflectance units monitored by the system. Bottle reflectance is monitored and recorded by the instrument every 10 minutes.

Reagents

For *in vitro* diagnostic use only.

Caution: Handle specimens and inoculated culture bottles as though capable of transmitting infectious agents. All inoculated culture bottles, specimen collection needles, and blood-drawing devices should be decontaminated according to your institution's procedures.²

BACT/ALERT® FN Plus (color-coded orange) – BACT/ALERT® FN Plus disposable culture bottles contain 40 mL of medium, and ≥1.6 g adsorbent polymeric beads. At time of manufacture, the medium consists of the following reactive components: combination of peptones/biological extracts (≥1.85% w/v), anticoagulant (≥0.083% w/v), vitamins and amino acids (>0.00145% w/v), carbon sources (≥0.45% w/v), trace elements (≥0.0005% w/v) and other complex amino acid and carbohydrate substrates in purified water. Bottles contain an atmosphere of N₂ and CO₂ under vacuum. The composition of the medium may be adjusted to meet specific performance requirements.

¹ Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al. BacT/Alert: an Automated Colorimetric Microbial Detection System. *J Clin Micro* 1990; 28 (7), 1608-1612.

² *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)* 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

Caution: BACT/ALERT® culture bottles contain polycarbonate. Not all disinfectants are intended for use with polycarbonate surfaces and may cause bottle deterioration. Verify disinfectant compatibility with polycarbonate before use on BACT/ALERT® culture bottle surfaces.

Caution: BACT/ALERT® FN Plus culture bottles used to culture non-blood specimens (normally sterile body fluids) or very small blood specimen volumes (0.5 mL or less) will require added blood such as sterile defibrinated horse blood (10.0% v/v) to support growth, particularly for the recovery of fastidious organisms such as *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae*.³

Additional Materials Required

- BACT/ALERT® Microbial Detection Systems
- Blood-drawing device
- Sterile Airway Needle/Subculture Units
- Disposable gloves
- Appropriate biohazard waste containers for materials potentially contaminated with infectious agents
- Alcohol pads or equivalent

Materials Available from bioMérieux

- Blood Collection Adapter Cap
- BACT/ALERT® Microbial Detection Systems
- Sterile Airway Needle/Subculture Units

Storage Instructions

BACT/ALERT® FN Plus culture bottles are ready for use. Store in an upright position protected from direct light at room temperature (15-30°C). An expiration date is printed on each bottle label. Do not inoculate the culture bottles beyond the expiration date indicated. If the bottles are exposed to temperatures less than 15°C, precipitates may form that will disappear when the bottles are warmed to room temperature. Bottles must be at room temperature before use.

Chemical or Physical Indications of Instability

Prior to use, the BACT/ALERT® FN Plus culture bottles should be examined for evidence of damage or deterioration (discoloration). Bottles exhibiting evidence of damage, leakage, or deterioration should be discarded. The medium in undisturbed bottles should be clear, but there may be a slight opalescence or a trace of precipitate due to the anticoagulant SPS or the presence of adsorbent polymeric beads; do not confuse this with turbidity indicative of microbial growth. Do not use a bottle which contains medium exhibiting turbidity, a yellow sensor, or excess gas pressure; these are signs of possible contamination.

Instruments

Review the appropriate BACT/ALERT® Microbial Detection System User Manual before use.

Specimen Collection and Preparation

General Considerations

1. BACT/ALERT® FN Plus culture bottles should be utilized by trained healthcare personnel. Correct specimen collection is extremely important when obtaining blood culture specimens. Refer to Cumitech 1C for the proper specimen collection procedure.⁴
2. Take care to prevent contamination during both bottle preparation and inoculation of the patient sample. Proper skin disinfection is an essential requirement to reduce the incidence of contamination.
3. Although not recommended by bioMérieux, blood may be drawn directly into collection tubes containing SPS. Tubes containing other anticoagulants should never be used for blood culture.⁵

³ Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th ed. 2006, pp. 446,590.

⁴ Baron EJ, Weinstein MP, Dunne Jr. WM, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. 2005. Cumitech 1C, Blood Cultures IV. Coordinating ed., Baron EJ. ASM Press, Washington, DC.

4. bioMérieux recommends that inoculated culture bottles be placed into the BACT/ALERT® Microbial Detection System as soon as possible after collection. If there is an unavoidable delay, inoculated bottles may be maintained at room temperature up to 24 hours before loading into the instrument.
5. Optimal recovery of isolates will be achieved by adding maximum amounts of specimen. Use of lower volumes may adversely affect recovery and/or detection times of some organisms. Do not fill above the bottle's maximum specimen volume of 10 mL. The vacuum in the bottle will usually exceed 10 mL; monitor the volume collected by means of the 5 mL incremental markings on the bottle label.

Bottle Preparation

1. Label the culture bottle with patient information. The icons on the bottle label (☺, #, ☹) can be defined by the user.
2. Remove plastic flip-top from the culture bottle. Prior to inoculation, disinfect the culture bottle top with an alcohol swab or equivalent. Allow to air dry.
3. Clean the selected venipuncture site as recommended by your institution's approved procedure.
4. For inoculation, use needles with a gauge size of 21 or higher (for example 22, 23, or 25). Use of needles with less than a 21 gauge size (for example 16, 18, 19, or 20) may vent the bottle's atmosphere due to larger bore size.

Venipuncture Direct Draw Inoculation Procedure

Note: If inoculating more than one type of BACT/ALERT® blood culture bottle using a butterfly blood collection set and direct draw adapter cap, inoculate first the aerobic culture bottle and then the anaerobic culture bottle so that any oxygen trapped in the tubing will not be transferred to the anaerobic bottle.

Note: Although lower sample volumes can be used, recovery may be improved using a sample volume closer to the recommended 10 mL.^{6,7}

Note: To prevent over inoculation, monitor the blood volume intake into the culture bottle. The target fill-to line on the bottle label may be used to assist in estimating a sample volume of approximately 10 mL. Alternatively, the 5 mL graduations on the bottle label may be used to assist in estimating sample volume.

Note: Monitor the direct draw process closely at all times during collection to assure proper flow is obtained and to avoid flow of the bottle contents into the adapter tubing. Due to the presence of chemical additives in the culture bottle, it is important to prevent possible backflow and subsequent adverse reactions by following all steps below.

1. Hold the culture bottle at a position below the patient's arm with the bottle in an upright position (stopper uppermost).
2. Collect the blood using a butterfly blood collection set and a blood collection adapter cap as recommended by your institution's approved procedure and inoculate directly into the culture bottle at the patient's bedside. Although lower sample volumes can be used, recovery may be improved using a sample volume closer to the recommended 10 mL. To prevent over inoculation, monitor the blood volume intake into the culture bottle, using the 5 mL incremental markings on the bottle label.
3. Release the tourniquet as soon as the blood starts to flow into the culture bottle, or within 2 minutes of application.
4. Do not allow the culture bottle contents to touch the stopper or the end of the needle during the collection procedure.

Caution: A contaminated culture bottle could contain positive pressure, and if used for direct draw, may cause reflux into the patient's vein. Culture bottle contamination may not be readily apparent. Monitor the direct draw process closely to avoid reflux. Do not use a bottle that contains medium exhibiting turbidity, a yellow sensor, or excess gas pressure; these are signs of possible contamination.

5. Transfer the inoculated culture bottle promptly to the testing laboratory.

Syringe Draw Inoculation Procedure

Note: If inoculating more than one type of BACT/ALERT® blood culture bottle using syringe draw, inoculate first the anaerobic culture bottle and then the aerobic culture bottle so that any oxygen trapped in the syringe will not be transferred to the anaerobic bottle. Line demarcations on the bottle label should be used to assist in estimating the sample volume.

⁵ CLSI. *Principles and Procedures for Blood Cultures*; Approved Guideline. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.

⁶ Baron EJ, Weinstein MP, Dunne Jr. WM, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. 2005. Cumitech 1C, Blood Cultures IV. Coordinating ed. Baron EJ. ASM Press, Washington, DC.

⁷ CLSI/NCCLS. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*; Approved Standard—Third Edition. CLSI/NCCLS document M22-A3. Wayne, PA: NCCLS; 2004.

1. Perform venipuncture and blood transfer to the BACT/ALERT® culture bottle according to your institution's established procedures.

Caution: Never force the syringe plunger down during inoculation, as splashing of sample may occur. Remove the syringe when the fill amount is reached, as the vacuum will automatically draw more than the recommended maximum. Puncture the bottle stopper vertically to avoid releasing the vacuum; a bottle without a vacuum should not be inoculated.

2. Transfer the inoculated culture bottle promptly to the testing laboratory.

BACT/ALERT® FN Plus Culture Bottle Test Procedure

Preliminary Comments and Precautions

1. Use disposable gloves and handle inoculated bottles cautiously as though capable of transmitting infectious agents. Consult a physician immediately if contaminated materials are ingested or come in contact with open lacerations, lesions, or other breaks in skin.
2. Immediately clean up any spillage of contaminated material using a 1:10 dilution of 5% sodium hypochlorite. Dispose of the cleaning material by an acceptable method.
3. All inoculated culture bottles, specimen collection needles, and blood-drawing devices should be decontaminated according to your institution's procedures.⁸
4. These bottles should be utilized by trained healthcare personnel.

Caution: For US Only: US Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner.

Procedural Notes and Precautions

1. Great care must be taken to prevent contamination of the patient sample during venipuncture and during inoculation into the culture bottles. Contamination could lead to a specimen being determined positive when a clinically relevant isolate is not actually present.
2. Obtain blood samples prior to initiating antibiotic therapy. If this is not possible, draw blood immediately before administering the next antibiotic dose.
3. If inoculated culture bottles have been delayed in their receipt into the laboratory or have been incubated prior to entry into the BACT/ALERT® instrument, visually inspect for indications of microbial growth. If microbial growth is evident, treat the bottles as positive and do not place in the BACT/ALERT® Microbial Detection System for monitoring.

Laboratory Procedure

Caution: General caution should be taken when subculturing positive culture bottles as they could have been overfilled or contain high gas-producing organisms. Positive culture bottle contents may be under increased internal pressure. Positive culture bottles should be transiently vented before staining or disposal to release any gas produced during microbial metabolism.

1. Visually inspect bottles before testing. Do not use bottles with evidence of damage, leakage, or deterioration. Consider bottles with hemolysis, turbidity, excess gas pressure, yellow sensors, and/or evidence of growth as positive. Smear and subculture. Do not incubate unless smear is negative.
2. After culture bottles have been loaded into the instrument, incubate 5 days or until designated positive.
3. Smear and subculture all positive bottles. If the smear is negative, indicating a possible false positive, the bottle should be reloaded into the instrument until growth of the subculture or redesignation as positive. Bottles that were initially determined false positive and were redesignated positive should be smeared and subcultured.
4. Negative cultures may be checked by smear and/or subculture at some point prior to discarding as negative.
5. Procedures for loading and unloading culture bottles into the appropriate BACT/ALERT® instrument are given in the User Manual.
6. **Do not reuse BACT/ALERT® culture bottles.** Dispose of inoculated BACT/ALERT® culture bottles according to your laboratory protocol. Autoclaving and/or incinerating inoculated BACT/ALERT® bottles is appropriate.⁹

⁸ *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition.* U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

⁹ *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition.* U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

- Utilization of coring devices (i.e., blunt needle) to puncture the septum may result in bottle leakage.

Quality Control

A Certificate of Conformance is available for each lot of culture bottles. If desired, individual laboratories can perform quality control testing of BACT/ALERT® FN Plus culture bottles. Refer to the appropriate BACT/ALERT® User Manual and to CLSI® document M22-A3.¹⁰

Instrument

A BACT/ALERT® Reflectance Standards kit is provided with each BACT/ALERT® 3D instrument and Reflectance Calibration Standards are included with each BACT/ALERT® VIRTUO® instrument for the QC and Calibration procedures. All quality control should be part of normal system maintenance. Refer to the appropriate BACT/ALERT® User Manual for more information.

Caution: If your facility's LIS vendor sends bottle IDs and bottle type abbreviations to the BACT/ALERT® instrument, use the correct bottle type abbreviation to avoid possible false positive or false negative results. For more information, contact your local bioMérieux representative.

Results

Positive or negative culture bottles are determined by decision-making software contained in the BACT/ALERT® Microbial Detection Systems. No action is required until the BACT/ALERT® instrument signals culture bottles positive or negative.

Limitations of the Test

Many variables involved in blood and other normally sterile body fluid culture testing cannot be practically controlled to provide total confidence that results obtained are due solely to proper or improper performance of any culture medium or detection system.

- Patient specimens determined positive by BACT/ALERT® may contain organisms that are positive by smear that will not grow on routine subculturing media. When this is suspected, specimens should be subcultured on special media. Also, BACT/ALERT® positive specimens may contain organisms that are not seen with routine smear methods and may require both specialized smears and subculturing media for detection and recovery.
- It is possible that certain rare, fastidious microorganisms will not grow or may grow slowly in the BACT/ALERT® FN Plus culture bottle growth medium. In addition, on rare occasions, organisms may be encountered that grow in the BACT/ALERT® FN Plus culture bottle growth medium but do not produce sufficient carbon dioxide to be determined positive. If rare, fastidious organisms requiring specialized media and culture conditions are suspected, alternative methods or extended incubation time should be considered for recovery.
- Certain strains of *Peptostreptococcus anaerobius* may be sensitive to the anticoagulant SPS which may result in a lack of growth or low production of CO₂ by these strains if an insufficient amount of sample is inoculated into the culture bottles.
- Infrequently, if there is a very high number of white blood cells present in the sample, the BACT/ALERT® may indicate a culture bottle positive. In this case, the smear and subculture results may be negative.
- Organisms are often few in numbers and may appear intermittently in the blood stream; therefore, several consecutive blood samples should be collected from each patient.
- Promptly remove positive culture bottles when they are signaled by BACT/ALERT® to avoid possible non-viable cultures due to autolysis or other reasons. Certain strains of *Streptococcus pneumoniae* may be particularly prone to autolysis if they are not removed promptly after being signaled positive.
- A Gram-stained smear from a negative bottle may sometimes contain a small number of non-viable organisms that were derived from culture medium components, staining reagents, immersion oil, or glass slides, resulting in a false positive smear.
- bioMérieux recommends that inoculated culture bottles be placed into the BACT/ALERT® Microbial Detection System as soon as possible after collection. But, in the unavoidable cases when there is a delay in bottle receipt by the laboratory, delayed entry information is provided from seeded studies in the "Performance Characteristics of the Test" section.

¹⁰ CLSI®/NCCLS. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*; Approved Standard—Third Edition. CLSI®/NCCLS document M22-A3. Wayne, PA: NCCLS; 2004.

9. Antimicrobial neutralization was not achieved for ceftazidime, ceftriaxone, or cefepime.

Expected Values

1. Percent positive cultures were observed to be 11.1% (range: 8.7%-14.3%) overall and 8.0% (range: 6.4%-9.3%) for significant isolates from three clinical trial sites in BACT/ALERT® FN Plus culture bottles that received 6-10 mL of blood during the BACT/ALERT® FN Plus culture bottle clinical trial conducted with the BACT/ALERT® 3D.
2. Percent positive cultures were observed to be 20.3% (range: 17.0%-25.3%) overall and 14.6% (range: 6.1%-24.1%) for significant isolates from three clinical trial sites in BACT/ALERT® FN Plus culture bottles that received sterile body fluids during the BACT/ALERT® FN Plus culture bottle clinical trial conducted with the BACT/ALERT® 3D.
3. For BACT/ALERT® 3D testing during the BACT/ALERT® VIRTUO® clinical trial, percent positive cultures were observed to be 6.3% (range: 5.1%-6.7%) overall and 5.4% (range: 5.1%-5.8%) for significant isolates from three clinical trial sites in BACT/ALERT® FN Plus culture bottles that received ≤10 mL of blood.
4. For BACT/ALERT® 3D testing during the BACT/ALERT® VIRTUO® clinical trial, percent positive cultures were observed to be 10.5% (range: 7.5%-14.9%) overall and 7.9% (range: 6.9%-10.4%) for significant isolates from three clinical trial sites in BACT/ALERT® FN Plus culture bottles that received sterile body fluids.
5. For the BACT/ALERT® VIRTUO® clinical trial, percent positive cultures were observed to be 6.4% (range: 4.5%-6.8%) overall and 5.2% (range: 4.5%-5.6%) for significant isolates from three clinical trial sites in BACT/ALERT® FN Plus culture bottles that received ≤10 mL of blood.
6. For the BACT/ALERT® VIRTUO® clinical trial, percent positive cultures were observed to be 11.0% (range: 9.8%-13.4%) overall and 8.1% (range: 7.3%-10.4%) for significant isolates from three clinical trial sites in BACT/ALERT® FN Plus culture bottles that received sterile body fluids.
7. Expected percent positives will vary based on factors such as patient population, prevalence of significant organisms, site location, and contamination rates. The expected values provided are based on clinical study data acquired during multiple clinical trials.

Neutralization of Antimicrobials

Neutralization of antimicrobials by adsorbent polymeric beads varies depending upon dosage level and timing of specimen collection. Internal studies tested on the BACT/ALERT® 3D Microbial Detection System have demonstrated that antimicrobials are effectively neutralized by the BACT/ALERT® FN Plus medium based on 100% recovery of the organisms tested. In these tests, antimicrobials were added in clinically relevant concentrations directly to culture bottles during inoculation with susceptible strains of obligate and facultative anaerobic microorganisms. The effectiveness of the antimicrobials was confirmed by parallel testing using a non-neutralizing medium as a control. Studies demonstrated that the following antimicrobials/antimicrobial categories were neutralized by the medium: imipenem, meropenem, oxacillin, glycylicyclines, macrolides, ceftazidime, ceftaroline, aminoglycosides, fluoroquinolones, lincosamides, ketolides, and glycopeptides.

Antimicrobial neutralization was not achieved for ceftazidime, ceftriaxone, or cefepime. Less than complete neutralization was observed for cefotaxime, cefazolin, ampicillin, penicillin, and ertapenem. Cefotaxime was neutralized at ranges of 40% peak serum level (PSL) to 3% PSL depending on the microorganism. Cefazolin was neutralized at ranges of 25% PSL to 5% PSL depending on the microorganism. Ertapenem was neutralized at 5% PSL. Ampicillin was neutralized at 75% PSL for *E. faecalis*. Penicillin was neutralized at 120% PSL for *S. pneumoniae*. No neutralization was observed for *C. perfringens* at 100% PSL of either ampicillin or penicillin.

Antimicrobial neutralization properties are dependent upon the culture bottle material composition and are not determined by the analysis algorithms of the BACT/ALERT® Microbial Detection Systems. Representative antimicrobials selected from several categories of antimicrobial agents were tested on the BACT/ALERT® VIRTUO® Microbial Detection System to confirm neutralization properties of the BACT/ALERT® FN Plus culture bottles. Neutralization was demonstrated for ceftazidime, ceftaroline, Imipenem, Vancomycin, and piperacillin-tazobactam. Testing demonstrated that the instrument system had no impact on culture bottle antimicrobial neutralization properties.

For additional information on antimicrobial agents neutralized by BACT/ALERT® FN Plus culture bottles, contact your local bioMérieux representative.

Performance Characteristics

BACT/ALERT® 3D Microbial Detection Systems

Potentially Interfering Substances

In-house seeded studies were conducted with cerebrospinal fluid, pleural fluid, synovial fluid, plasma, blood, and blood clots. Aliquots of each of these fluids also received white blood cells at concentrations relevant to bacteremia in each given body fluid. Testing was conducted with and without microorganisms. These substances neither interfered with recovery and detection of organisms, nor did they generate false positive results in the absence of organisms.

Analytical Sensitivity: Limit of Detection (LoD)

Data in the following table represent results from in-house seeded studies. A minimum of 30 replicates were tested per species. Data in the following table were generated using bottles at the end of shelf life. Bottles inoculated with *B. fragilis* and *S. pneumoniae* received 1 mL pooled human blood supplementation. At least 95% detection was achieved at LoD.

Table 1: Analytical Sensitivity: Limit of Detection (LoD)

Microorganism	Strain ID	LoD (CFU/bottle)
<i>Bacteroides fragilis</i>	ATCC® 25285™	5
<i>Clostridium perfringens</i>	NCTC 8798	4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC® 13048™	8
<i>Enterococcus faecalis</i>	NCTC 12697	4
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 12923	4
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC® 15313™	6
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC® 14028™	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC 10788	4
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC® 6305™	6

Note: 86.6% of the bottles were subcultured within 30 minutes of being declared positive.

Analytical Sensitivity: Growth Performance

Data in the following table represent results from in-house seeded studies with and without blood obtained from healthy human volunteers. Multiple strains were tested for each species at target inoculum levels of 125 CFU/bottle. The actual inoculum levels ranged from 3-299 CFU/bottle. In this seeded study, the BACT/ALERT® FN Plus culture bottles were subcultured at least 24 hours after being flagged positive by the instrument. The species listed are representatives of clinically prevalent organisms in blood cultures and sterile body fluids.

Table 2: Analytical Sensitivity: Growth Performance

Microorganism	Blood				No Blood			
	% Recovery (n)	Range (CFU/Bottle)	Time to Detection (hours)		% Recovery* (n=3)	Range (CFU/Bottle)	Time to Detection (hours)	
			Mean	Range			Mean	Range
<i>Staphylococcus aureus</i>	100.0 (15/15)	54-150	14.6	12.9-16.7	100.0	116-150	21.8	21.3-22.0
<i>Escherichia coli</i>	100.0 (15/15)	73-254	10.9	10.4-12.4	100.0	73-176	11.6	10.4-12.9
<i>Bacteroides fragilis</i>	100.0 (18/18)	9-154	29.7	24.3-43.6	66.7 (2/3)	19-154	97.2	79.2-115.2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100.0 (15/15)	4-260	16.5	11.5-43.8	100.0	4-25	17.5	16.0-19.3

Microorganism	Blood				No Blood			
	% Recovery (n)	Range (CFU/Bottle)	Time to Detection (hours)		% Recovery* (n=3)	Range (CFU/Bottle)	Time to Detection (hours)	
			Mean	Range			Mean	Range
<i>Clostridium perfringens</i>	100.0 (18/18)	58-210	17.3	12.0-40.1	100.0 (8/8)	76-210	27.1	14.1-35.7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100.0 (15/15)	89-123	11.2	10.4-13.1	100.0	95-123	12.6	12.1-13.4
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	70.6 (12/17)	19-204	74.4	36.0-108.0	75.0 (3/4)	19-116	56.1	41.2-64.8
<i>Streptococcus agalactiae</i>	100.0 (15/15)	14-194	16.9	12.7-28.9	100.0	21-34	25.9	20.5-33.4
<i>Enterococcus faecalis</i>	100.0 (15/15)	63-259	13.7	11.9-19.4	100.0	71-169	22.4	17.8-24.8
<i>Parvimonas micra</i>	80.0 (16/20)	46-154	51.4	37.3-69.6	0.0 (0/4)	46-154	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	100.0 (15/15)	111-200	11.9	11.1-12.5	100.0	111-185	13.0	11.9-14.7
<i>Proteus mirabilis</i>	100.0 (15/15)	36-213	11.4	10.9-12.5	100.0	36-213	11.9	11.5-12.7
<i>Eggerthella lenta</i>	86.7 (13/15)	83-175	41.0	34.8-60.0	66.7 (2/3)	83-151	46.0	44.0-48.0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100.0 (15/15)	44-135	21.0	17.4-25.3	100.0	44-105	29.3	24.5-36.8
<i>Listeria monocytogenes</i>	100.0 (15/15)	121-251	17.1	15.5-19.3	100.0	121-251	19.2	17.7-20.3
<i>Clostridium tertium</i>	100.0 (15/15)	24	12.5	11.4-13.5	100.0	24	14.8	14.1-16.0
<i>Clostridium septicum</i>	50.0 (20/40)	25-146	31.7	13.9-62.4	40.0 (2/5)	90-146	43.4	17.1-69.6
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	60.0 (12/20)	49-296	50.9	34.4-79.2	25.0 (1/4)	81-296	44.7	-

* In case of less than 100.0% recovery, it is recommended to add blood such as sterile defibrinated horse blood (10.0% v/v).¹¹

Less than 100% detection was observed for some species, including *Capnocytophaga ochracea*, *Cardiobacterium hominis*, *Haemophilus parainfluenzae*, and *Granulicatella adiacens*.

Clinical Study Results (Blood Cultures)

Results compare BACT/ALERT® FN Plus to BACT/ALERT® FN blood cultures (for all compliant pairs).

A multi-center clinical study was conducted at three different geographic sites in the U.S. comparing the performance of the BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN blood culture bottles for anaerobic culture pairs that received blood volumes between 6 mL and 10 mL (compliant pairs). A total of 2514 anaerobic bottle pairs were obtained from 1080 adult patients suspected of blood stream bacterial/yeast infections. Subcultures of both bottles were performed when either bottle in the set was determined to be positive by the BACT/ALERT® System. A pair of bottles was determined to have a positive status if subculture of either the BACT/ALERT® FN Plus or BACT/ALERT® FN culture bottle was positive. A culture bottle was determined to be a "True Positive" if the culture was flagged positive by the BACT/ALERT® System and resulted in growth of the isolate upon subculture of this bottle. True positive rates were calculated for the BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN culture bottles, and the ratio of BACT/ALERT® FN Plus true positives to BACT/ALERT® FN true positives was calculated to compare performance. Clinical isolates recovered were classified as significant, contaminant, or unknown based on determination by the clinical trial sites.

A total of 312 isolates were recovered from all compliant anaerobic blood culture pairs with a positive status. There were a total of 289 bottle pairs that recovered at least one isolate by subculture of BACT/ALERT® FN Plus or BACT/ALERT® FN culture bottles. A total of 266 bottle pairs recovered a single isolate and 23 bottle pairs recovered two isolates. The total population reported in Table 3 comprises the 312 isolates recovered from positive bottle pairs and 2225 negative bottle pairs for a total of 2537 results. The BACT/ALERT® FN Plus culture bottle detected a total of 282 isolates compared to the BACT/ALERT® FN culture bottle that detected 192 isolates. Of the significant isolates, the BACT/ALERT® FN Plus culture bottle detected a total of 202 isolates compared to the BACT/ALERT® FN culture bottle that detected 150 isolates. Three false positives were identified by subculture of positive BACT/ALERT® FN Plus culture bottles and comprised 0.12% (3/2537) of the study population.

¹¹ Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th ed. 2006, pp. 446,590.

The following tables compare results of the BACT/ALERT® FN Plus to BACT/ALERT® FN blood cultures for all compliant blood culture bottles that yielded any number of isolates on subculture (Table 3), a single isolate alone on subculture (Table 4), and multiple isolates on subculture (Table 5).

Table 3: All Compliant Pairs with Single and Multiple Isolates Combined (Blood Cultures)

Clinical Isolate Determination	BACT/ALERT® FN Plus True Positives	% of BACT/ALERT® FN Plus True Positives in Population	BACT/ALERT® FN True Positives	% of BACT/ALERT® FN True Positives in Population	Ratio of True Positives*
Significant	202	8.0 (202/2537)	150	5.9 (150/2537)	1.347
Contaminant	58	2.3 (58/2537)	30	1.2 (30/2537)	1.933
Unknown	22	0.9 (22/2537)	12	0.5 (12/2537)	1.833
Total	282	11.1 (282/2537)	192	7.6 (192/2537)	1.469

*One hundred sixty-two (162) isolates were detected by both the BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN, 120 isolates were detected only by BACT/ALERT® FN Plus, and 30 isolates were detected only by BACT/ALERT® FN. The ratio of true positive rates for overall isolates was 1.469 (282/192) with a 95% CI (1.317, 1.621).¹²

Table 4: All Compliant Pairs with Single Isolates (Blood Cultures)

Clinical Determination	BACT/ALERT® FN Plus True Positives	BACT/ALERT® FN True Positives	Ratio of True Positives*
Significant	177	133	1.331
Contaminant	51	27	1.889
Unknown	15	9	1.667
Total	243	169	1.438

*One hundred forty-six (146) isolates were detected by both the BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN, 97 isolates were detected only by BACT/ALERT® FN Plus, and 23 isolates were detected only by BACT/ALERT® FN. The ratio of true positive rates for overall single isolates was 1.438 (243/169) with a 95% CI (1.286, 1.590).¹³

Table 5: All Compliant Pairs with Multiple Isolates (Blood Cultures)

Clinical Determination	BACT/ALERT® FN Plus True Positives	BACT/ALERT® FN True Positives	Ratio of True Positives*
Significant	25	17	1.471
Contaminant	7	3	2.333
Unknown	7	3	2.333
Total	39	23	1.696

*Sixteen (16) isolates were detected by both the BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN, 23 isolates were detected only by BACT/ALERT® FN Plus, and seven isolates were detected only by BACT/ALERT® FN. The ratio of true positive rates for overall multiple isolates was 1.696 (39/23) with a 95% CI (1.088, 2.304).¹⁴

In this clinical study, there were a total of 2218 compliant anaerobic blood culture pairs of BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN culture bottles with negative instrument results for both bottles after 5 days of incubation. Among these pairs,

¹² Kondratovich M. Comparing Two Medical Tests When Results of Reference Standard Are Unavailable for Those Negative via Both Tests. *J. Biopharm Stat* 2008;18:1,145-166.

¹³ Kondratovich M. Comparing Two Medical Tests When Results of Reference Standard Are Unavailable for Those Negative via Both Tests. *J. Biopharm Stat* 2008;18:1,145-166.

¹⁴ Kondratovich M. Comparing Two Medical Tests When Results of Reference Standard Are Unavailable for Those Negative via Both Tests. *J. Biopharm Stat* 2008;18:1,145-166.

terminal subcultures on both bottles were performed for 63 pairs, and seven false negative results by both BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN culture bottles were observed; subculture on BACT/ALERT® FN Plus culture bottles alone was performed for 848 pairs, and four false negative results were observed; both subcultures were not performed for 1307 pairs of bottles. Results are summarized in the following table.

Table 6: Summary of Percent False Negatives from Anaerobic Sterile Fluid Body Culture Pairs That Were Flagged Negative by the Instruments for Both Bottles

Subculture Performed BACT/ALERT® FN Plus	Subculture Performed BACT/ALERT® FN	% False Negative BACT/ALERT® FN Plus	% False Negative BACT/ALERT® FN
Yes	Yes	11.1 (7/63)	11.1 (7/63)
Yes	No	0.5 (4/848)	-

Of these seven positive subcultures, two subcultures yielded isolates that are strict aerobes (*Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*). The BACT/ALERT® FN Plus culture bottle is not intended to detect strict aerobes from blood or other normally sterile body fluids. Overall false negative rate for BACT/ALERT® FN Plus based on a subset of terminal subcultures was 1.2% (11/911) and excluding strict aerobes was 1.0% (9/911).

A comparative yield of microorganisms (number of isolates) recovered on subculture of BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN cultures is presented in the following table.

Table 7: Comparative Yield of Microorganisms (Number of Isolates) – Blood Cultures

Group	BACT/ALERT® FN Plus	BACT/ALERT® FN
Anaerobes*	10	4
Enterobacteriaceae	50	43
<i>Enterococcus</i> spp.	28	19
Yeasts	0	0
Other Gram-Negative	6	3
Other Gram-Positive	9	6
Coagulase-Negative <i>Staphylococcus</i>	93	53
<i>Staphylococcus aureus</i>	65	42
<i>Streptococcus</i> spp.	21	22

Note: Isolate table includes polymicrobial cultures.

*Anaerobic isolates recovered in clinical trial: *Bacteroides caccae* (4), *Bacteroides fragilis* (2), *Lactobacillus* spp. (1), *Peptostreptococcus micros* (1), *Prevotella denticola* (1), *Propionibacterium acnes* (1), *Propionibacterium* spp (1).

Clinical Study Results (Sterile Body Fluid Cultures)

A multi-center clinical study was conducted at four different geographic sites in the U.S. and Canada comparing the performance of the BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN culture bottles with sterile body fluid specimens. A total of 339 bottle pairs were obtained from 310 adult patients suspected of sterile body fluid bacterial/yeast infections. Sterile body fluid types evaluated were continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) fluid, cerebrospinal fluid (CSF), peritoneal fluid, pleural fluid, and synovial fluid. Clinical isolates recovered were classified as significant, contaminant, or unknown based on determination by the clinical trial sites.

A total of 77 isolates were recovered from all anaerobic sterile body fluid culture pairs with a positive status. There were a total of 61 bottle pairs that recovered at least one isolate by subculture of BACT/ALERT® FN Plus or BACT/ALERT® FN culture bottles. A total of 50 bottle pairs recovered a single isolate, seven bottle pairs recovered two isolates, three bottle pairs recovered three isolates, and one bottle pair recovered four isolates. The total population reported in Table 8 comprises the 77 isolates recovered from positive bottle pairs and 278 negative bottle pairs for a total of 355 results. The BACT/ALERT® FN Plus culture bottle detected a total of 72 isolates compared to the BACT/ALERT® FN culture bottle that detected 59 isolates. Of the significant isolates, the BACT/ALERT® FN Plus culture bottle detected a total of 52 isolates compared to the BACT/ALERT® FN culture bottle that detected 50 isolates. No false positives were observed for the BACT/ALERT® FN Plus culture bottle from the study population (0/355).

The following table compares results of the BACT/ALERT® FN Plus to BACT/ALERT® FN sterile body fluid cultures that yielded single or multiple isolates on subculture.

Table 8: All Pairs with Single and Multiple Isolates Combined (Sterile Body Fluid Cultures)

Clinical Isolate Determination	BACT/ALERT® FN Plus True Positives	% of BACT/ALERT® FN Plus True Positives in Population	BACT/ALERT® FN True Positives	% of BACT/ALERT® FN True Positives in Population	Ratio of True Positives *
Significant	52	14.6 (52/355)	50	14.1 (50/355)	1.040
Contaminant	12	3.4 (12/355)	2	0.6 (2/355)	6.000
Unknown	8	2.2 (8/355)	7	2.0 (7/355)	1.143
Total	72	20.3 (72/355)	59	16.6 (59/355)	1.220

* Fifty-four (54) isolates were detected by both BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN, 18 isolates were detected only by BACT/ALERT® FN Plus, and five isolates were detected only by BACT/ALERT® FN. The ratio of true positive rates for overall isolates was 1.220 (72/59) with a 95% CI (1.044, 1.396).⁷

The following table summarizes the minimum specimen volume achieved in anaerobic sterile body fluid clinical trials.

Table 9: BACT/ALERT® FN Plus Sterile Body Fluids Fill Volume (mL) – Positive Status

Specimen Type	Total # of Specimen	# of Positives	Minimum Specimen Volume (mL)
CAPD Fluid	75	22	1.0
CSF	24	2	0.1
Peritoneal Fluid	106	16	0.3
Pleural Fluid	93	22	0.5
Synovial Fluid	41	10	0.2
Total	339	72	-

In this clinical study, there were 277 pairs of BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN culture bottles with negative instrument results for both bottles after 5 days of incubation. Among these pairs, terminal subcultures on both bottles were performed for 166 pairs and 11 false negative results by both BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN culture bottles were observed. Subculture on BACT/ALERT® FN Plus culture bottles alone was performed for 111 pairs and no false negative results were observed. Results are summarized in the following table.

Table 10: Summary of Percent False Negatives from Anaerobic Sterile Body Fluid Culture Pairs That Were Flagged Negative by Both Instruments

Subculture Performed BACT/ALERT® FN Plus	Subculture Performed BACT/ALERT® FN	% False Negative BACT/ALERT® FN Plus	% False Negative BACT/ALERT® FN
Yes	Yes	6.6 (11/166)*	6.6 (11/166)*
Yes	No	0.0 (0/111)	-

* Of these 11 positive subcultures, 8 subcultures yielded isolates that were strict aerobes: *Acinetobacter baumannii* (2), *Candida albicans* (1), *Candida parapsilosis* (2), *Cryptococcus neoformans* (1), *Micrococcus* spp. (1), *Pseudomonas aeruginosa* (1).

Note: The BACT/ALERT® FN Plus culture bottle is not intended to detect strict aerobes from blood or other normally sterile body fluids.

Overall false negative rate for BACT/ALERT® FN Plus based on a subset of terminal subcultures is 4.0% (11/277) and excluding strict aerobes is 1.1% (3/277).

A comparative yield of microorganisms (number of isolates) recovered on subculture of BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN cultures is presented in the following table.

Table 11: Comparative Yield of Microorganisms (Number of Isolates) – Sterile Body Fluid Cultures

Group	BACT/ALERT® FN Plus	BACT/ALERT® FN
Anaerobes*	6	6
Enterobacteriaceae	9	8
<i>Enterococcus</i> spp.	14	11
Yeasts	4	2
Other Gram-Negative	2	1
Other Gram-Positive	1	0
Coagulase-Negative <i>Staphylococcus</i>	19	16
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	9
<i>Streptococcus</i> spp.	8	6

Note: Isolate table includes polymicrobial cultures.

* Anaerobes recovered in clinical trial: *Bacteroides fragilis* (2: 1 BACT/ALERT® FN only; 1 BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN), *Clostridium ramosum* (1 BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN), *Clostridium* spp. (1 BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN), *Prevotella loescheii* (1 BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN), *Prevotella melaninogenica* (1 BACT/ALERT® FN Plus only), *Veillonella* spp. (1 BACT/ALERT® FN Plus and BACT/ALERT® FN).

Quality control was performed during the clinical study on each of the three organisms (*Bacteroides fragilis*, *Bacteroides vulgatus*, and *Clostridium perfringens*), which were prepared using serial dilution and seeded into the BACT/ALERT® FN Plus culture bottle at a target inoculum of 100 CFU/bottle, with an acceptable range of 30-300 CFU/bottle. Overall quality control results were found to be acceptable. Instances where unacceptable quality control results were observed were found to be due to technical errors (i.e., supplement not added, colony counts out of range, incorrect diluent, site failure to change bottle status after positive instrument signal and positive subculture, failure to use pre-reduced media/reagents). Repeat testing resulted in acceptable results.

Delayed Entry

The following table includes results from seeded studies using 6 species (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Bacteroides fragilis*, and *Clostridium perfringens*) at target concentrations of 100 CFU/bottle (acceptable range of 30-300 CFU/bottle) that were generated at three sites. Actual inoculum levels ranged from 41-253 CFU/bottle. All bottles were tested with human blood from healthy volunteers and were held at specified temperatures and times prior to loading into the BACT/ALERT® 3D instrument. Percent recovery reflects bottles flagged positive by the instrument and subcultured with colony morphology consistent with the seeded organism.

Table 12: Delayed Entry

Sample Input	Incubation Temperature (°C)	Hold Time (hours)	% Recovery	Time to Detection from Sample Inoculation (Hold Time + Instrument TTD in hours)	
				Mean	Range
Inoculated Test Bottles	Control	No delay	100.0 (89/89)	15.9	9.5-52.8
	2-8	48	100.0 (65/65)	63.3	50.1-90.4
	20-25	24	100.0 (62/62)	34.7	26.0-79.2
	20-25	36	100.0 (62/62)	43.6	38.0-78.6
	35-37	8	100.0 (72/72)	17.7	10.0-53.4
	35-37	24	80.0 (64/80)	28.6	26.0-52.3
Negative Controls	All conditions		0.0 (0/51)	-	-

Caution: Culture bottles held at 35-37°C for 24 hours or longer before loading may not detect microorganisms and should be subcultured.

Within-Laboratory Precision (Repeatability)

Data in the following table represent results from in-house seeded studies conducted on 12 days on multiple instruments by multiple operators. Organisms were grown in the presence of clinically relevant concentrations of antimicrobials to which they are susceptible. In this seeded study, BACT/ALERT® FN Plus culture bottles were subcultured at least 24 hours after being flagged positive by the instrument. A minimum of 108 replicates were tested for each organism/antimicrobial combination.

Table 13: Within-Laboratory Precision (Repeatability)

Sample Input		Range (CFU/bottle)	% Recovery				Time to Detection (hours)	
Organism	Antimicrobial		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Overall	Mean	Range
<i>B. fragilis</i>	Imipenem	136-406	100.0	100.0	100.0	100.0	36.9	30.2-55.2
<i>C. perfringens</i>	Vancomycin	75-204	100.0	94.4	100.0	98.2	14.5	11.1-22.0
<i>S. aureus</i>	Oxacillin	94-158	100.0	100.0	100.0	100.0	17.7	15.1-24.3

Reproducibility

Data in the following table represent results from seeded studies conducted at three sites using a target of 144 replicates per site on 3 days with a minimum of two operators per site. Reproducibility was evaluated on each of eight organisms. One organism (*S. pneumoniae*) was prepared using serial dilution and the other seven organisms were prepared using BIOBALL® products. *S. pneumoniae* was seeded into the BACT/ALERT® FN Plus culture bottle at a target inoculum of 100 CFU/bottle, with an acceptable range of 30-300 CFU/bottle and the other seven organisms at a target range of 1-17 CFU/bottle. The actual inoculum ranged from 5-500 CFU/bottle for the 30-300 CFU/bottle range, and from 1-270 CFU/bottle for the 1-17 CFU/bottle range. Percent recovery reflects bottles flagged positive by the instrument and Gram-stain/subculture consistent with the seeded organism.

Table 14: Reproducibility

Sample Input	% Recovery				Time to Detection (hours)		Inoculum Ranges (CFU/Bottle)
	Site 1	Site 2	Site 3	Overall	Mean	Range	
<i>S. aureus</i>	96.3% (26/27)	79.2% (19/24)	100.0% (33/33)	92.9% (78/84)	20.2	18.5-35.7	2-12
<i>E. coli</i>	100.0% (18/18)	79.2% (19/24)	100.0% (33/33)	93.3% (70/75)	12.8	11.4-20.8	2-11
<i>E. faecalis</i>	100.0% (30/30)	83.3% (20/24)	97.0% (32/33)	94.3% (82/87)	24.6	17.9-30.4	2-15
<i>C. perfringens</i>	100.0% (18/18)	96.8% (61/63)	100.0% (33/33)	98.2% (109/111)	12.2	10.2-17.3	<1-122
<i>E. aerogenes</i>	90.0% (27/30)	75.0% (18/24)	90.5% (38/42)	86.5% (83/96)	14.6	11.9-16.7	1-270*
<i>L. monocytogenes</i>	100.0% (21/21)	100.0% (24/24)	100.0% (33/33)	100.0% (78/78)	22.8	20.6-37.0	1-13
<i>S. enterica</i>	100.0% (24/24)	79.2% (19/24)	100.0% (30/30)	93.6% (73/78)	13.3	12.4-14.4	1-16
<i>S. pneumoniae</i>	100.0% (30/30)	100.0% (36/36)	100.0% (18/18)	100.0% (84/84)	17.5	13.3-23.1	5-500
Overall	98.0% (194/198) 95% CI: 94.9%, 99.5%	88.9% (216/243) 95% CI: 84.3%, 92.6%	98.0% (247/252) 95% CI: 95.4%, 99.4%	94.8% (657/693) 95% CI: 92.9%, 96.3%	-		

* Plate count of 270 CFU/bottle was arrived at by serial dilution.

These data include repeat testing performed as a result of laboratory errors at a single site (i.e., contaminated bottles/reagents, colony counts out of range and site failure to change bottle status after positive instrument signal and positive subculture). Data excluding the laboratory errors demonstrated 100% recovery with the exception of *E. aerogenes*, which exhibited 96.3% recovery for all sites combined.

BACT/ALERT® VIRTUO® Microbial Detection Systems

Potentially Interfering Substances

In-house seeded studies were conducted with cerebrospinal fluid, pleural fluid, synovial fluid, plasma, blood, and blood clots. Aliquots of each of these fluids also received white blood cells at concentrations relevant to bacteremia in each given body fluid. Testing was conducted with and without microorganisms. These substances neither interfered with recovery and detection of organisms, nor did they generate false positive results in the absence of organisms.

Analytical Sensitivity: Limit of Detection (LoD)

Data in the following table represent results from in-house seeded studies. A minimum of 60 BACT/ALERT® FN Plus bottles were tested per species. At least 95% detection was achieved at LoD. BACT/ALERT® FN Plus culture bottles inoculated with *B. fragilis* or *S. pneumoniae* received 4 mL or 1 mL human blood, obtained from a healthy adult population.

Table 15: Analytical Sensitivity: Limit of Detection (LoD)

Microorganism	Strain ID	BACT/ALERT® VIRTUO® (CFU/bottle)
<i>Bacteroides fragilis</i>	ATCC® 25285™	4
<i>Clostridium perfringens</i>	NCTC 8798	4
<i>Enterococcus faecalis</i>	NCTC 12697	3
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 12923	4
<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC 10788	6
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC® 6305™	5

Delayed Entry

The following table includes results from seeded studies using 6 species (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Bacteroides fragilis*, and *Clostridium perfringens*) at target concentrations of ≤100 CFU/bottle. Actual inoculum levels ranged from 9-84 CFU/bottle. Bottles were tested without and with 4 mL and 10 mL human blood from healthy volunteers and were held at specified temperatures and times prior to loading into the BACT/ALERT® VIRTUO® instrument. Percent recovery reflects bottles flagged positive by the instrument and subculture with colony morphology consistent with the seeded organism.

Table 16: Delayed Entry

Sample Input	Incubation Temperature (°C)	Hold Time (hours)	% Recovery	Time to Detection from Sample Inoculation (Hold Time + Instrument TTD in hours)	
				Mean	Range
Inoculated Test Bottles	Control	No delay	100.0 (144/144)	16.0	9.1-40.5
	2-8	48	100.0 (141/141)	65.1	56.9-87.5
	20-25	24	100.0 (143/143)	37.0	27.5-78.8
	20-25	36	100.0 (141/141)	48.1	37.9-130.1
	35-37	8	100.0 (143/143)	18.9	10.8-37.4
Negative Controls	All conditions		0.0 (0/30)	-	-

Caution: Culture bottles held at room temperature for longer than 24 hours before loading may not detect microorganisms and should be subcultured.

Within-Laboratory Precision (Repeatability)

Data in the following table represent results from in-house seeded studies conducted for 20 days using multiple instruments and tested by multiple operators. A minimum of 60 replicates were tested for each organism and lot tested. Bottles were tested without blood unless otherwise indicated.

Table 17: Within-Laboratory Precision (Repeatability)

Sample Input - Organisms	Range (CFU/bottle)	% Recovery				Time to Detection (hours)	
		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Overall	Mean	Range
<i>Bacteroides fragilis</i> *	4-33	100.0 (162/162)	100.0 (163/163)	100.0 (60/60)	100.0 (385/385)	24.5	21.8-26.7
<i>Clostridium perfringens</i>	4-16	99.4 (179/180)	99.4 (177/178)	100.0 (60/60)	99.5 (416/418)	9.9	8.4-14.5
<i>Enterococcus faecalis</i>	3-16	100.0 (160/160)	100.0 (157/157)	100.0 (60/60)	100.0 (377/377)	19.9	18.2-21.8
<i>Escherichia coli</i>	4-20	100.0 (154/154)	100.0 (153/153)	100.0 (60/60)	100.0 (367/367)	9.1	8.3-10.2
<i>Staphylococcus aureus</i>	5-17	100.0 (171/171)	100.0 (171/171)	100.0 (60/60)	100.0 (402/402)	17.4	15.4-19.9
<i>Streptococcus pneumoniae</i> *	1-29	100.0 (162/162)	100.0 (162/162)	100.0 (60/60)	100.0 (384/384)	14.5	12.4-20.2

* Tested with 1 mL blood.

BACT/ALERT® 3D and BACT/ALERT® VIRTUO® Systems Comparative Data

Analytical Sensitivity: Growth Performance

Data in the following tables represent results from in-house seeded studies with and without blood (4 and 10 mL) obtained from healthy human donors. A single strain was tested for each species at target inoculum levels of ≤30 CFU/bottle. The actual inoculum levels ranged from 3-27 CFU/bottle for both BACT/ALERT® 3D and BACT/ALERT® VIRTUO®. Two positive bottles were subcultured per organism to assess purity. The species listed are representatives of clinically prevalent organisms in blood cultures and sterile body fluids.

Table 18: Analytical Sensitivity: Growth Performance on BACT/ALERT® VIRTUO® and on BACT/ALERT® 3D in Bottles Tested with Blood

Microorganism	BACT/ALERT® FN Plus BACT/ALERT® VIRTUO® - Blood				BACT/ALERT® FN Plus BACT/ALERT® 3D - Blood			
	% Recovery (n)	Average CFU/Bottle	Time to Detection		% Recovery (n)	Average CFU/Bottle	Time to Detection	
			Mean	Range			Mean	Range
<i>Bacteroides fragilis</i>	100.0 (16/16)	3	30.0	25.8-36.0	100.0 (15/15)	3	32.5	27.6-45.6
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	100.0 (9/9)	21	39.9	32.4-58.9	100.0 (13/13)	21	46.3	36.7-67.9
<i>Bacteroides vulgatus</i>	100.0 (13/13)	14	30.9	24.1-49.4	100.0 (15/15)	14	31.5	26.9-34.6
<i>Clostridium perfringens</i>	100.0 (18/18)	27	9.7	9.0-11.0	100.0 (18/18)	27	12.9	12.2-14.2
<i>Clostridium septicum</i>	100.0 (18/18)	14	11.2	9.8-14.9	100.0 (18/18)	14	15.4	13.7-22.3
<i>Eggerthella lenta</i>	100.0 (18/18)	18	33.5	27.9-43.2	88.9* (16/18)	18	35.0	32.6-40.1
<i>Enterococcus faecalis</i>	100.0 (18/18)	11	11.8	10.5-13.1	100.0 (18/18)	11	14.7	13.0-25.0
<i>Escherichia coli</i>	100.0 (18/18)	9	9.2	8.6-9.5	100.0 (18/18)	9	11.3	11.0-12.0
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	100.0 (18/18)	13	53.0	29.3-67.5	46.2 (6/13)	13	81.0	43.4-108.5
<i>Parvimonas micra</i>	100.0 (18/18)	24	38.1	33.9-41.6	100.0 (18/18)	24	46.3	43.9-50.6
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	100.0 (18/18)	7	48.9	38.8-61.7	100.0 (18/18)	7	53.2	49.2-62.9
<i>Staphylococcus aureus</i>	100.0 (18/18)	14	17.4	16.0-19.1	100.0 (18/18)	15	20.9	18.5-22.8
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100.0 (18/18)	22	14.2	12.3-23.0	100.0 (18/18)	22	16.4	15.1-25.4
<i>Streptococcus pyogenes</i>	100.0 (18/18)	16	11.4	10.1-13.9	100.0 (18/18)	16	14.0	12.0-16.6

* Upon subculture of the negative bottles to solid medium, pure growth was observed.

Table 19: Analytical Sensitivity: Growth Performance on BACT/ALERT® VIRTUO® and on BACT/ALERT® 3D in Bottles Tested with No Blood

Microorganism	BACT/ALERT® FN Plus BACT/ALERT® VIRTUO® - No Blood				BACT/ALERT® FN Plus BACT/ALERT® 3D - No Blood			
	% Recovery (n)	Average CFU/Bottle	Time to Detection		% Recovery (n)	Average CFU/Bottle	Time to Detection	
			Mean	Range			Mean	Range
<i>Bacteroides fragilis</i>	100.0 (6/6)	3	39.1	36.9-44.7	100.0 (10/10)	9	43.4	39.8-47.3
<i>Clostridium perfringens</i>	100.0 (9/9)	27	10.1	8.9-10.9	100.0 (9/9)	27	12.5	12.0-13.0
<i>Clostridium septicum</i>	100.0 (8/8)	14	20.9	18.6-22.3	100.0 (9/9)	14	26.3	25.7-26.6
<i>Eggerthella lenta</i>	100.0 (9/9)	18	31.2	27.7-33.9	100.0 (9/9)	18	33.4	31.0-34.8
<i>Enterococcus faecalis</i>	100.0 (9/9)	11	22.0	19.6-23.7	100.0 (9/9)	11	26.1	24.5-27.8
<i>Escherichia coli</i>	100.0 (9/9)	9	9.4	9.0-9.7	100.0 (9/9)	9	11.8	11.3-12.2
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	100.0 (6/6)	13	69.2	58.5-83.4	100.0 (5/5)	13	94.0	73.7-113.5
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	100.0 (8/8)	7	93.5	82.6-111.0	100.0 (6/6)	7	94.0	89.8-99.4
<i>Staphylococcus aureus</i>	100.0 (9/9)	14	21.9	19.4-26.5	100.0 (9/9)	15	22.4	21.6-23.5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100.0 (9/9)	22	35.4	24.3-44.4	100.0 (9/9)	22	37.3	28.6-42.5
<i>Streptococcus pyogenes</i>	100.0 (9/9)	16	31.5	28.2-34.5	100.0 (9/9)	16	35.4	28.8-41.3

Note: Recovery of *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*, and *P. micra* in BACT/ALERT® FN Plus bottles, tested on either instrument without blood, did not yield sets of paired data. Therefore, BACT/ALERT® FN Plus bottles not containing blood were excluded from this comparison analysis for these organisms. Refer to Table 18 for data with blood.

Clinical Study Results (Blood Cultures)

Results compare BACT/ALERT® VIRTUO® to BACT/ALERT® 3D with BACT/ALERT® FN Plus bottles for blood cultures (for all compliant pairs).

A multi-center clinical study was conducted at three different geographic sites in the U.S. and Canada comparing the performance of the BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D for anaerobic culture pairs in which each bottle was filled with up to 10 mL of blood and in which the blood volume of the bottle with the smallest volume was within 30% of that of the bottle with the largest volume (compliant pairs). A total of 906 bottle pairs were obtained from 513 adult patients suspected of blood stream bacterial/yeast infections. Subcultures of both bottles were performed when either bottle in the set was determined to be positive by the BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D System. A pair of bottles was determined to have a positive status if the subculture of either the BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D FN Plus culture bottle was positive. A culture bottle was determined to be a "True Positive" if the culture was flagged positive by the BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D System and resulted in growth of the isolate upon subculture of this bottle. True positive rates were calculated for the BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus and BACT/ALERT® 3D FN Plus culture bottles, and the ratio of BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus true positives to BACT/ALERT® 3D FN Plus true positives was calculated to compare performance. Clinical isolates recovered were classified as significant, contaminant, or unknown based on determination by the clinical trial sites.

A total of 73 isolates were recovered from all compliant anaerobic blood culture pairs with a positive status. There were a total of 67 bottle pairs that recovered at least one isolate by subculture of BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D FN Plus culture bottles. A total of 62 bottle pairs recovered a single isolate, 4 bottle pairs recovered two isolates, and 1 bottle pair recovered three isolates. The total population reported in Table 20 comprises the 73 isolates recovered from positive bottle pairs and 839 negative bottle pairs for a total of 912 results. The BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus culture bottle detected a total of 60 isolates compared to the BACT/ALERT® 3D FN Plus culture bottle that detected 58 isolates. Of the significant isolates, the BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus culture bottle detected a total of 47 isolates compared to the BACT/ALERT® 3D FN Plus culture bottle that detected 48 isolates. Two false positives were identified by subculture of positive BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus culture bottles in the study population 0.22% (2/912). One false positive was identified by subculture of positive BACT/ALERT® 3D FN Plus culture bottles in the study population 0.11% (1/912).

The following tables compare results of the BACT/ALERT® VIRTUO® to BACT/ALERT® 3D blood cultures for all compliant BACT/ALERT® FN Plus blood culture bottles that yielded any number of isolates on subculture (Table 20), a single isolate alone on subculture (Table 21), and multiple isolates on subculture (Table 22).

Table 20: Blood Culture – Compliant – Single And Multiple Isolates

Clinical Determination	BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives	% of BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives in Population	BACT/ALERT® 3D True Positives	% of BACT/ALERT® 3D True Positives in Population	Ratio of True Positives	95% CI (LCL, UCL)
Significant	47	5.2 (47/912)	48	5.3 (48/912)	0.979	0.823, 1.135
Contaminant	13	1.4 (13/912)	10	1.1 (10/912)	1.300	-
Unknown	0	0.0 (0/912)	0	0.0 (0/912)	-	-
Total	60	6.6 (60/912)	58	6.4 (58/912)	1.034	0.852, 1.216

Table 21: Blood Culture – Compliant – Single Isolates

Clinical Determination	BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives	% of BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives in Population	BACT/ALERT® 3D True Positives	% of BACT/ALERT® 3D True Positives in Population	Ratio of True Positives	95% CI (LCL, UCL)
Significant	39	4.3 (39/901)	43	4.8 (43/901)	0.907	0.757, 1.057
Contaminant	10	1.1 (10/901)	7	0.8 (7/901)	1.429	-
Unknown	0	0.0 (0/901)	0	0.0 (0/901)	-	-
Total	49	5.4 (49/901)	50	5.5 (50/901)	0.980	0.786, 1.174

Table 22: Blood Culture – Compliant – Multiple Isolates

Clinical Determination	BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives	% of BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives in Population	BACT/ALERT® 3D True Positives	% of BACT/ALERT® 3D True Positives in Population	Ratio of True Positives	95% CI (LCL, UCL)
Significant	8	72.7 (8/11)	5	45.5 (5/11)	1.600	0.741, 2.459
Contaminant	3	27.3 (3/11)	3	27.3 (3/11)	1.000	-
Unknown	0	0.0 (0/11)	0	0.0 (0/11)	-	-
Total	11	100.0 (11/11)	8	72.7 (8/11)	1.375	0.877, 1.873

A comparative yield of microorganisms (number of isolates) from BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D recovered on subculture of BACT/ALERT® FN Plus culture bottles is presented in the following table.

Table 23: Comparative Yield of Microorganisms (Number of Isolates) – Blood Cultures

Group	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
Anaerobes	1	1
Enterobacteriaceae	22	19
<i>Enterococcus</i> spp.	6	6
Yeasts	-	-
Non-fermentative Gram-Negative Bacilli	-	-
Other Gram-Positive	-	-
Coagulase-Negative <i>Staphylococcus</i>	13	11

Group	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	13
<i>Streptococcus spp.</i>	6	8

Note: Isolate table includes polymicrobial cultures.

In this clinical study, there were 1085 pairs of BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D culture bottles with negative instrument results for both systems after 5 days of incubation. Among these pairs, terminal subcultures were performed for 593 pairs, and six false negative results by both BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D were observed; subculture on BACT/ALERT® VIRTUO® bottles alone was performed for 3 pairs, and no false negative result was observed; both subcultures were not performed for 489 pairs of bottles. A culture bottle was determined to be false negative if the bottle result was negative by the instrument and resulted in growth upon subculture of the bottle.

Table 24: Summary of Percent False Negatives from Anaerobic Blood Culture Pairs That Were Flagged Negative by Both Instruments

Subculture Performed BACT/ALERT® VIRTUO®	Subculture Performed BACT/ALERT® 3D	% False Negative BACT/ALERT® VIRTUO®	% False Negative BACT/ALERT® 3D
Yes	Yes	1.01 (6/593)	1.01 (6/593)
Yes	No	0.00 (0/3)	-

Of these six positive subcultures, two subcultures yielded an isolate that is a strict aerobe (*Pseudomonas aeruginosa*). The BACT/ALERT® FN Plus culture bottle is not intended to detect strict aerobes from blood or other normally sterile body fluids. The overall false negative rate for BACT/ALERT® VIRTUO® based on a subset of terminal subcultures was 1.01% (6/596) and excluding strict aerobes was 0.67% (4/596).

Clinical Study Results (Sterile Body Fluid Cultures)

A multi-center clinical study was conducted at three different geographic sites in the U.S. and Canada comparing the performance of the BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus and BACT/ALERT® 3D FN Plus culture bottles with sterile body fluid specimens. A total of 419 bottle pairs were obtained from 333 adult patients suspected of sterile body fluid bacterial/yeast infections. Sterile body fluid types evaluated were amniotic fluid, continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) fluid, cerebrospinal fluid (CSF), pelvic fluid, pericardial fluid, peritoneal fluid, pleural fluid, and synovial fluid. Clinical isolates recovered were classified as significant, contaminant, or unknown based on determination by the clinical trial sites.

A total of 67 isolates were recovered from all anaerobic sterile body fluid culture pairs with a positive status. There were a total of 52 bottle pairs that recovered at least one isolate by subculture of BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus or BACT/ALERT® 3D FN Plus culture bottles. A total of 42 bottle pairs recovered a single isolate, 6 bottle pairs recovered two isolates, 3 bottle pairs recovered three isolates, and 1 bottle pair recovered four isolates. The total population reported in the table below comprises the 67 isolates recovered from positive bottle pairs and 370 negative bottle pairs for a total of 437 results. The BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus culture bottle detected a total of 52 isolates compared to the BACT/ALERT® 3D FN Plus culture bottle that detected 52 isolates. Of the significant isolates, the BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus culture bottle detected a total of 39 isolates compared to the BACT/ALERT® 3D FN Plus culture bottle that detected 38 isolates. No false positives were identified by subculture of positive BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus culture bottles in the study population (0/437). No false positives were identified by subculture of positive BACT/ALERT® 3D FN Plus culture bottles in the study population (0/437).

The table below compares results of the BACT/ALERT® VIRTUO® FN Plus to BACT/ALERT® 3D FN Plus sterile body fluid cultures that yielded single or multiple isolates on subculture.

Table 25: Sterile Body Fluids – Single and Multiple Isolates

Clinical Determination	BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives	% of BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives in Population	BACT/ALERT® 3D True Positives	% of BACT/ALERT® 3D True Positives in Population	Ratio of True Positives	95% CI (LCL, UCL)
Significant	39	8.9 (39/437)	38	8.7 (38/437)	1.026	0.838, 1.214
Contaminant	9	2.1 (9/437)	8	1.8 (8/437)	1.125	-

Clinical Determination	BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives	% of BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives in Population	BACT/ALERT® 3D True Positives	% of BACT/ALERT® 3D True Positives in Population	Ratio of True Positives	95% CI (LCL, UCL)
Unknown	4	0.9 (4/437)	6	1.4 (6/437)	0.667	-
Total	52	11.9 (52/437)	52	11.9 (52/437)	1.000	0.794, 1.206

A comparative yield of microorganisms (number of isolates) from BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D recovered on subculture of BACT/ALERT® FN Plus culture bottles is presented in Table 26 and the number of positive specimens by fluid type is presented in Table 27.

Table 26: Comparative Yield of Microorganisms (Number of Isolates) – Sterile Body Fluid Cultures

Group	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
Anaerobes	4	2
Enterobacteriaceae	14	15
<i>Enterococcus</i> spp.	6	8
Yeasts	2	0
Non-fermentative Gram-Negative Bacilli	2	2
Other Gram-Positive	1	1
Coagulase-Negative <i>Staphylococcus</i>	9	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	5
<i>Streptococcus</i> spp.	9	12

Note: Isolate table includes polymicrobial cultures.

Table 27: Number of Positive Specimens – Sterile Body Fluid Cultures

Sterile Body Fluid Type	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
CAPD	2	2
Pericardial	1	1
Peritoneal	19	21
Pleural	21	16
Synovial	3	4

In this clinical study, there were 367 pairs of BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D culture bottles with negative instrument results for both systems after 5 days of incubation. Among these pairs, terminal subcultures were performed for 293 pairs, and six false negative results by both BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D were observed; subculture on BACT/ALERT® VIRTUO® bottles alone was performed for 10 pairs, and no false negative result was observed; subculture on BACT/ALERT® 3D bottles alone was performed for 4 pairs, and no false negative result was observed; both subcultures were not performed for 60 pairs of bottles. A culture bottle was determined to be false negative if the bottle result was negative by the instrument and resulted in growth upon subculture of the bottle.

Table 28: Summary of Percent False Negatives from Anaerobic Sterile Body Fluid Culture Pairs That Were Flagged Negative by Both Instruments

Subculture Performed BACT/ALERT® VIRTUO®	Subculture Performed BACT/ALERT® 3D	% False Negative BACT/ALERT® VIRTUO®	% False Negative BACT/ALERT® 3D
Yes	Yes	2.05 (6/293)	2.05 (6/293)
Yes	No	0.00 (0/10)	-

Subculture Performed BACT/ALERT® VIRTUO®	Subculture Performed BACT/ALERT® 3D	% False Negative BACT/ALERT® VIRTUO®	% False Negative BACT/ALERT® 3D
No	Yes	-	0.00 (0/4)

All six positive subcultures yielded isolates that are strict aerobes (*Achromobacter denitrificans* and *Achromobacter xylosoxidans* [2], *Candida albicans* [1], *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* [1], *Candida krusei* [2]). The BACT/ALERT® FN Plus culture bottle is not intended to detect strict aerobes from blood or other normally sterile body fluids. The overall false negative rate for BACT/ALERT® VIRTUO® based on a subset of terminal subcultures was 1.98% (6/303) and excluding strict aerobes was 0% (0/303).

Summary of False Positive Results

A culture bottle was determined to be a false positive if the culture was flagged positive by the BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D System and was negative upon subculture of the bottle. The study population consisted of culture pairs that received specimen volumes of ≤10 mL. The false positive results were identified by subculture of positive BACT/ALERT® VIRTUO® bottles and positive BACT/ALERT® 3D bottles, comprising proportions of the study populations based on the total numbers of corresponding blood cultures or sterile body fluid cultures.

Table 29: Summary of False Positive Results

Bottle Type - Specimen Type	% False Positive BACT/ALERT® VIRTUO®	% False Positive BACT/ALERT® 3D
BACT/ALERT® FN Plus - Blood	0.17 (2/1181)	0.08 (1/1181)
BACT/ALERT® FN Plus - Sterile Body Fluid	0.00 (0/419)	0.00 (0/419)

Limited Warranty

bioMérieux warrants the performance of the product for its stated intended use provided that all procedures for usage, storage and handling, shelf life (when applicable), and precautions are strictly followed as detailed in the instructions for use (IFU).

Except as expressly set forth above, bioMérieux hereby disclaims all warranties, including any implied warranties of merchantability and fitness for a particular purpose or use, and disclaims all liability, whether direct, indirect or consequential, for any use of the reagent, software, instrument and disposables (the "System") other than as set forth in the IFU.

Availability

BIOMÉRIEUX BACT/ALERT® FN Plus	100/case	 410852
-----------------------------------	----------	--

For technical assistance in the USA, contact bioMérieux Customer Service at 1-800-682-2666. Outside the USA, contact your local bioMérieux representative.

Index of Symbols

Symbol	Meaning
	Catalogue number
	Manufacturer
	Date of manufacture

Symbol	Meaning
	Temperature limit
	Use by date
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Authorized Representative in the European Community
	This way up
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device
	Do not reuse
	Does not contain latex
	For US Only: Caution: US Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner
	Fill-to

Instructions for use provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib

Revision History

Change type categories

N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user

Note: *Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.*

Release Date	Part Number	Change Type	Change Summary
2020-08	043785-01	Administrative change	Migration to CMS, including standardization of content; no technical changes.
2017-11	9314506 H	Technical Change:	Specimen Collection and Preparation - Addition of Note regarding bottle label fill-to information
		Administrative:	Index of Symbols - Update to reflect new symbols on product

Release Date	Part Number	Change Type	Change Summary
2017-04	9313399 E	Technical Change	Addition of VIRTUO® information throughout, including Expected Values, Neutralization of Antimicrobials, and Performance Characteristics of the Test (Tables 15-29) sections
2016-04	9309504 D	Technical Change:	Reagents <ul style="list-style-type: none"> • Update to composition information • Clarification of expiration date
			Specimen Collection and Preparation - Addition of Caution regarding bottle pressure
			Quality Control - Addition of Caution regarding LIS and bottle type abbreviations
		Administrative:	Addition of Rx-only caution and symbol for US customers
		Administrative:	Limited Warranty - Addition of statement
			Index of Symbols - Update to reflect new symbols on product
2013-04	9305049 C	Technical Change:	Specimen Collection and Preparation, Expected Values, Neutralization of Antimicrobials, Performance Characteristics of the Test - Revised text to include additional information on product performance based on clinical studies
			Limitations of the Test - Added Limitations 2, 8, and 9 following FDA review
		Administrative:	Reagents - Moved Cautions to Limitations of the Test section

BIOMERIEUX, the BIOMERIEUX logo, BACT/ALERT, BIOBALL, FAN, and VIRTUO are used, pending, and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.

This product may be protected by one or more patents, see: <http://www.biomerieux-usa.com/patents>.

The ATCC trademark and trade name and any and all ATCC catalog numbers are trademarks of the American Type Culture Collection.

CLSI is a registered trademark of Clinical and Laboratory Standards Institute.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.

©BIOMÉRIEUX 2011, 2013, 2016, 2017, 2020

BACT/ALERT® FA Plus

**PASKIRTIS**

„BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliukai yra naudojami kartu su BACT/ALERT® mikrobu aptikimo sistemomis kokybinėms aerobiniams ir fakultatyvieji anaerobiniams (bakterijų ir mieliagybių) išgavimo ir nustatymo iš kraujo ir kitų normaliai sterilių kūno skysčių procedūroms.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistemos yra naudojamos mikroorganizmams nustatyti kraujo ar kitų, paprastai sterilių, kūno skysčių mėginiuose, paimtuose iš pacientų, kuriems įtariama bakteremija / fungemija. BACT/ALERT® sistema ir pasėlių buteliukai – tai mikroorganizmų aptikimo sistema ir kultivavimo terpė su mitybos ir aplinkos sąlygomis, tinkamomis dažniausiai kraujo ir kitų paprastai sterilių kūno skysčių infekcijų atveju aptinkamiems organizmams. Inokuluotas buteliukas įdedamas į instrumentą, kur jis inkubuojamas, nuolat stebint, ar nėra mikroorganizmų, kurie auga BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliuke.



Pastaba. Pateikta informacija taikoma visų konfigūracijų BACT/ALERT® mikrobu aptikimo sistemoms, nebent nurodyta kitaip.

TYRIMO PRINCIPAS

BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistema anglies dioksido (CO₂), išskiriamo iš pasėlio terpės, buvimui ir gamybai stebėti naudoja kolorimetrinį jutiklį ir atspindėtą šviesą. Jei tyrimo mėginyje yra mikroorganizmų, jiems metabolizuojant substratą pasėlio terpėje, išskiriamas anglies dioksidas. Kai augant mikroorganizmams išsiskiria CO₂, dujoms pralaidaus jutiklio, esančio buteliuko su pasėliu dugne, spalva keičiasi iš mėlynai žalios į geltoną.¹ Dėl šviesesnės spalvos padaugėja atspindėjimo vienetų, kuriuos stebi sistema. Instrumentas stebi ir įrašo buteliuko atspindžius kas 10 minučių.

REAGENTAI

Skirta naudoti *in vitro* diagnostikai.

PERSPĖJIMAS. Elkitės su mėginiais ir inokuliuotais pasėlio buteliukais taip, lyg jie galėtų perduoti infekcines medžiagas. Visi inokuliuoti pasėlio buteliukai, adatos, kuriomis buvo paimti mėginiai, ir kraujo siurbimo priemonės turi būti nukenksminti pagal jūsų institucijos metodiką.²

BACT/ALERT® FA Plus (pažymėtas blyškiai žalia spalva) – „BACT/ALERT® FA Plus“ vienkartinuose pasėlio buteliukuose yra 30 ml kompleksinės terpės ir $\geq 1,6$ g adsorbentinių polimerinių rutuliukų. Gamybos metu terpę sudaro toliau nurodyti reaguojantieji komponentai: peptonų / biologinių ekstraktų junginys ($\geq 1,85$ % w/v), antikoaguliantas ($\geq 0,083$ % w/v), vitaminai ir amino rūgštys ($\geq 0,00145$ % w/v), anglies šaltiniai ($\geq 0,45$ % w/v), mikroelementai ($\geq 0,0005$ % w/v) ir kiti sudėtiniai amino rūgščių ir angliavandenių substratai išgrynintame vandenyje. Buteliukai yra paruošti su N₂, O₂ ir CO₂ atmosfera vakuomo sąlygomis. Terpės sudėtis gali būti koreguojama, kad atitiktų konkrečius charakteristikų reikalavimus, o tokiais atvejais vykdomi analitiniai tyrimai reikšmingam atitikimui tarp koreguotos ir ankstesnės formulės nustatyti (žr. skyrelį „Peržiūrų istorija“).



PERSPĖJIMAS. BACT/ALERT® pasėlio buteliukų sudėtyje yra polikarbonato. Ne visi dezinfekantai skirti polikarbonatiniams paviršiams, todėl gali sugadinti buteliukus. Prieš naudodami dezinfekantus ant BACT/ALERT® pasėlio buteliukų paviršiaus įsitikinkite, kad dezinfekantas tinka polikarbonatiniams paviršiams.

PERSPĖJIMAS. Į BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukus, kuriuose kultivuojami ne kraujo mėginiai (paprastai sterilūs kūno skysčiai) arba labai nedidelio tūrio kraujo mėginiai (0,5 ml ar mažiau), gali prireikti pridėti kraujo, pvz., sterilaus defibrinuoto arklio kraujo (10,0 % v/v), augimui palaikyti, ypač išgaunant lėpius mikroorganizmus, tokius kaip *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* ir *Neisseria gonorrhoeae*.³

¹ Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al. BacT/Alert: an Automated Colorimetric Microbial Detection System. *J Clin Micro* 1990; 28 (7), 1608-1612.

² *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)* 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

³ Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th ed. 2006, pp. 446, 590.

Būtinai papildomi reikmenys

- BACT/ALERT® mikrobu aptikimo sistemos
- Kraujo paėmimo įtaisas
- Sterili „Airway“ adata / subkultūros vienetai
- Vienkartinės pirštinės
- Tinkami biologinį pavojų keliančių atliekų konteineriai medžiagoms, galimai užkrėstoms infekcinėmis medžiagomis
- Alkoholiu sudrėkinti tamponai ar lygiavertės priemonės

bioMérieux tiekiamos priemonės

- Kraujo surinkimo adapterio dangtelis
- BACT/ALERT® mikrobu aptikimo sistemos
- Sterili „Airway“ adata / subkultūros vienetai

Laikymo instrukcijos

BACT/ALERT® FA Plus pasėlių buteliukai yra paruošti naudoti. Laikykite juos vertikaliaje padėtyje kambario temperatūroje (15–30 °C), saugokite nuo tiesioginių saulės spindulių. Tinkamumo terminas atspausdintas ant kiekvieno buteliuko etiketės. Neinokuliuokite pasėlio buteliukų pasibaigus tinkamumo terminui. Jei buteliukai laikomi mažesnėje nei 15 °C temperatūroje, gali susidaryti nuosėdų, kurios išnyksta buteliukus atšildžius iki kambario temperatūros. Prieš naudojant buteliukai turi būti kambario temperatūroje.

Cheminiai ir fiziniai nestabilumo požymiai

Prieš naudojant BACT/ALERT® FA Plus pasėlių buteliukus būtina patikrinti, ar nėra pažeidimo arba sugedimo (spalvos pakitimo) požymių. Išmeskite buteliukus, jei pastebėjote pažeidimo, nuotėkio ar nusidėvėjimo požymių. Nejudintuose buteliukuose terpė turi būti skaidri, tačiau galima nežymi opalescencija, gali matytis nuosėdų pėdsakų dėl antikoagulianto SPS ar adsorbento polimerinių rutuliukų; nesumaišykite su drumstumu dėl augančių mikroorganizmų. Nenaudokite buteliukų, jei juose esanti terpė drumsta, jutiklis geltonas ar susidarė perteklinis dujų slėgis; tai yra galimo užterštumo požymiai.

PRIETAISAI

Prieš naudodami peržiūrėkite atitinkamą BACT/ALERT® mikrobu nustatymo sistemos naudotojo vadovą.

MĖGINIO PAĖMIMAS IR PARUOŠIMAS**Bendrosios nuostatos**

1. BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukus turi naudoti išmokyti sveikatos priežiūros specialistai. Ypač svarbu taisyklingai imti kraujo pasėlio mėginius. Venos punkcija yra pasirinktinis metodas kraujo pasėliams paimti. Dėl tinkamos mėginių ėmimo procedūros žr. „Cumitech 1C“.⁴
2. Norėdami išvengti užteršimo, atsargiai atlikite buteliuko paruošimo ir paciento mėginio inokuliacijos procedūras. Ypač svarbu tinkamai dezinfekuoti odą, siekiant sumažinti taršos tikimybę.
3. „bioMérieux“ to nerekomenduoja, tačiau kraujas gali būti paimtas tiesiogiai į paėmimo mėgintuvėlius su SPS. Mėgintuvėliai su kitais antikoagulantais negali būti naudojami kraujo pasėliui.⁵
4. „bioMérieux“ rekomenduoja, kad inokuliuoti pasėlio buteliukai būtų patalpinti į BACT/ALERT® mikrobino aptikimo sistemą kaip įmanoma greičiau po surinkimo. Jei delsos neįmanoma išvengti, jie gali būti laikomi kambario temperatūroje iki 24 valandų prieš dedant į instrumentą.
5. Optimalus izoliatų išgavimas pavyksta tada, kai yra įdedamas maksimalus mėginio kiekis. Mažesnis mėginio tūris gali neigiamai paveikti kai kurių organizmų išgavimą ir (arba) aptikimą. Neviršykite maksimalaus mėginio kiekio buteliuke – 10 ml. Vakuumas, esantis buteliuke, paprastai viršija 10 ml; stebėkite paimtą tūrį pagal 5 ml žymas, esančias ant buteliuko etiketės.

Buteliuko paruošimas

1. Užrašykite paciento duomenis ant pasėlio buteliuko. Piktogramas ant buteliuko etiketės (⊕, #, ⊖) gali pasirinkti naudotojas.

⁴ Baron EJ, Weinstein MP, Dunne Jr. WM, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. 2005. Cumitech 1C, Blood Cultures IV. Coordinating ed., Baron EJ. ASM Press, Washington, DC.

⁵ CLSI. *Principles and Procedures for Blood Cultures*; Approved Guideline. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.

2. Nuo kiekvieno pasėlio buteliuko nuimkite plastikinę apsaugą. Prieš inokuliuodami dezinfekuokite pasėlio buteliuko dangtelį alkoholyje sumirkytu tamponu ar pan. Leiskite nudžiūti.
3. Nuvalykite pasirinktą venos punkcijos vietą, kaip nurodyta jūsų įstaigos procedūros rekomendacijose.

Inokuliacijos procedūra tiesiogiai paimant mėginį venos punkcijos metodu

Pastaba. Tiesioginio mėginio paėmimo procedūros negalima naudoti kraujui paimti iš intravaskulinių priemonių arba hemodializės lizdų, nes gali būti pažeistas kateterio spindis arba gali būti sukeltas buteliuko turinio refluksas į paciento kūną.

Pastaba. Jei norite inokuliuoti daugiau kaip vienos rūšies BACT/ALERT® kraujo pasėlio buteliuką, naudodami peteliškės formos kraujo paėmimo rinkinį ir tiesioginio paėmimo adapterio dangtelį, pirma inokuliuokite aerobinio pasėlio buteliuką, tada inokuliuokite anaerobinio pasėlio buteliuką, kad į anaerobinį buteliuką nepatektų sistemoje esantis deguonis.

Pastaba. Nors galima naudoti ir mažesnį mėginio tūrį, bet geriausia atlikti išgavimą naudojant maždaug rekomenduojamo 10 ml tūrio mėginį.^{6, 7}

Pastaba. Stebėkite į pasėlio buteliuką tekančio kraujo tūrį, kad išvengtumėte perteklinės inokuliacijos. Norint nustatyti maždaug 10 ml mėginio tūrį, galima naudotis tiksline pripildymo žyma ant buteliuko etiketės. Norint nustatyti mėginio tūrį, taip pat galima naudotis 5 ml padalomis ant buteliuko etiketės.

Pastaba. Visada atidžiai stebėkite tiesioginio paėmimo procesą, kad būtų užtikrinta reikiama srovė ir buteliuko turinys nepatektų į adapterio sistemą. Pasėlio buteliuke yra cheminių priedų, todėl svarbu užkirsti kelią galimai atgalinei srovei ir jos sukeltoms pašalinėms reakcijoms, atliekant toliau nurodytus veiksmus.

1. Pasėlio buteliuką laikykite žemiau paciento rankos vertikaloje padėtyje (kamštelis viršuje).
2. Kraują imkite naudodami peteliškės formos kraujo ėmimo rinkinį ir kraujo ėmimo adapterio dangtelį, laikydamiesi įstaigoje patvirtintos procedūros, ir inokuliuokite tiesiai į pasėlio buteliuką prie paciento lovos. Nors galima naudoti ir mažesnį mėginio tūrį, bet geriausia atlikti išgavimą naudojant maždaug rekomenduojamo 10 ml tūrio mėginį. Norėdami išvengti perteklinio inokuliacijos, stebėkite kraujo tūrio didėjimą pasėlio buteliuke pagal 5 ml žymas ant buteliuko etiketės.
3. Atleiskite turniketą iškart, kai kraujas ima tekėti į kultivavimo buteliuką arba po 2 minučių po uždėjimo.
4. Surinkimo procedūros metu neleiskite, kad buteliuko turinys paliestų kamštelį arba adatos galiuką.

PERSPĖJIMAS. Užterštame pasėlio buteliuke gali būti susidaręs teigiamas slėgis; jei toks buteliukas naudojamas tiesiogiai imant kraujo mėginį, tai gali sukelti refluksą į paciento veną. Pasėlio buteliuko tarša gali būti ne iš karto matoma. Įdėmiai stebėkite tiesioginio paėmimo procesą, kad išvengtumėte refluksą. Nenaudokite buteliuko, jei jame esanti terpė yra drumsta, jutiklis yra geltonas arba buteliuke per didelis dujų slėgis. Šie požymiai gali rodyti užteršimą.

5. Įsitikinkite, kad BACT/ALERT® FA Plus buteliuke esantis mėginys yra gerai susimaišęs su reagentais.
6. Inokuliuotą pasėlio buteliuką iš karto perkelkite į tyrimo laboratoriją.

Inokuliacijos procedūra mėginį imant švirkštu

Pastaba. Jei norite inokuliuoti daugiau kaip vienos rūšies BACT/ALERT® kraujo pasėlio buteliuką įtraukdami švirkštu, pirma inokuliuokite anaerobinio pasėlio buteliuką, tada inokuliuokite aerobinio pasėlio buteliuką, kad į anaerobinį buteliuką nepatektų švirkšte esantis deguonis. Įvertindami mėginio tūrį remkitės ant buteliuko etiketės esančiomis linijomis žymėmis.

1. Atlikite venos punkciją ir surinkite kraują į BACT/ALERT® pasėlio buteliuką, laikydamiesi Jūsų įstaigoje naudojamų procedūrų.

PERSPĖJIMAS. Inokuliacijos metu niekada nespauskite švirkšto stūmoklio žemyn, nes galite ištaškyti mėginį. Kai bus pasiektas užpildymo tūris, nuimkite švirkštą, nes vakuumas automatiškai ištrauks daugiau nei rekomenduojamas tūris. Norėdami išvengti vakuumo išleidimo, pradurkite buteliuko kamštį vertikaliai; buteliukas be vakuumo neturi būti inokuliuotas.

2. Įsitikinkite, kad BACT/ALERT® FA Plus buteliuke esantis mėginys yra gerai susimaišęs su reagentais.
3. Inokuliuotą pasėlio buteliuką iš karto perkelkite į tyrimo laboratoriją.

⁶ Baron EJ, Weinstein MP, Dunne Jr. WM, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. 2005. Cumitech 1C, Blood Cultures IV. Coordinating ed. Baron EJ. ASM Press, Washington, DC.

⁷ CLSI/NCCLS. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*; Approved Standard—Third Edition. CLSI/NCCLS document M22-A3. Wayne, PA: NCCLS; 2004.

BACT/ALERT® FA PLUS PASĖLIO BUTELIUKO TYRIMO PROCEDŪRA

Išankstinės pastabos ir atsargumo priemonės

1. Mūvėkite vienkartines pirštines, su inokuliuotais pasėlio buteliukais elkitės atsargiai – lyg jie galėtų perduoti infekcines medžiagas. Jei prarijote užterštą medžiagą arba jos susilietė su atviromis žaizdomis, pažeistomis vietomis ar kitaip sužalota oda, nedelsdami kreipkitės į gydytoją.
2. Tvarkydami išsipūtusius ar lašančius buteliukus su teigiamais rezultatais naudokite tinkamas asmenines apsaugos priemones. Taip išvengsite kontakto su mikroorganizmais.
3. Išsiliejusią užterštą medžiagą nedelsdami išvalykite 5 % natrio hipochlorito tirpalu (santykis 1:10). Valymo medžiagą išmeskite priimtinu būdu.
4. Visi inokuliuoti pasėlio buteliukai, adatos, kuriomis buvo paimti mėginiai, ir kraujo siurbimo priemonės turi būti nukenksminti pagal jūsų institucijos metodiką.⁸
5. Šiuos buteliukus turi naudoti kvalifikuotas sveikatos priežiūros personalas.

PERSPĖJIMAS. Tik JAV: Federaliniai JAV įstatymai apriboja teisę praktikuojantiems gydytojams pardavinėti šį prietaisą.

Procedūrinės pastabos ir atsargumo priemonės

1. Venepunkciją ir inokuliaciją į pasėlių buteliuką reikia atlikti itin atsargiai, kad būtų neužkrėstas paciento mėginys, nes dėl užkrėtimo mėginys gali būti nustatytas kaip teigiamas, kai kliniškai reikšmingo izoliato iš tikrųjų nėra.
2. Kraujo mėginius imkite prieš pradėdami gydymą antibiotikais. Jeigu to padaryti neįmanoma, kraują paimkite prieš pat suleidami kitą antibiotikų dozę.
3. Jeigu inokuliuotų pasėlio buteliukų pristatymas į laboratoriją buvo uždelstas arba jeigu jie buvo inkubuojami prieš sudedant juos į BACT/ALERT® instrumentą, patikrinkite, ar nėra mikrobiologinio augimo požymių. Jei pastebėsite mikroorganizmų augimą, elkitės su buteliukais taip, lyg jų rezultatai būtų teigiami, ir nedėkite jų į BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistemą stebėti.

Laboratorijos procedūra

PERSPĖJIMAS. Atsargiai sėkite pasėlius iš buteliukų, kurių rezultatas laikomas teigiamu, nes jie gali būti perpildyti arba juose gali būti dujas išskiriančių mikroorganizmų. Pasėlio buteliukų, kurių rezultatas teigiamas, vidinis slėgis gali būti padidėjęs. Pasėlio buteliukai, kurių rezultatas teigiamas, turėtų būti laikinai ventiliuojami prieš dažymą arba išmetimą, kad būtų išleistos dujos, susidariusios dėl mikroorganizmo metabolizmo.

1. Prieš tirdami apžiūrėkite ir įvertinkite buteliukus. Nenaudokite buteliukų, jei pastebėjote pažeidimo, nuotėkio ar nusidėvėjimo požymių. Buteliukų, kuriuose pastebima hemolizė, drumstumas, padidėjęs dujų slėgis, kurių jutikliai geltoni ir (arba) yra augimo požymių, rezultatas turėtų būti laikomas teigiamu. Paruoškite tepinėlį ir auginkite pasėlį. Neinkubuokite, nebent tepinėlio rezultatas neigiamas.
2. Įstatę pasėlio buteliukus į instrumentą, inkubuokite juos 5 dienas arba tol, kol jie bus nustatyti esantys teigiami.
3. Paimkite visų teigiamų buteliukų tepinėlius ir juos persėkite. Jei tepinėlis neigiamas, bet nurodomas kaip galimai klaidingai teigiamas, buteliukas turi būti iš naujo įdedamas į instrumentą, kol persėtas pasėlis užaugs arba kol bus iš naujo nustatytas teigiamas rezultatas. Jeigu buteliukai iš pradžių buvo nustatyti kaip klaidingai teigiami ir buvo iš naujo priskirti teigiamiems, būtina paimti jų tepinėlį ir persėti.
4. Pasėliai, kurių rezultatas neigiamas, prieš išmetant gali būti patikrinti darant tepinėlį ir (arba) sėjant pasėlį.
5. Nurodymai, kaip įdėti ir išimti pasėlio buteliukus iš BACT/ALERT® prietaiso, pateikti naudotojo vadove.
6. **BACT/ALERT® pasėlio buteliukų pakartotinai nenaudokite.** Inokuliuotus BACT/ALERT® pasėlio buteliukus išmeskite pagal savo laboratorijos protokolą. Inokuliuotus BACT/ALERT® buteliukus galima dėti į autoklavą ir (arba) sudeginti.⁹
7. Pertvarą perduriant duriančiomis priemonėmis (pvz., buka adata), gali ištėkėti šiek tiek buteliuko turinio.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Kiekvienai pasėlio buteliukų partijai suteiktas atitiktis sertifikatas. Pageidaujant atskiros laboratorijos gali atlikti BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukų kokybės kontrolės tyrimą. Žr. atitinkamą BACT/ALERT® naudotojo vadovą ir CLSI® dokumentą M22-A3.¹⁰

⁸ *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)* 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

⁹ *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)* 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

Instrumentas

BACT/ALERT® atspindžio standartų rinkinys pateikiamas su kiekvienu BACT/ALERT® 3D instrumentu, o atspindžio kalibravimo standartai yra pridedami prie kiekvieno BACT/ALERT® VIRTUO® instrumento kokybės kontrolės ir kalibravimo procedūroms atlikti. Kokybės kontrolė turi būti sistemos įprastos priežiūros dalis. Daugiau informacijos žr. atitinkamame BACT/ALERT® naudotojo vadove.

PERSPĖJIMAS. Jei įstaigos LIS tiekėjas nusiunčia buteliukų identifikavimo numerius ir buteliukų tipų santrumpas į BACT/ALERT® prietaisą, naudokite tinkamą buteliuko tipo santrumpą, kad išvengtumėte galimų klaidingai teigiamų ir klaidingai neigiamų rezultatų. Norėdami gauti daugiau informacijos, kreipkitės į vietinį „bioMérieux“ atstovą.

REZULTATAI

Pasėlio buteliukų teigiamą arba neigiamą rezultatą nustato BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistemose esanti sprendimų priėmimo programinė įranga. Nereikia imtis jokių veiksmų, kol BACT/ALERT® prietaisas nenurodo pasėlio buteliukų kaip teigiamų ar neigiamų.

TYRIMO APRIBOJIMAI

Yra daug kintamųjų, susijusių su kraujo pasėlių tyrimais, kurių praktiškai neįmanoma kontroliuoti, todėl negalima visiškai užtikrinti, kad gauti rezultatai yra nulemti tik tinkamo ar netinkamo pasėlio terpės ar aptikimo sistemos veikimo.

1. Pacientų mėginiuose, kurių rezultatas BACT/ALERT® sistemoje yra teigiamas, gali būti tokių organizmų, kurie bus matomi darant tepinėlį, bet neaugs įprastinėje terpėje sėjant iš buteliuko. Jei įtariamas toks atvejis, mėginys turi būti pakartotinai sėjamas į specialią terpę. Taip pat BACT/ALERT® teigiamuose mėginiuose gali būti organizmų, kurie yra nepastebimi įprastais tepinėlio dažymo metodais ir kuriuos gali reikėti specialiai dažyti ir auginti pasėlio terpėje, kad jie būtų aptikti ir išskirti.
2. Gali būti, kad kai kurie reti ir reiklūs mikroorganizmai BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliuko augimo terpėje neaugs arba augs lėtai. Be to, retais atvejais mikroorganizmai gali augti BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliuko terpėje, bet neišskirti tiek anglies dioksido, kad būtų nustatytas teigiamas rezultatas. Jei įtariate, kad yra retų ir reiklų mikroorganizmų, kuriems reikia specialios terpės ir auginimo sąlygų, išgaunant gali prireikti alternatyvių metodų arba ilgesnės inkubacijos trukmės.
3. Tam tikros *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, ir *Neisseria gonorrhoeae* padermės gali būti jautrios antikoagulantui natrio polianetolesulfonatui (SPS), todėl gali būti pastebimas augimo nebuvimas ar mažas CO₂ išskyrimas su šiomis padermėmis, jei į kultivavimo buteliukus yra inokuluotas nepakankamas kraujo mėginio kiekis.
4. Retais atvejais, jei mėginyje yra labai daug baltųjų kraujo kūnelių, BACT/ALERT® gali nurodyti pasėlių buteliuką kaip teigiamą. Tokiu atveju tepinėlio ir persėjimo rezultatai gali būti neigiami.
5. Dažnai organizmų skaičius yra nedidelis ir kraujyje jie gali pasirodyti tik protarpiais, todėl iš kiekvieno paciento kraujo mėginiai turi būti imami nuosekliai.
6. Nedelsdami išimkite teigiamus pasėlių buteliukus, kai BACT/ALERT® apie juos praneša, kad pasėliai netaptų negyvybingi dėl autolizės ar kitų priežasčių. Kai kurios *Streptococcus pneumoniae* padermės gali būti ypač linkusios į autolizę, jei nepašalinamos iškart, pranešus, kad jų rezultatas teigiamas.
7. Gramo metodu nudažyti neigiamų buteliukų tepinėliuose gali būti labai mažas negyvybingų organizmų kiekis, atsiradusių iš kultūrinės terpės komponentų, dažymo reagentų, imersinio aliejaus ar stiklelių, dėl to gali būti gaunamas klaidingai teigiamas rezultatas.
8. „bioMérieux“ rekomenduoja, kad inokuluoti pasėlio buteliukai būtų patalpinti į BACT/ALERT® mikrobinio aptikimo sistemą kaip įmanoma greičiau po surinkimo. Bet jei buteliukus į laboratoriją tenka siųsti vėliau, skyriuje „Tyrimo veikimo charakteristikos“ pateikiama tyrimų informacija apie vėliau gautus mėginius.
9. Cefazidimo ir cefepimo antimikrobinės savybės nebuvo neutralizuotos.
10. 12 mėnesių smegenų skysčio buteliukuose aptikti *Stenotrophomonas maltophilia* gali užtrukti ilgiau arba gali būti gauti neigiami rezultatai.
11. BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukai neturi atitinkamo lygio CO₂ viršutinėje erdvėje, kad patikimai palaikytų capnophiles, pvz., *Capnocytophaga* spp. augimą.

TIKĖTINOS VERTĖS

1. Bendroji trijų klinikinių tyrimų įstaigų teigiamų reikšmingų izoliatų kultūrų procentinė išraiška buvo 12,3 % (diapazonas: 7,9–14,3 %), o svarbių izoliatų – 9,4 % (diapazonas: 5,0 %–11,2 %) reikšmingi izoliatai BACT/ALERT® FA Plus pasėlio

¹⁰ CLSI®/NCCLS. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*; Approved Standard—Third Edition. CLSI®/NCCLS document M22-A3. Wayne, PA: NCCLS; 2004.

buteliukuose, į kuriuos įpilta 6–10 ml kraujo per BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukų klinikinį tyrimą, atliktą naudojant BACT/ALERT® 3D.

2. Bendroji trijų klinikinių tyrimų įstaigų teigiamų reikšmingų izoliatų kultūrų procentinė išraiška buvo 20,2 % (diapazonas: 16,4–24,3 %), o svarbių izoliatų – 15,4 % (diapazonas: 8,2 %–21,6 %) reikšmingi izoliatai BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukuose, į kuriuos įpilta sterilių kūno skysčių per BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukų klinikinį tyrimą, atliktą naudojant BACT/ALERT® 3D.
3. Tiriant BACT/ALERT® 3D per BACT/ALERT® VIRTUO® klinikinį tyrimą, trijų klinikinių tyrimų centrų reikšmingų izoliatų teigiamų kultūrų procentinė reikšmė buvo 6,9 % (diapazonas: 4,4–11,4 %), o svarbių izoliatų – 5,5 % (diapazonas: 3,9–9,5 %) naudojant BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukus, į kuriuos įpilta ≤ 10 ml kraujo.
4. Tiriant BACT/ALERT® 3D per BACT/ALERT® VIRTUO® klinikinį tyrimą, trijų klinikinių tyrimų centrų reikšmingų izoliatų teigiamų kultūrų procentinė reikšmė buvo 13,0 % (diapazonas: 8,0–19,0 %), o svarbių izoliatų – 10,5 % (diapazonas: 7,5 %–14,0 %) naudojant BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukus, į kuriuos įpilta sterilių kūno skysčių.
5. Atliekant BACT/ALERT® VIRTUO® klinikinį tyrimą, trijų klinikinių tyrimų centrų reikšmingų izoliatų teigiama procentinė reikšmė buvo 6,2 % (diapazonas: 4,7–8,8 %), o svarbių izoliatų – 5,5 % (diapazonas: 4,2–8,5 %) naudojant BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukus, į kuriuos įpilta ≤ 10 ml kraujo.
6. Atliekant BACT/ALERT® VIRTUO® klinikinį tyrimą, trijų klinikinių tyrimų centrų reikšmingų izoliatų teigiama procentinė reikšmė buvo 13,3 % (diapazonas: 9,2–17,4 %), o 9,9 % sudarė (diapazonas: 8,0 %–13,2 %) naudojant BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukus, į kuriuos įpilta sterilių kūno skysčių.
7. Tikėtinos procentinės teigiamosios reikšmės kinta atsižvelgiant į pacientų populiaciją, svarbių organizmų paplitimą, įstaigos vietą ir užkrėtimo dažnį. Pateiktos tikėtinos reikšmės paremtos klinikinių tyrimų duomenimis, gautais atliekant keletą klinikinių tyrimų.

ANTIMIKROBINIŲ MEDŽIAGŲ NEUTRALIZAVIMAS

Antimikrobinų medžiagų neutralizavimas adsorbentiniais polimeriniais rutuliukais gali skirtis priklausomai nuo dozės dydžio ir mėginio paėmimo laiko. Vidiniais tyrimais testuojant BACT/ALERT® 3D mikrobu aptikimo sistemą, nustatyta, kad antimikrobinės medžiagos veiksmingai neutralizuojamos naudojant BACT/ALERT® FA Plus terpę, sprendžiant pagal 100 % tirtų organizmų išgavimą. Atliekant tyrimus, antimikrobinės medžiagos (kliniškai reikšminga koncentracija) buvo dedamos tiesiai į pasėlių buteliukus inokuliacijos su jautriomis padermėmis metu. Antimikrobinų medžiagų poveikis buvo patvirtintas lygiagrečiai tiriant neneutralizuojančią terpę kaip kontrolinę medžiagą. Terpė neutralizavo toliau pateiktų kategorijų antimikrobinės medžiagas: penicilinus, glicilciklinus, polienus, makrolidus, triazolius, echinokandinus, cefazoliną, cefoksitiną, ceftaroliną, aminoglikozidus, fluorochinolonus, linkozamidus, glikopeptidus ir oksazolidinonus.

Ceftazidimo ir cefepimo antimikrobinės savybės nebuvo neutralizuotos. Cefotaksimas ir ceftriaksonas neutralizuoti nevisiškai. Atsižvelgiant į mikroorganizmą, cefotaksimas neutralizuotas esant nuo 50 % iki 2 % didžiausio serumo lygio (PSL). Atsižvelgiant į mikroorganizmą, ceftriaksonas neutralizuotas esant nuo 50 % iki 1 % didžiausio serumo lygio.

Antimikrobinų medžiagų neutralizavimo savybės priklauso nuo pasėlio buteliuko medžiagos sudėties ir nėra nustatomos pagal BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistemų analizės algoritmus. Pavyzdinės antimikrobinės medžiagos, atrinktos iš keturių anksčiau išvardytų kategorijų, ištirtos naudojant BACT/ALERT® VIRTUO® mikroorganizmų aptikimo sistemą, siekiant patvirtinti BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukų neutralizavimo savybes. Neutralizavimas pasireiškė amikacinui (iš aminoglikozidų klasės), piperacilinui (penicilinių klasė), vankomicinui (glikopeptidų klasė) ir vorikonazoliui (triazolių klasė). Tyrimai parodė, kad instrumento sistema neturėjo įtakos pasėlio buteliuko antimikrobinų medžiagų neutralizavimo savybėms.

Pakoregavus formules, reikalingų vaistų kategorijų antimikrobiniai preparatai buvo tiriami koreguoto BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliuke be kraujo, jeigu nenurodyta kitaip, abiejose BACT/ALERT® 3D ir BACT/ALERT® VIRTUO® mikroorganizmų aptikimo sistemose.

Pakoreguota terpė neutralizavo toliau pateiktų kategorijų antimikrobinės medžiagas: penicilinus, glicilciklinus, polienus, makrolidus, triazolius, echinokandinus, aminoglikozidus, fluorochinolonus, linkozamidus, glikopeptidus ir oksazolidinonus. Buvo ištirti penki echinokandino / mikroorganizmų deriniai; vieno derinio atkuriamumas buvo mažesnis kaip 100 %. Be kraujo, *C. albicans* / kaspofungino atkuriamumas buvo 77,8 % pakoreguoto BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliuke. Su krauju *C. albicans* / kaspofungino atkuriamumas buvo 97 % pakoreguotame BACT/ALERT® FA Plus. Be to, buvo stebimas reikšmingas ceftarolino, cefoksitino ir cefazolino atitikimas neutralizuojant atskirus vaistus koreguotame ir ankstesniame BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukuose. Pradžioje buvo stebėtas 66 % *S. aureus* / cefoksitino atkuriamumas, tačiau pakartotinio tyrimo rezultatai parodė 100 % atkuriamumą. *E. coli* / cefoksitinui buvo stebimas 100 % atkuriamumas. Cefazolinui buvo stebėta mažesnė nei visiška neutralizacija, kai jis buvo neutralizuojamas esant 50 % didžiausio serumo lygio (PSL) tiriant PBS. Cefazolidimas, cefepimas, cefotaksimas ir ceftriaksonas nebuvo vertinti koreguotame BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliuke, nes mažesnė nei visiška neutralizacija buvo pasiekta ankstesnėje formulėje.

Norėdami gauti daugiau informacijos apie BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukų neutralizuojamas antimikrobines medžiagas, kreipkitės į vietos „bioMérieux“ atstovą.

VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS

BACT/ALERT® 3D mikroorganizmų aptikimo sistemos

Galimos trukdančios medžiagos

Vidiniai pasėlių tyrimai atlikti su smegenų skysčiu, pleuros skysčiu, sinovijos skysčiu, plazma, krauju ir kraujo krešuliais. Į kiekvieną šių skysčių alikvotinę dalį pridėta baltųjų kraujo kūnelių, kad būtų gauta koncentracija, nustatoma kiekviename kūno skystyje esant bakteremijai. Tyrimai atlikti su mikroorganizmais ir be jų. Šios medžiagos netrukdydė išgauti ir aptikti organizmus ir nelėmė klaidingai teigiamų rezultatų, kai organizmų nėra.

Analitinis jautrumas: aptikimo riba (LoD)

Šioje lentelėje pateikiami vidinių pasėlių tyrimų rezultatų duomenys. Kiekviena rūšis tirta ne mažiau kaip 30 kartų. Šioje lentelėje pateikti duomenys gauti naudojant besibaigiančio galiojimo termino buteliukus. Į *H. influenzae* inokuliuotus buteliukus pridėta 4 ml žmogaus kraujo. Ties LoD aptikimas buvo bent 95 %.

1 lent.: Analitinis jautrumas: aptikimo riba (LoD)

Mikroorganizmas	Padermės ID	LoD (KSV buteliuke)
<i>Candida albicans</i>	ATCC® 14053™	6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC® 13048™	8
<i>Enterococcus faecalis</i>	NCTC 12697	5
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 12923	4
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC® 10211™	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	STL 104016	4
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC® 15313™	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NCTC 12924	4
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC® 14028™	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC 10788	5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC® 6305™	6

Pastaba. Pažymėjus teigiamais, 96,7 % buteliukų subkultivuoti per 30 minučių. STL 104016 gautas iš „bioMérieux“ vidinės kultūrų kolekcijos.

Analitinis jautrumas: augimas

Šioje lentelėje pateikti duomenys yra gauti atlikus vidaus tyrimus su krauju, surinktu iš sveikų savanorių žmonių, ir be jo. Buvo tirtos kelios padermės, kiekvienos rūšies tikslinis inokuliacijos lygis buvo 125 KSV buteliuke. Tikrieji inokuliacijos lygiai buvo 3–298 KSV buteliuke. Šiame pasėlių tyrime instrumentui pažymėjus BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukus teigiamais, jie subkultivuoti bent 24 valandas. Toliau išvardytos rūšys atspindi kliniškai dominuojančius organizmus kraujo kultūrose ir steriliuose kūno skysčiuose.

2 lent.: Analitinis jautrumas: augimas

Mikroorganizmas	Kraujas				Ne kraujas			
	Išgavimo % (n)	Diapazonas (KSV buteliuke)	Laikas iki aptikimo (valandos)		Atkuriamumas %* (n=3)	Diapazonas (KSV buteliuke)	Laikas iki aptikimo (valandos)	
			Vidurkis	Diapazonas			Vidurkis	Diapazonas
<i>Staphylococcus aureus</i>	100,0 (33/33)	54–150	13,4	12,2–15,6	100,0	116–150	16,7	14,6–18,2

Mikroorganizmas	Kraujas				Ne kraujas			
	Išgavimo % (n)	Diapazonas (KSV buteliuke)	Laikas iki aptikimo (valandos)		Atkuriamumas %* (n=3)	Diapazonas (KSV buteliuke)	Laikas iki aptikimo (valandos)	
			Vidurkis	Diapazonas			Vidurkis	Diapazonas
<i>Escherichia coli</i>	100,0 (33/33)	71–254	11,3	10,3–12,4	100,0	73–176	11,4	10,6–11,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100,0 (15/15)	74–148	16,0	13,7–18,6	100,0	74–148	20,8	17,8–25,6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100,0 (15/15)	89–123	11,3	10,6–12,3	100,0	95–123	12,0	11,6–12,4
<i>Candida albicans</i>	100,0 (38/38)	88–298	28,9	19,2–52,8	100,0	88–298	27,1	22,1–30,1
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100,0 (33/33)	3–260	13,9	10,8–16,5	100,0	4–25	14,3	13,0–16,3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100,0 (15/15)	44–135	17,6	14,3–36,0	100,0	45–105	21,4	19,0–24,8
<i>Enterococcus faecalis</i>	100,0 (15/15)	63–259	11,6	11,0–12,3	100,0	71–169	12,3	11,8–12,7
<i>Enterococcus faecium</i>	100,0 (15/15)	25–120	12,6	11,3–14,4	100,0	25–120	15,5	14,0–17,5
<i>Enterobacter cloacae</i>	100,0 (15/15)	111–200	12,0	10,8–15,7	100,0	111–185	11,7	11,3–12,0
<i>Candida glabrata</i>	100,0 (15/15)	118–281	44,8	27,3–64,8	100,0	118–194	39,9	30,9–50,4
<i>Haemophilus influenzae</i>	100,0 (15/15)	105–266	14,4	12,1–16,8	0	–	–	–
<i>Proteus mirabilis</i>	100,0 (15/15)	36–213	12,9	11,3–16,3	100,0	36–213	12,5	11,3–13,6

* Jei išgavimas yra mažesnis nei 100,0 %, rekomenduojama pridėti kraujo, pvz., sterilus defibrinuoto arklio kraujo (10,0 % v/v).¹¹

Kai kurių rūšių išgavimas mažesnis nei 100 %, pavyzdžiui, *Capnocytophaga ochracea*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Granulicatella adiacens* ir *Helicobacter cinaedi*.

Pakoregavus formulę buvo atliktas tiesioginis palyginamasis tyrimas su pakoreguoto „BACT/ALERT® FA Plus“ ir ankstesnio „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliukais, naudojant kliniškai reikšmingų mikroorganizmų grupę, tirtą su krauju ir be kraujo abiejose BACT/ALERT® 3D ir BACT/ALERT® VIRTUO mikroorganizmų aptikimo sistemose. 39 mikroorganizmų, kurių augimas buvo vertintas koreguoto „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliuke, atkuriamumas atitiko ankstesnio „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliuko lygiavertiškumo kriterijus.

38 iš 39 mikroorganizmų, kurių augimas buvo vertintas koreguoto „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliuke su krauju, laikas iki aptikimo (TTD) atitiko ankstesnio „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliuko lygiavertiškumo kriterijus. TTD delsa buvo stebėta *Haemophilus parainfluenzae* pakoreguoto „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliukuose, nors pakoreguotas ir ankstesnis pasėlis turėjo mažesnę kaip 100 % aptikimą, kaip nurodyta 2 lentelėje. Pakoreguoto „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliuke šių mikroorganizmų vidutinis TTD buvo greitesnis, tiriant su 10 ml kraujo: *Acinetobacter baumannii* (5 valandos), *Candida albicans* (2,4 valandos), *Candida glabrata* (35,2 valandos), *Enterobacter aerogenes* (2,8 valandos), *Enterobacter cloacae* (5,7 valandos), *Micrococcus luteus* (5,9 valandos), *Salmonella enterica* (4,3 valandos) ir *Shigella flexneri* (10,9 valandos).

32 iš 34 mikroorganizmų, kurių augimas buvo vertintas koreguoto „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliuke be kraujo, TTD atitiko ankstesnio „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliuko lygiavertiškumo kriterijus. Nenaudojant kraujo, *S. aureus* ir *S. pneumoniae* vidutinė TTD delsa atitinkamai buvo 1,7 ir 5 valandos, tiriant pakoreguoto „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliuke. Tačiau reikėtų atkreipti dėmesį, kad naudojant kraują TTD delsa nebuvo *S. aureus* ir *S. pneumoniae*. Nenaudojant kraujo, *C. albicans* ir *C. glabrata* vidutinė TTD delsa buvo spartesnė, atitinkamai – 3,6 ir 36,6 valandos, tiriant pakoreguoto „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliuke.

Klinikinių tyrimų rezultatai (kraujo pasėliai)

Rezultatuose lyginami „BACT/ALERT® FA Plus“ ir „BACT/ALERT® FA“ kraujo pasėliai (visos atitinkančios poros).

Trijose skirtingose įstaigose JAV atliktas daugiacentris klinikinis tyrimas, kuriame lygintos „BACT/ALERT® FA Plus“ ir BACT/ALERT® FA kraujo aerobinių organizmų pasėlio buteliukų, į kuriuos įpilta nuo 6 ml iki 10 ml kraujo (atitinkančios poros), charakteristikos. Iš 728 suaugusių pacientų, kuriems įtariamos bakterinės ar mieliagybių kraujo infekcijos, gautos 1656 buteliukų poros. Kai BACT/ALERT® sistema nustatydavo, kad nors vienas buteliukas yra teigiamas, abu buteliukai būdavo subkultivuojami. Buteliukai buvo laikomi teigiamais, kai arba „BACT/ALERT® FA Plus“, arba BACT/ALERT® FA pasėliu

¹¹ Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th ed. 2006, pp. 446,590.

buteliukų subkultūros buvo teigiamos. Pasėlio buteliukas buvo laikomas tikrai teigiamu, jei BACT/ALERT® sistema nustatydavo teigiamą pasėlį, o šį buteliuką subkultivuojant augo izoliatai. Apskaičiuoti „BACT/ALERT® FA Plus“ ir BACT/ALERT® FA pasėlio buteliukų tikrųjų teigiamų rezultatų dažniai, o charakteristikoms palyginti apskaičiuoti „BACT/ALERT® FA Plus“ ir BACT/ALERT® FA pasėlio buteliukų tikrųjų teigiamų rezultatų santykiai. Klinikinio tyrimo centruose išgauti klinikiniai izoliatai klasifikuoti kaip reikšmingi, užkrečiami arba nežinomi.

Iš visų tinkamų teigiamų aerobinių kraujo pasėlių porų išgauti 267 izoliatai. Iš 238 „BACT/ALERT® FA Plus“ ir BACT/ALERT® FA pasėlio buteliukų porų subkultivuojant išgautas bent vienas izoliatas. Iš viso iš 214 buteliukų porų išgauta po vieną izoliatą, iš 19 buteliukų porų išgauta po du izoliatas, o iš penkių buteliukų porų išgauta po tris izoliatas. Bendrąją toliau lentelėje pateiktą populiaciją sudaro 267 izoliatų, išgautų iš teigiamų buteliukų porų, ir 1418 neigiamų buteliukų porų, iš viso 1685 rezultatai. „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 208 izoliatai, o BACT/ALERT® FA pasėlio buteliukuose – 194 izoliatai. Iš jų „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 159 reikšmingi izoliatai, o BACT/ALERT® FA pasėlio buteliukuose – 135 izoliatai. Subkultivuojant teigiamus „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliukus nustatyti penki klaidingai teigiami rezultatai, jie sudarė 0,30 % (5/1685) tyrimo populiacijos.

Toliau pateiktose lentelėse palyginami tinkamų „BACT/ALERT® FA Plus“ ir BACT/ALERT® FA kraujo pasėlio buteliukų, kuriuos subkultivuojant gautas bet koks skaičius izoliatų (3 lentelė), vienas izoliatas (4 lentelė) ir keli izoliatai (5 lentelė), rezultatai.

3 lent.: Visos tinkamos poros, pavieniai ir keli izoliatai kartu (kraujo pasėliai)

Klinikinis apibrėžimas	„BACT/ALERT® FA Plus“ tikrieji teigiami rezultatai	„BACT/ALERT® FA Plus“ tikrųjų teigiamų rezultatų %	BACT/ALERT® FA tikrieji teigiami rezultatai	BACT/ALERT® FA tikrųjų teigiamų rezultatų %	Tikrųjų teigiamų rezultatų santykis*
Reikšmingas	159	9,4 (159/1685)	135	8,0 (135/1685)	1,178
Užkrečiamas	36	2,1 (36/1685)	47	2,8 (47/1685)	0,766
Nežinoma	13	0,8 (13/1685)	12	0,7 (12/1685)	1,083
Iš viso	208	12,3 (208/1685)	194	11,5 (194/1685)	1,072

* Tiek „BACT/ALERT® FA Plus“, tiek BACT/ALERT® FA aptikti šimtas trisdešimt penki (135) izoliatai, 73 aptikti tik „BACT/ALERT® FA Plus“, o 59 – tik BACT/ALERT® FA. Tikrųjų teigiamų ir bendrųjų izoliatų santykis buvo 1,072 (208/194) esant 95 % CI (0,952, 1,192).¹²

4 lent.: Visos tinkamos poros su pavieniais izoliatais (kraujo pasėliai)

Klinikinis apibrėžimas	BACT/ALERT® FA Plus tikrieji teigiami rezultatai	BACT/ALERT® FA tikrieji teigiami rezultatai	Tikrųjų teigiamų rezultatų santykis*
Reikšmingas	138	111	1,243
Užkrečiamas	26	33	0,788
Nežinoma	8	9	0,889
Iš viso	172	153	1,124

* Tiek „BACT/ALERT® FA Plus“, tiek BACT/ALERT® FA aptikti šimtas vienuolika (111) izoliatų, 61 aptiktas tik „BACT/ALERT® FA Plus“, o 42 – tik BACT/ALERT® FA. Tikrųjų teigiamų ir bendrųjų pavienių izoliatų santykis buvo 1,124 (172/153) esant 95 % CI (0,986, 1,262).¹³

¹² Kondratovich M. Comparing Two Medical Tests When Results of Reference Standard Are Unavailable for Those Negative via Both Tests. *J. Biopharm Stat* 2008;18:1,145-166.

¹³ Kondratovich M. Comparing Two Medical Tests When Results of Reference Standard Are Unavailable for Those Negative via Both Tests. *J. Biopharm Stat* 2008;18:1,145-166.

5 lent.: Visos tinkamos poros su keliais izoliatais (kraujo pasėliai)

Klinikinis apibrėžimas	„BACT/ALERT® FA Plus“ tikrieji teigiami rezultatai	BACT/ALERT® FA tikrieji teigiami rezultatai	Tikrųjų teigiamų rezultatų santykis*
Reikšmingas	21	24	0,875
Užkrečiamas	10	14	0,714
Nežinoma	5	3	1,667
Iš viso	36	41	0,878

* Tiek „BACT/ALERT® FA Plus“, tiek BACT/ALERT® FA aptikti dvidešimt keturi (24) izoliatai, 12 aptikta tik „BACT/ALERT® FA Plus“, o 17 – tik BACT/ALERT® FA. Tikrųjų teigiamų ir bendrųjų kelių izoliatų santykis buvo 0,878 (36/41) esant 95 % CI (0,637, 1,119).¹⁴

Šiame klinikiniam tyrime nustatyta 1413 „BACT/ALERT® FA Plus“ ir BACT/ALERT® FA pasėlio buteliukų porų, kurias inkubavus 5 dienas instrumento rezultatai buvo neigiami. Iš šių porų 95 subkultivuotos ir nustatyta po du klaidingai neigiamus „BACT/ALERT® FA Plus“ ir BACT/ALERT® FA pasėlio buteliukų rezultatus; subkultivuotos 1312 „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliukų poros ir nustatytas vienas klaidingai neigiamas rezultatas; šešios buteliukų poros nebuvo subkultivuotos. Rezultatai yra apibendrinti šioje lentelėje.

6 lent.: Klaidingai neigiamų rezultatų iš aerobinių kraujo pasėlio porų, kurios abiejų instrumentų buvo pažymėtos kaip neigiamos, procentinių reikšmių suvestinė

Subkultivuota BACT/ALERT® FA Plus	Subkultivuota BACT/ALERT® FA	BACT/ALERT® klaidingai neigiamų rezultatų % FA Plus	BACT/ALERT® FA klaidingai neigiamų rezultatų %
Taip	Taip	2,11 (2/95)	2,11 (2/95)
Taip	Ne	0,08 (1/1312)	–

Pagal galutines subkultūras, bendrasis „BACT/ALERT® FA Plus“ klaidingai neigiamų rezultatų dažnis buvo 0,2 % (3/1407).

Palyginamoji mikroorganizmų (izoliatų skaičius), išgautų iš „BACT/ALERT® FA Plus“ ir BACT/ALERT® FA subkultūrų, išveiga pateikta šioje lentelėje.

7 lent.: Palyginamoji mikroorganizmų išveiga (izoliatų skaičius) – kraujo pasėliai

Grupė	BACT/ALERT® FA Plus	BACT/ALERT® FA
Enterobacteriaceae	34	32
<i>Enterococcus</i> spp.	33	28
Mieliagrybiai	17	18
Nefermentacinės gramneigiamos bacilos	8	11
Kiti gramneigiami	4	3
Kiti gramteigiami	6	8
Neigiamos koaguliazės <i>Staphylococcus</i>	37	53
<i>Staphylococcus aureus</i>	52	30
<i>Streptococcus</i> spp.	17	11

Pastaba. Į izoliatų lentelę įtraukti polimikrobiniai pasėliai.

¹⁴ Kondratovich M. Comparing Two Medical Tests When Results of Reference Standard Are Unavailable for Those Negative via Both Tests. *J. Biopharm Stat* 2008;18:1,145-166.

Klinikinių tyrimų rezultatai (sterilių kūno skysčių pasėliai)

Keturiuose skirtinguose JAV ir Kanados įstaigose atliktas daugiacentris tyrimas, kuriuo palygintos „BACT/ALERT® FA Plus“ ir BACT/ALERT® FA pasėlio buteliukų charakteristikos tiriant sterilių kūno skysčių mėginius. Iš 369 suaugusių pacientų, kuriems įtariamos bakterijų ar mieliagrybių sterilių kūno skysčių infekcijos, gautos 404 buteliukų poros. Iš sterilių kūno skysčių vertinti amniono skystis, nepertraukiamos ambulatorinės peritoninės dializės (CAPD) skystis, nugaros smegenų skystis (CSF), pilvaplėvės skystis, pleuros skystis ir sinovijos skystis. Klinikinio tyrimo centruose išgauti klinikiniai izoliatai klasifikuoti kaip reikšmingi, užkrečiami arba nežinomi.

Iš visų teigiamų aerobinių sterilių kūno skysčių pasėlių porų išgauti 92 izoliatai. Iš 75 „BACT/ALERT® FA Plus“ ir BACT/ALERT® FA pasėlio buteliukų porų subkultivuojant išgautas bent vienas izoliatas. Iš viso iš 62 buteliukų porų išgauta po vieną izoliatą, iš devynių buteliukų porų išgauta po du izoliatas, o iš keturių buteliukų porų išgauta po tris izoliatas. Bendrąją toliau lentelėje pateiktą populiaciją sudaro 92 izoliatų, išgautų iš teigiamų buteliukų porų, ir 329 neigiamų buteliukų porų, iš viso 421 rezultatai. „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 85 izoliatai, o BACT/ALERT® FA pasėlio buteliukuose – 67 izoliatai. Iš jų „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 65 reikšmingi izoliatai, o BACT/ALERT® FA pasėlio buteliukuose – 59 izoliatai. „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliukuose nebuvo nustatytas nei vienas klaidingai teigiamas rezultatas (0/421).

Šioje lentelėje palyginami „BACT/ALERT® FA Plus“ ir „BACT/ALERT® FA“ sterilių kūno skysčių pasėlių, kuriuos subkultivuojant išgauta po vieną ar kelis izoliatas, rezultatai.

8 lent.: Visos poros, vienas ir keli izoliatai kartu (sterilių kūno skysčių pasėliai)

Klinikinis apibrėžimas	„BACT/ALERT® FA Plus“ tikrieji teigiami rezultatai	„BACT/ALERT® FA Plus“ tikrųjų teigiamų rezultatų %	BACT/ALERT® FA tikrieji teigiami rezultatai	BACT/ALERT® FA tikrųjų teigiamų rezultatų %	Tikrųjų teigiamų rezultatų santykis*
Reikšmingas	65	15,4 (65/421)	59	14,0 (59/421)	1,102
Užkrečiamas	13	3,1 (13/421)	2	0,5 (2/421)	6,500
Nežinoma	7	1,7 (7/421)	6	1,4 (6/421)	1,167
Iš viso	85	20,2 (85/421)	67	15,9 (67/421)	1,269

* Tiek „BACT/ALERT® FA Plus“, tiek BACT/ALERT® FA aptikta šešiasdešimt (60) izoliatų, 25 aptikti tik „BACT/ALERT® FA Plus“, o septyni – tik BACT/ALERT® FA. Tikrųjų teigiamų ir bendrųjų izoliatų santykis buvo 1,269 (85/67) esant 95 % CI (1,083, 1,455).¹⁵

Pastaba. Klinikiniam tyrimui gauta nedaug amniono skysčio (n = 2) ir smegenų skysčio (n = 38) mėginių.

Šioje lentelėje apibendrintas mažiausias mėginio tūris, gautas atliekant aerobinių sterilių kūno skysčių organizmų klinikinius tyrimus.

9 lent.: BACT/ALERT® FA Plus sterilių kūno skysčių užpildymo tūris (ml) – teigiami rezultatai

Mėginio tipas	Bendras mėginių sk.	Teigiamų sk.	Mažiausias mėginio tūris (ml)
Amniono skystis	2	1	1,0
CAPD skystis	94	26	1,0
CSF	38	4	0,1
Pilvaplėvės skystis	116	19	1,0
Pleuros skystis	106	17	0,5
Sinovijos skystis	48	8	0,5
Iš viso	404	75	–

Šiame klinikiniame tyrime nustatyta 329 „BACT/ALERT® FA Plus“ ir BACT/ALERT® FA pasėlio buteliukų porų, kurias inkubavus 5 dienas instrumento rezultatai buvo neigiami. 297 iš šių porų buvo subkultivuotos, nebuvo nustatyta klaidingai

¹⁵ Kondratovich M. Comparing Two Medical Tests When Results of Reference Standard Are Unavailable for Those Negative via Both Tests. *J. Biopharm Stat* 2008;18:1,145-166.

neigiamų rezultatų nei naudojant „BACT/ALERT® FA Plus“, nei BACT/ALERT® FA. 32 poros buvo subkultivuotos tik naudojant „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliukus, nebuvo gauta nei vieno klaidingai neigiamo rezultato. Rezultatai yra apibendrinti šioje lentelėje.

10 lent.: Aerobinių sterilių kūno skysčių pasėlių porų klaidingai neigiamų rezultatų, kurių abu buteliukus instrumentas pažymėjo kaip neigiamus, procentinės išraiškos

Subkultivuota BACT/ALERT® FA Plus	Subkultivuota BACT/ALERT® FA	„BACT/ALERT® FA Plus“ klaidingai neigiamų rezultatų %	BACT/ALERT® FA klaidingai neigiamų rezultatų %
Taip	Taip	0,0 (0/297)	0,0 (0/297)
Taip	Ne	0,0 (0/32)	–

Palyginamoji mikroorganizmų (izoliatų skaičius), išgautų iš „BACT/ALERT® FA Plus“ ir BACT/ALERT® FA subkultūrų, išėiga pateikta šioje lentelėje.

11 lent.: Palyginamoji mikroorganizmų išėiga (izoliatų skaičius) – sterilių kūno skysčių pasėliai

Grupė	BACT/ALERT® FA Plus	BACT/ALERT® FA
Enterobacteriaceae	8	7
<i>Enterococcus</i> spp.	12	10
Mieliagybiai	11	11
Nefermentacinės gramneigiamos bacilos	8	3
Kiti gramteigiami	5	3
Kiti gramneigiami	–	–
Neigiamos koaguliazės <i>Staphylococcus</i>	21	19
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	9
<i>Streptococcus</i> spp.	8	5

Pastaba. Į izoliatų lentelę įtraukti polimikrobiniai pasėliai.

Atliekant klinikinį tyrimą kokybė kontroliuota su kiekvienu iš 13 organizmų (*Candida albicans*, *Candida krusei*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Streptococcus pyogenes*), paruoštų nuosekliai skiedžiant ir sėjant į „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlių buteliukus esant 100 KSV buteliuke tikslinei inokuliacijai, kai priimtinas diapazonas buvo 30–300 KSV buteliuke. Gauti priimtini kokybės kontrolės rezultatai. Nepriimtini kokybės kontrolės rezultatai gauti dėl techninių klaidų (t. y. į diapazoną nepatenkantis kolonijų skaičius, užteršti ir netinkamai pažymėti buteliukai). Tiriant pakartotinai gauti priimtini rezultatai.

Atidėtas įkėlimas

Šioje lentelėje pateikti 11 rūšių pasėlių tyrimai (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Haemophilus influenzae*, and *Neisseria meningitidis*), atlikti trijose įstaigose, tikslinės koncentracijos buvo 100 KSV buteliuke (priimtinas diapazonas 30–300 KSV buteliuke). Tikrieji inokuliuoto lygiai buvo 35–290 KSV buteliuke. Visi buteliukai buvo tiriami su žmogaus krauju, paimtu iš sveikų savanorių. Prieš įkeliant į BACT/ALERT® 3D instrumentą, buteliukai nurodytą laiką buvo laikomi nurodytoje temperatūroje. Procentinė išgavimo reikšmė nurodo, kiek buteliukų instrumento pažymėti kaip teigiami, ir subkultūrą su kolonijų morfologija, sutampančia su pasėtu mikroorganizmu.

12 lent.: Atidėtas įkėlimas

Mėginio įdėjimas	Inkubacijos temperatūra (°C)	Laikymo trukmė (valandos)	Atkuriamumas, %	Laikas iki aptikimo nuo mėginio inokuliacijos (laikymo laikas + instrumento TTD valandomis)	
				Vidurkis	Diapazonas
Inokuliuoti tyrimo buteliukai	Kontrolė	Be atidėjimo	100,0 (459/459)	14,3	8,5–84,0
	2–8	48	98,6 (292/296)	63,7	57,5–103,2
	20–25	24	98,0 (291/297)	31,8	26,2–74,4
	20–25	36	91,9 (272/296)	41,8	38,0–70,5
	35–37	8	98,9 (454/459)	16,1	10,2–53,8
	35–37	24	56,6 (259/458)	28,3	26,0–74,4
Neigiamos kontrolės	Visos sąlygos		0,5 (1/221)*	–	–

* Atliekant pasėlių tyrimą nustatytas klaidingai teigiamas rezultatas (1/221).

PERSPĖJIMAS. Pasėlio buteliukuose, 35–37 °C temperatūroje laikytuose 24 valandas ar ilgiau, gali nebūti aptikta mikroorganizmų, todėl juos reikėtų subkultivuoti.

Laboratorijos tikslumas (pakartojamumas)

Šioje lentelėje pateikti vidinių pasėlių tyrimų, atliktų per 12 dienų, skirtingiems operatoriams naudojant skirtingus instrumentus, rezultatai. Mikroorganizmai buvo auginami esant klinikinio požūriui svarbioms antimikrobinėms medžiagoms, kuriems jie jautrūs, koncentracijoms. Šiame pasėlių tyrime instrumentui pažymėjus BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukus teigiamais, jie subkultivuoti bent 24 valandas. Iširta mažiausiai 108 kiekvieno organizmo / antimikrobinės medžiagos kombinacijos replikų.

13 lent.: Laboratorijos tikslumas (pakartojamumas)

Mėginio įdėjimas		Diapazonas (KSV buteliuke)	Atkuriamumas, %				Laikas iki aptikimo (valandos)	
Mikroorganizmas	Antimikrobinė medžiaga		1 partija	2 partija	3 partija	Iš viso	Vidurkis	Diapazonas
<i>C. albicans</i>	Flukonazolis	140–364	100,0	100,0	100,0	100,0	26,0	22,8–31,3
<i>E. coli</i>	Amikacinas	26–156	100,0	100,0	100,0	100,0	12,0	11,2–13,0
<i>K. pneumoniae</i>	Levofloksacinas	108–170	100,0	100,0	100,0	100,0	13,4	11,7–15,2
<i>P. aeruginosa</i>	Piperacilinas	80–148	100,0	97,2	100,0	99,1	19,2	17,4–24,1
<i>S. pneumoniae</i>	Penicilinas G	9–505	100,0	100,0	100,0	100,0	13,2	11,6–15,5
<i>S. aureus</i>	Vankomicinas	94–158	100,0	100,0	100,0	100,0	16,9	14,6–20,3

Atkartojamumas

Šioje lentelėje pateikti pasėlių tyrimų, atliktų trijose įstaigose, duomenys; kiekvienoje jų per 3 dienas bent du operatoriai pakartojo tyrimus 162 kartus. Vertintas kiekvieno iš devynių organizmų atkuriamumas. Du mikroorganizmai (*C. albicans* ir *S. pneumoniae*) paruošti nuosekliai skiedžiant, kiti septyni – naudojant BIOBALL® produktus. *C. albicans* ir *S. pneumoniae* pasėti į BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliuką tiksline 100 KSV inokuliacija, priimtinas diapazonas 30–300 KSV buteliuke, o kiti septyni mikroorganizmai – 1–17 KSV buteliuke tiksliu diapazonu. Tikroji 30–300 KSV buteliuke diapazono inokuliacija buvo 6–700 KSV buteliuke, o 1–17 KSV buteliuke diapazono – 1–270 KSV buteliuke. Procentinė išgavimo išraiška rodo teigiamą instrumento rezultatą ir dažymo Gramo metodu bei subkultivavimo rezultatą, sutampantį su pasėtu organizmu.

14 lent.: Atkartojamumas

Meginio įdėjimas	Atkuriamumas, %				Laikas iki aptikimo (valandos)		Inokuliacijos diapazonai (KSV buteliuke)
	1 vieta	2 vieta	3 vieta	Iš viso	Vidurkis	Diapazonas	
<i>S. aureus</i>	100,0 % (18/18)	87,5 % (21/24)	100,0 % (30/30)	95,8 % (69/72)	15,6	14,6–16,7	2–11
<i>C. albicans</i>	100,0 % (18/18)	83,3 % (30/36)	100,0 % (33/33)	93,1 % (81/87)	36,6	24,6–76,8	14–700
<i>E. coli</i>	100,0 % (27/27)	77,8 % (21/27)	100,0 % (30/30)	92,9 % (78/84)	12,8	11,8–14,1	1–38
<i>P. aeruginosa</i>	100,0 % (24/24)	75,0 % (18/24)	97,0 % (32/33)	91,4 % (74/81)	18,4	17,1–21,1	1–11
<i>E. faecalis</i>	100,0 % (18/18)	79,2 % (19/24)	96,7 % (29/30)	91,7 % (66/72)	13,9	12,6–15,3	1–15
<i>E. aerogenes</i>	74,4 % (29/39)	72,2 % (26/36)	85,4 % (41/48)	78,1 % (96/123)	14,9	11,7–20,8	<1–270*
<i>L. monocytogenes</i>	100,0 % (18/18)	100,0 % (24/24)	100,0 % (30/30)	100,0 % (72/72)	24,1	20,4–36,4	1–14
<i>S. enterica</i>	100,0 % (24/24)	75,0 % (18/24)	100,0 % (33/33)	92,6 % (75/81)	13,5	2,3–14,8	1–13
<i>S. pneumoniae</i>	100,0 % (30/30)	100,0 % (36/36)	100,0 % (21/21)	100,0 % (87/87)	14,2	11,6–18,9	6–500
Iš viso	95,4 % (206/216) 95 % PI: 91,7 %, 97,8 %	83,5 % (213/255) 95 % PI: 78,4 %, 87,9 %	96,9 % (279/288) 95 % PI: 94,2 %, 98,6 %	92,0 % (698/759) 95 % PI: 89,8 %, 93,8 %	-		

* 270 KSV buteliuke skaičius gautas nuosekliai skiedžiant.

Šiuos duomenis sudaro pakartotiniai tyrimai, atlikti dėl vienos įstaigos laboratorijos klaidų (t. y. užterštų butelių ar reagentų, į diapazoną nepatenkančio kolonijų skaičiaus ir įstaigai nepakeitus buteliuko būsenos instrumentui nustačius, kad subkultūra teigiama). Atmetus laboratorijos klaidas, atkuriamumas buvo 100 %, išskyrus *E. aerogenes*, kurio bendrasis atkuriamumas visuose centruose buvo 85 %.

BACT/ALERT® VIRTUO® mikroorganizmų aptikimo sistemos**Galimos trukdančios medžiagos**

Vidiniai pasėlių tyrimai atlikti su smegenų skysčiu, pleuros skysčiu, sinovijos skysčiu, plazma, krauju ir kraujo krešuliais. Į kiekvieną šių skysčių alikvotinę dalį pridėta baltųjų kraujo kūnelių, kad būtų gauta koncentracija, nustatoma kiekviename kūno skystyje esant bakteremijai. Tyrimai atlikti su mikroorganizmais ir be jų. Šios medžiagos netrukdydė išgauti ir aptikti organizmus ir nelėmė klaidingai teigiamų rezultatų, kai organizmų nėra.

Analitinis jautrumas: aptikimo riba (LoD)

Šioje lentelėje pateikiami vidinių pasėlių tyrimų rezultatų duomenys. Mažiausiai 60 BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliuku buvo iširta pagal rūšis. Ties LoD aptikimas buvo bent 95 %. Į buteliukus, inokuliuotus *H. influenzae*, įpilta 1 ml žmogaus kraujo, gauto iš sveikų suaugusiųjų populiacijos.

15 lent.: Analitinis jautrumas: aptikimo riba (LoD)

Mikroorganizmas	Padermės ID	BACT/ALERT® VIRTUO® (KSV buteliuke)
<i>Candida albicans</i>	ATCC® 14053™	7
<i>Enterococcus faecalis</i>	NCTC 12697	4
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 12923	4
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC® 10211™	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 9027™	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC 10788	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC® 6305™	3

Atidėtas įkėlimas

Šioje lentelėje pateikti 9 rūšių pasėlių tyrimų rezultatai (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* ir *Enterococcus faecium*), tikslinės koncentracijos buvo ≤ 100 KSV buteliuke. Tikrieji inokuliuoti lygiai buvo 5–84 KSV buteliuke. Buteliukai buvo tiriami be kraujo ir su 1 ml, 4 ml ir 10 ml žmogaus kraujo, išskyrus *N. meningitidis* (tik 4 ml ir 10 ml); kraujas paimtas iš sveikų savanorių. Prieš įkeliant į BACT/ALERT® VIRTUO® instrumentą, buteliukai buvo laikomi nurodytoje temperatūroje tam tikrą laiką. Procentinė išgavimo reikšmė nurodo, kiek buteliukų instrumento pažymėti kaip teigiami, ir subkultūrą su kolonijų morfologija, sutampančia su pasėtu mikroorganizmu.

16 lent.: Atidėtas įkėlimas

Mėginio įdėjimas	Inkubacijos temperatūra (°C)	Laikymo trukmė (valandos)	Atkuriamumas, %	Laikas iki aptikimo nuo mėginio inokuliuavimo (laikymo laikas + instrumento TTD valandomis)	
				Vidurkis	Diapazonas
Inokuliuoti tyrimo buteliukai	Kontrolė	Be atidėjimo	100,0 (539/539)	14,0	8,5–40,5
	35–37	8	99,8 (538/539)	17,0	10,7–37,4
	20–25	24	100,0 (539/539)	33,3	27,4–78,8
	20–25	36	99,8 (535/536)	43,7	37,5–130,1
	2–8	48	97,6 (519/532)*	62,5	56,9–87,5
Neigiamos kontrolės	Visos sąlygos		0,0 (0/64)†	–	–

* 12 iš 13 neigiamų buteliukų nustatyta tiriant *N. meningitidis*.

† Neigiamos kontrolės tirtos su 10 ml žmogaus kraujo.

PERSPĖJIMAS. Prieš įkeliant į instrumentą, kambario temperatūroje ilgiau kaip 24 valandas laikomi pasėlio buteliukai gali neaptikti mikroorganizmų, todėl juos reikia subkultivuoti.

Laboratorijos tikslumas (pakartojamumas)

Šioje lentelėje pateikti vidinių pasėlių tyrimų, vykdytų 20 dienų, skirtingiems operatoriams naudojant skirtingus instrumentus, rezultatai. Kiekvienas mikroorganizmas ir tirama partija iširta mažiausiai 60 kartų. Buteliukai buvo tiriami be kraujo, nebent nurodyta kitaip.

17 lent.: Laboratorijos tikslumas (pakartojamumas)

Mėginio įdėjimas	Diapazonas (KSV buteliuke)	Atkuriamumas, %				Laikas iki aptikimo (valandos)	
		1 partija	2 partija	3 partija	Iš viso	Vidurkis	Diapazonas
<i>Candida albicans</i>	3–30	100,0 (141/141)	100,0 (144/144)	100,0 (60/60)	100,0 (345/345)	27,1	21,4–40,0
<i>Enterococcus faecalis</i>	3–16	100,0 (162/162)	100,0 (162/162)	100,0 (60/60)	100,0 (384/384)	10,9	9,6–12,4
<i>Escherichia coli</i>	8–20	100,0 (153/153)	100,0 (153/153)	100,0 (60/60)	100,0 (366/366)	9,6	8,7–10,8
<i>Haemophilus influenzae</i> *	1–24	100,0 (162/162)	100,0 (162/162)	100,0 (60/60)	100,0 (384/384)	13,6	11,0–21,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5–17	100,0 (162/162)	100,0 (162/162)	100,0 (60/60)	100,0 (384/384)	14,7	12,8–17,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	5–16	100,0 (171/171)	100,0 (171/171)	100,0 (60/60)	100,0 (402/402)	12,7	11,5–15,0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1–29	100,0 (162/162)	100,0 (162/162)	100,0 (60/60)	100,0 (384/384)	12,0	9,6–15,6

* Iširta su 4 ml kraujo.

BACT/ALERT® 3D ir BACT/ALERT® VIRTUO® sistemų lyginamieji duomenys**Analitinis jautrumas: augimas**

Šiose lentelėse pateikti duomenys rodo vidinių pasėlių tyrimų be kraujo ir su krauju (4 ml ir 10 ml), paimtu iš sveikų žmonių donorų, rezultatus. Ištirta viena padermė, kiekvienos rūšies tikslinis inokuliacijos lygis buvo ≤ 30 KSV buteliuke. Tikrieji inokuliacijos lygiai buvo nuo 7–30 KSV buteliuke tiek naudojant BACT/ALERT® 3D, tiek BACT/ALERT® VIRTUO®. Subkultivuoti du teigiami buteliukai mikroorganizmui, siekiant įvertinti grynumą. Toliau išvardytos rūšys atspindi kliniškai dominuojančius organizmus kraujo kultūrose ir steriliuose kūno skysčiuose.

18 lent.: Analitinis jautrumas: Augimas BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D buteliukuose, ištirtas su krauju

Mikroorganizmas	„BACT/ALERT® FA Plus“ BACT/ALERT® VIRTUO® – tiriant su krauju				„BACT/ALERT® FA Plus“ BACT/ALERT® 3D – tiriant su krauju			
	Atkuriamumo % (n)	Vidutiniškai KSV buteliuke	Iki aptikimo likęs laikas		Atkuriamumo % (n)	Vidutiniškai KSV buteliuke	Iki aptikimo likęs laikas	
			Vidurkis	Diapazonas			Vidurkis	Diapazonas
<i>Abiotrophia defectiva</i>	100,0 (18/18)	23	15,1	14,2–16,1	100,0 (12/12)	15	22,0	19,0–28,6
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	100,0 (18/18)	21	30,4	22,2–36,2	100,0 (18/18)	21	34,8	28,1–39,8
<i>Campylobacter jejuni</i>	100,0 (18/18)	7	40,2	34,2–50,2	100,0 (18/18)	7	44,6	37,7–54,5
<i>Candida albicans</i>	100,0 (18/18)	11	27,0	23,4–29,8	100,0 (18/18)	11	28,5	26,6–31,7
<i>Candida glabrata</i>	100,0 (18/18)	7	45,5	38,4–57,2	100,0 (18/18)	7	50,4	45,6–55,9
<i>Candida krusei</i>	100,0 (18/18)	20	17,1	16,1–17,9	100,0 (18/18)	20	19,1	18,7–19,7
<i>Cardiobacterium hominis</i>	100,0 (18/18)	12	45,6	39,7–52,4	100,0 (18/18)	12	57,6	50,9–65,5
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	100,0 (18/18)	8	34,7	28,2–50,7	100,0 (17/17)	8	68,6	48,5–112,8
<i>Cryptococcus neoformans</i>	100,0 (16/16)	30	56,1	20,7–67,4	100,0 (18/18)	30	57,6	54,2–59,5
<i>Eikenella corrodens</i>	100,0 (18/18)	24	22,2	20,1–23,6	100,0 (18/18)	24	25,3	24,0–26,6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	100,0 (18/18)	10	11,3	10,3–13,0	100,0 (18/18)	10	12,7	12,0–13,4
<i>Enterococcus faecalis</i>	100,0 (18/18)	11	10,3	9,4–11,0	100,0 (18/18)	11	12,3	12,0–13,0
<i>Escherichia coli</i>	100,0 (18/18)	9	9,3	8,6–10,1	100,0 (18/18)	9	11,1	9,1–11,8
<i>Haemophilus influenzae</i>	100,0 (18/18)	18	14,1	9,1–16,3	100,0 (18/18)	18	17,6	16,6–18,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100,0 (18/18)	9	9,7	8,8–10,4	100,0 (18/18)	9	11,9	11,5–12,2
<i>Listeria monocytogenes</i>	100,0 (18/18)	19	19,7	18,2–21,3	100,0 (18/18)	19	20,8	20,2–21,6
<i>Micrococcus luteus</i>	100,0 (18/18)	24	32,7	30,0–36,1	100,0 (18/18)	24	34,7	32,4–37,7
<i>Neisseria meningitidis</i>	100,0 (18/18)	8	20,4	18,0–23,8	100,0 (18/18)	8	22,4	20,4–25,0
<i>Proteus vulgaris</i>	100,0 (18/18)	22	11,8	11,0–12,5	100,0 (18/18)	22	13,6	13,2–13,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100,0 (18/18)	12	14,4	13,8–15,2	100,0 (18/18)	12	16,8	16,3–18,0
<i>Salmonella enterica</i>	100,0 (18/18)	9	11,5	10,6–12,5	100,0 (18/18)	9	13,6	12,5–15,1
<i>Serratia marcescens</i>	100,0 (18/18)	10	11,4	10,7–12,3	100,0 (18/18)	10	13,2	12,5–14,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	100,0 (18/18)	14	10,7	10,1–11,5	100,0 (18/18)	15	13,2	12,7–13,9
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100,0 (18/18)	11	15,9	14,1–18,0	100,0 (18/18)	11	17,7	16,6–18,7
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	100,0 (16/16)	22	54,0	24,8–83,9	100,0 (18/18)	22	31,9	27,6–37,0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	100,0 (18/18)	13	11,9	10,5–13,3	100,0 (18/18)	13	15,0	13,9–16,1
<i>Streptococcus mitis</i>	100,0 (18/18)	17	9,3	8,6–10,4	100,0 (18/18)	17	11,7	11,3–12,0

Mikroorganizmas	„BACT/ALERT® FA Plus“ BACT/ALERT® VIRTUO® – tiriant su krauju				„BACT/ALERT® FA Plus“ BACT/ALERT® 3D – tiriant su krauju			
	Atkuriamumo % (n)	Vidutiniškai KSV buteliuke	Iki aptikimo likęs laikas		Atkuriamumo % (n)	Vidutiniškai KSV buteliuke	Iki aptikimo likęs laikas	
			Vidurkis	Diapazonas			Vidurkis	Diapazonas
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100,0 (18/18)	22	11,4	10,6–12,1	100,0 (18/18)	22	13,7	13,4–14,2
<i>Streptococcus pyogenes</i>	100,0 (18/18)	16	10,4	9,8–10,9	100,0 (18/18)	16	12,4	11,5–13,0

19 lent.: Analitinis jautrumas: Augimas BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D buteliukuose, iširtas be krauju

Mikroorganizmas	„BACT/ALERT® FA Plus“ BACT/ALERT® VIRTUO® – tiriant be krauju				„BACT/ALERT® FA Plus“ BACT/ALERT® 3D – tiriant be krauju			
	Atkuriamumo % (n)	Vidutiniškai KSV buteliuke	Iki aptikimo likęs laikas		Atkuriamumo % (n)	Vidutiniškai KSV buteliuke	Iki aptikimo likęs laikas	
			Vidurkis	Diapazonas			Vidurkis	Diapazonas
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	100,0 (9/9)	21	30,3	27,8–32,2	100,0 (9/9)	21	36,2	32,9–43,2
<i>Campylobacter jejuni</i>	100,0 (6/6)	7	45,8	40,2–52,0	100,0 (9/9)	7	49,2	47,3–51,4
<i>Candida albicans</i>	100,0 (9/9)	11	25,9	24,3–28,1	100,0 (9/9)	11	29,1	27,4–32,4
<i>Candida glabrata</i>	100,0 (9/9)	7	52,5	35,7–64,7	100,0 (9/9)	7	69,4	55,9–82,6
<i>Candida krusei</i>	100,0 (9/9)	20	20,6	17,9–22,0	100,0 (9/9)	20	22,5	20,6–24,2
<i>Cardiobacterium hominis</i>	100,0 (9/9)	12	55,3	52,8–59,1	0,0 (0/9)	12	Netaikoma	Netaikoma
<i>Cryptococcus neoformans</i>	100,0 (9/9)	30	62,6	54,5–73,4	100,0 (9/9)	30	62,8	58,8–66,5
<i>Enterobacter aerogenes</i>	100,0 (9/9)	10	10,2	9,7–11,7	100,0 (9/9)	10	12,9	12,2–13,2
<i>Enterococcus faecalis</i>	100,0 (9/9)	11	10,2	9,4–10,9	100,0 (9/9)	11	13,5	13,2–13,9
<i>Escherichia coli</i>	100,0 (9/9)	9	8,8	8,3–9,9	100,0 (9/9)	9	11,4	10,8–11,8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100,0 (9/9)	9	9,7	9,1–10,9	100,0 (9/9)	9	12,3	12,0–12,5
<i>Listeria monocytogenes</i>	100,0 (9/9)	19	18,7	17,2–19,6	100,0 (9/9)	19	20,2	19,7–20,9
<i>Micrococcus luteus</i>	100,0 (9/9)	24	31,8	31,1–33,1	100,0 (9/9)	24	35,4	34,8–36,7
<i>Proteus vulgaris</i>	100,0 (9/9)	22	10,8	10,2–11,2	100,0 (9/9)	22	13,3	13,0–13,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100,0 (9/9)	12	14,9	14,1–15,8	100,0 (9/9)	12	18,4	17,8–19,0
<i>Salmonella enterica</i>	100,0 (9/9)	9	10,4	10,0–10,9	100,0 (9/9)	9	13,3	12,5–13,9
<i>Serratia marcescens</i>	100,0 (9/9)	10	11,3	10,9–12,5	100,0 (9/9)	10	13,8	13,0–15,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	100,0 (9/9)	14	12,4	11,0–13,3	100,0 (9/9)	15	15,0	14,4–16,6
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100,0 (9/9)	11	17,9	16,4–19,2	100,0 (9/9)	11	20,9	20,4–21,6
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	100,0 (9/9)	22	45,0	31,2–56,9	100,0 (9/9)	22	42,7	33,6–63,8
<i>Streptococcus agalactiae</i>	100,0 (9/9)	13	10,2	9,9–10,8	100,0 (9/9)	13	13,5	13,2–13,9
<i>Streptococcus mitis</i>	100,0 (9/9)	17	9,0	8,6–9,8	100,0 (9/9)	17	12,6	12,0–13,7
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100,0 (9/9)	22	10,8	10,2–11,5	100,0 (9/9)	22	13,4	12,7–14,2
<i>Streptococcus pyogenes</i>	100,0 (9/9)	16	10,5	10,0–11,9	100,0 (9/9)	16	13,0	12,7–13,4

Pastaba. Išgaunant *A. defectiva*, *E. corrodens*, *H. influenzae*, *C. jeikeium* ir *N. meningitidis* „BACT/ALERT®FA Plus“ buteliukuose, tiriant bet kuriuo instrumentu reikalingas kraujas, todėl „BACT/ALERT® FA Plus“ buteliukai be kraujo buvo pašalinti iš šių mikroorganizmų analizės. Žr. 18 lentelę, kurioje pateikiami duomenys apie šiuos mikroorganizmus, tiriant su krauju.

Pastaba. *C. hominis* neaptiktas BACT/ALERT® 3D instrumente tiriant be kraujo. Tačiau, subkultivavus neigiamus *C. hominis* buteliukus į kietą terpę, stebėtas grynas augimas.

Klinikinių tyrimų rezultatai (kraujo pasėliai)

Pagal rezultatus lyginami BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D su „BACT/ALERT® FA Plus“ buteliukais naudojant kraujo pasėlius (visoms atitinkančioms poroms).

Daugiacentris kliniškinis tyrimas buvo vykdomas trijose skirtingose geografinėse JAV ir Kanados vietovėse, lygintas BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D aerobinių pasėlių porų augimas, kai kiekvienas buteliukas buvo pripildytas iki 10 ml kraujo, ir buteliuko su mažiausiu tūriu kraujo tūris sudarė 30 % didžiausio buteliuko tūrio (atitinkančios poros). Iš 637 suaugusių pacientų, kuriems įtariamos bakterinės ar mieliagybių kraujo infekcijos, gautos 1053 buteliukų poros. Kai BACT/ALERT® VIRTUO® sistema arba BACT/ALERT® 3D sistema nustatydavo, kad nors vienas poros buteliukas yra teigiamas, abu buteliukai būdavo subkultivuojami. Buteliukai buvo laikomi teigiamais, kai arba BACT/ALERT® VIRTUO®, arba „BACT/ALERT® 3D FA Plus“ pasėlio buteliukų subkultūros buvo teigiamos. Pasėlio buteliukas buvo laikomas „tikrai teigiamu“, jei BACT/ALERT® VIRTUO® sistema arba BACT/ALERT® 3D sistema pažymėdavo pasėlį kaip teigiamą ir subkultivuojant šį buteliuką augdavo izoliatas. Apskaičiuoti „BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus“ ir „BACT/ALERT® 3D FA Plus“ pasėlio buteliukų tikrai teigiamų rezultatų dažniai, o charakteristikoms palyginti apskaičiuoti „BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus“ ir „BACT/ALERT® 3D FA Plus“ pasėlio buteliukų tikrai teigiamų rezultatų santykiai. Kliniškinio tyrimo centruose išgauti kliniškiniai izoliatai klasifikuoti kaip reikšmingi, užkrečiami arba nežinomi.

Iš visų tinkamų teigiamų aerobinių kraujo pasėlių porų išgauti 98 izoliatai. Iš viso buvo 94 buteliukų poros, kurias subkultivuojant išgautas bent vienas izoliatas naudojant BACT/ALERT® VIRTUO® arba „BACT/ALERT® 3D FA Plus“ pasėlio buteliukus. Iš viso iš 91 buteliukų porų išgauta po vieną izoliatą, iš 2 buteliukų porų išgauta po du izoliatus, o iš 1 buteliukų poros išgauta po tris izoliatus. Bendrąją toliau lentelėje pateiktą populiaciją sudaro 98 izoliatų, išgautų iš teigiamų buteliukų porų, ir 959 neigiamų buteliukų porų, iš viso 1057 rezultatai. „BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus“ pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 73 izoliatai, palyginti su „BACT/ALERT® 3D FA Plus“ pasėlio buteliukais, kur aptikti 79 izoliatai. „BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus“ pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 64 reikšmingi izoliatai, o „BACT/ALERT® 3D FA Plus“ pasėlio buteliukuose – 66 izoliatai. Tyrimo populiacijoje nenustatyta jokių klaidingai teigiamų rezultatų subkultivuojant teigiamus „BACT/ALERT® VIRTUO™ FA Plus“ pasėlio buteliukus (0/1057). Tyrimo populiacijoje nenustatyta jokių klaidingai teigiamų rezultatų subkultivuojant teigiamus „BACT/ALERT® 3D FA Plus“ pasėlio buteliukus (0/1057).

Toliau pateiktose lentelėse palyginami BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D kraujo pasėlių rezultatai naudojant visus tinkamus „BACT/ALERT® FA Plus“ kraujo pasėlio buteliukus, kuriuos subkultivuojant gautas bet koks skaičius izoliatų (20 lentelė), vienas pavienis izoliatas (21 lentelė) ir keli izoliatai (22 lentelė).

20 lent.: Kraujas – atitinkantis – vienas izoliatas ir keli izoliatai

Kliniškinis apibrėžimas	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	Tikrai teigiamų rezultatų santykis	95 % PI (LCL, UCL)
Reikšmingas	64	6,1 (64/1057)	66	6,2 (66/1057)	0,970	0,821, 1,119
Užkrečiamas	7	0,7 (7/1057)	11	1,0 (11/1057)	0,636	–
Nežinoma	2	0,2 (2/1057)	2	0,2 (2/1057)	1,000	–
Iš viso	73	6,9 (73/1057)	79	7,5 (79/1057)	0,924	0,766, 1,082

21 lent.: Kraujas – atitinkantis – vienas izoliatas

Kliniškinis apibrėžimas	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	Tikrai teigiamų rezultatų santykis	95 % PI (LCL, UCL)
Reikšmingas	57	5,4 (57/1050)	60	5,7 (60/1050)	0,950	0,791, 1,109

Klinikinis apibrėžimas	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	Tikrai teigiamų rezultatų santykis	95 % PI (LCL, UCL)
Užkrečiamas	7	0,7 (7/1050)	11	1,0 (11/1050)	0,636	–
Nežinoma	2	0,2 (2/1050)	2	0,2 (2/1050)	1,000	–
Iš viso	66	6,3 (66/1050)	73	7,0 (73/1050)	0,904	0,737, 1,071

22 lent.: Kraujas – atitinkantis – keli izoliatai

Klinikinis apibrėžimas	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	Tikrai teigiamų rezultatų santykis	95 % PI (LCL, UCL)
Reikšmingas	7	100,0 (7/7)	6	85,7 (6/7)	1,167	0,814, 1,520
Užkrečiamas	0	0,0 (0/7)	0	0,0 (0/7)	–	–
Nežinoma	0	0,0 (0/7)	0	0,0 (0/7)	–	–
Iš viso	7	100,0 (7/7)	6	85,7 (6/7)	1,167	0,814, 1,520

Palyginamoji mikroorganizmų, išgautų iš BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D, išeiga (izoliatų skaičius) subkultivuoiant „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliukus, pateikta šioje lentelėje.

23 lent.: Palyginamoji mikroorganizmų išeiga (izoliatų skaičius) – kraujo pasėliai

Grupė	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
Anaerobai	2	0
Enterobacteriaceae	18	18
<i>Enterococcus</i> spp.	7	7
Mieliagybiai	3	1
Nefermentacinės gramneigiamos bacilos	6	5
Kiti gramneigiami	0	1
Kiti grameigiami	1	5
Neigiamos koaguliazės <i>Staphylococcus</i>	12	16
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	19
<i>Streptococcus</i> spp.	7	6
Kita	1	1

Pastaba. Į izoliatų lentelę įtraukti polimikrobiniai pasėliai.

Klinikiniame tyrime nustatytos 1317 BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D pasėlio buteliukų poros, kurių abu buteliukus inkubavus 5 dienas instrumento rezultatai buvo neigiami. Iš šių porų galutinai subkultivuotos 624 poros, aptiktas vienas klaidingai neigiamas rezultatas naudojant tiek BACT/ALERT® VIRTUO®, tiek BACT/ALERT® 3D; 9 poros subkultivavus tik BACT/ALERT® VIRTUO® buteliukuose jokių klaidingai neigiamų rezultatų neaptikta; subkultivavus 7 poros tik BACT/ALERT® 3D buteliukuose jokių klaidingai neigiamų rezultatų neaptikta; 677 buteliukų poros nebuvo subkultivuotos. Pasėlio buteliukas nustatytas kaip klaidingai neigiamas, jei buteliuko rezultatas buvo neigiamas instrumente, o subkultivuoiant buteliuką pastebėtas augimas.

24 lent.: Klaidingai neigiamų rezultatų iš aerobinių kraujo pasėlio porų, kurios abiejų instrumentų buvo pažymėtos kaip neigiamos, procentinių reikšmių suvestinė

Subkultivuota BACT/ALERT® VIRTUO®	Subkultivuota BACT/ALERT® 3D	Klaidingai neigiami rezultatai BACT/ALERT® VIRTUO®, %	Klaidingai neigiami rezultatai BACT/ALERT® 3D, %
Taip	Taip	0,16 (1/624)	0,16 (1/624)
Taip	Ne	0,00 (0/9)	–
Ne	Taip	–	0,00 (0/7)

Pagal galutines subkultūras bendrasis BACT/ALERT® VIRTUO® klaidingai neigiamų rezultatų dažnis buvo 0,16 % (1/633).

Klinikinių tyrimų rezultatai (sterilių kūno skysčių pasėliai)

Trijose skirtingose JAV ir Kanados geografinėse vietovėse atliktas daugiacentris klinikinis tyrimas, kuriuo palygintas „BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus“ ir „BACT/ALERT® 3D FA Plus“ pasėlio buteliukų veiksmingumas tiriant sterilių kūno skysčių mėginius. Iš 284 suaugusių pacientų, kuriems įtariamos bakterijų ar mieliagrybių sterilių kūno skysčių infekcijos, gautos 362 buteliukų poros. Vertinti sterilūs kūno skysčių tipai: nepertraukiamos ambulatorinės peritoninės dializės (CAPD) skystis, smegenų skystis (CSF), perikardinis skystis, pilvaplėvės skystis, pleuros skystis ir sinovijos skystis. Klinikinio tyrimo centruose išgauti klinikiniai izoliatai klasifikuoti kaip reikšmingi, užkrečiami arba nežinomi.

Iš visų teigiamų aerobinių sterilių kūno skysčių pasėlių porų išgauti 66 izoliatai. Iš 54 buteliukų porų subkultivuoiant „BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus“ ar „BACT/ALERT® 3D FA Plus“ pasėlio buteliukus išgautas bent vienas izoliatas. Iš viso iš 46 buteliukų porų išgauta po vieną izoliatą, iš 5 buteliukų porų išgauta po du izoliatus, iš 2 buteliukų porų išgauta po tris izoliatus, iš 1 buteliukų poros išgauta po keturis izoliatus. Bendrąją toliau lentelėje pateiktą populiaciją sudaro 66 izoliatų, išgautų iš teigiamų buteliukų porų, ir 308 neigiamos buteliukų poros, iš viso 374 rezultatai. „BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus“ pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 55 izoliatai, palyginti su „BACT/ALERT® 3D FA Plus“ pasėlio buteliukais, kur aptikti 52 izoliatai. „BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus“ pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 42 reikšmingi izoliatai, o BACT/ALERT® 3D FA pasėlio buteliukuose – 42 izoliatai. Tyrimo populiacijoje nenustatyta jokių klaidingai teigiamų rezultatų subkultivuoiant teigiamus „BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus“ pasėlio buteliukus (0/374). Tyrimo populiacijoje nenustatyta jokių klaidingai teigiamų rezultatų subkultivuoiant teigiamus „BACT/ALERT® 3D FA Plus“ pasėlio buteliukus (0/374).

Toliau pateiktoje lentelėje lyginami rezultatai naudojant „BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus“ ir „BACT/ALERT® 3D FA Plus“ sterilių kūno skysčių pasėlius, kuriuos subkultivuoiant išgauta po vieną izoliatą ar kelis izoliatus.

25 lent.: Sterilūs kūno skysčiai – vienas izoliatas ir keli izoliatai

Klinikinis apibrėžimas	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	Tikrai teigiamų rezultatų santykis	95 % PI (LCL, UCL)
Reikšmingas	42	11,2 (42/374)	42	11,2 (42/374)	1,000	0,852, 1,148
Užkrečiamas	8	2,1 (8/374)	6	1,6 (6/374)	1,333	–
Nežinoma	5	1,3 (5/374)	4	1,1 (4/374)	1,250	–
Iš viso	55	14,7 (55/374)	52	13,9 (52/374)	1,058	0,864, 1,252

Palyginamoji mikroorganizmų, išgautų iš BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D, išėiga (izoliatų skaičius) subkultivuoiant „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliukus, pateikta 26 lentelėje, o teigiamų mėginių skaičius pagal skysčio tipą pateiktas 27 lentelėje.

26 lent.: Palyginamoji mikroorganizmų išėiga (izoliatų skaičius) – sterilių kūno skysčių pasėliai

Grupė	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
Anaerobai	–	–
Enterobacteriaceae	15	15
<i>Enterococcus</i> spp.	4	5

Grupė	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
Mieliagybiai	5	4
Nefermentacinės gramneigiamos bacilos	6	5
Kiti gramneigiami	1	0
Kiti gramteigiami	0	2
Neigiamos koaguliazės <i>Staphylococcus</i>	4	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	3
<i>Streptococcus</i> spp.	17	12
Kita	–	–

Pastaba. Į izoliatų lentelę įtraukti polimikrobiniai pasėliai.

27 lent.: Teigiamų mėginių skaičius – sterilių kūno skysčių pasėliai

Sterilių kūno skysčių tipas	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
CAPD	2	2
Perikardo	1	0
Pilvaplėvės	20	21
Pleuros	21	19
Sinovijos	4	5

Klinikiniame tyrime nustatytos 308 BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D pasėlio buteliukų poros, kurių abu buteliukus inkubavus 5 dienas instrumento rezultatai buvo neigiami. Iš šių porų galutinai subkultivuotos 236 poros, neaptiktas nė vienas klaidingai neigiamas rezultatas naudojant BACT/ALERT® VIRTUO® arba BACT/ALERT® 3D; 4 poros subkultivavus tik BACT/ALERT® VIRTUO® buteliukuose jokių klaidingai neigiamų rezultatų neaptikta; subkultivavus 3 poros tik BACT/ALERT® 3D buteliukuose jokių klaidingai neigiamų rezultatų neaptikta; 65 buteliukų poros nebuvo subkultivuotos. Pasėlio buteliukas nustatytas kaip klaidingai neigiamas, jei buteliuko rezultatas buvo neigiamas instrumente, o subkultivuoiant buteliuką pastebėtas augimas.

28 lent.: Klaidingai neigiamų rezultatų, tiriant aerobinių sterilių kūno skysčių pasėlių poras, kurios abiejų instrumentų buvo pažymėtos kaip neigiamos, procentinių reikšmių suvestinė

Subkultivuota BACT/ALERT® VIRTUO®	Subkultivuota BACT/ALERT® 3D	Klaidingai neigiami rezultatai BACT/ALERT® VIRTUO®, %	Klaidingai neigiami rezultatai BACT/ALERT® 3D, %
Taip	Taip	0,00 (0/236)	0,00 (0/236)
Taip	Ne	0,00 (0/4)	–
Ne	Taip	–	0,00 (0/3)

Klaidingai teigiamų rezultatų suvestinė

Pasėlio buteliukas buvo laikomas klaidingai teigiamu, jeigu BACT/ALERT® VIRTUO® sistema arba BACT/ALERT® 3D sistema pažymėdavo pasėlį kaip teigiamą, o subkultivavus šį buteliuką rezultatas buvo neigiamas. Tyrimo populiaciją sudarė pasėlių poros, kuriose buvo ≤ 10 ml tūrio mėginio. Klaidingai teigiami rezultatai buvo nustatyti subkultivuoiant teigiamus BACT/ALERT® VIRTUO® buteliukus ir teigiamus BACT/ALERT® 3D buteliukus, atitinkančius tyrimo populiacijų proporcijas pagal atitinkamų kraujo pasėlių arba sterilių kūno skysčių pasėlių bendrus skaičius.

29 lent.: Klaidingai teigiamų rezultatų suvestinė

Buteliuko tipas – mėginio tipas	Klaidingai teigiami rezultatai BACT/ALERT® VIRTUO®, %	Klaidingai teigiami rezultatai BACT/ALERT® 3D, %
„BACT/ALERT® FA Plus“ – kraujas	0,00 (0/1441)	0,00 (0/1441)

Buteliuko tipas – mėginio tipas	Klaidingai teigiami rezultatai BACT/ALERT® VIRTUO®, %	Klaidingai teigiami rezultatai BACT/ALERT® 3D, %
„BACT/ALERT® FA Plus“ – sterilūs kūno skysčiai	0,00 (0/362)	0,00 (0/362)

RIBOTOJI GARANTIJA

„bioMérieux“ garantuoja, kad gaminys veiks pagal nurodytą naudojimo paskirtį, jei bus griežtai laikomasi visų naudojimo, laikymo ir tvarkymo procedūrų bei atsižvelgiama į eksploataavimo trukmę (jei taikoma) ir atsargumo priemones, išdėstytas naudojimo instrukcijose.

Išskyrus pirmiau aiškiai išreikštą garantiją, „bioMérieux“ šiuo dokumentu atsisako visų garantijų, įskaitant bet kokias numanomas perkamumo arba tinkamumo konkrečiam tikslui ar naudojimo paskirčiai garantijas, ir atsisako tiek tiesioginės, tiek netiesioginės, tiek šalutinės atsakomybės už reagentų, programinės įrangos, instrumentų ir vienkartinį medžiagų („sistema“) naudojimą naudojimo instrukcijose nenurodytais tikslais.

PRIEINAMUMAS

bioMérieux BACT/ALERT® FA Plus	100/dėžėje	 410851
-----------------------------------	------------	--

Techninės pagalbos JAV kreipkitės į „bioMérieux“ klientų aptarnavimo skyrių telefonu 1-800-682-2666. Ne JAV kreipkitės į vietinį „bioMérieux“ atstovą.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	Gamintojas
	Pagaminimo data
	Temperatūriniai apribojimai
	Snaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
	Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje
	Šia puse į viršų
	<i>In Vitro</i> diagnostinės medicinos priemonė
	Nenaudokite pakartotinai
	Sudėtyje nėra latekso

Simbolis	Reikšmė
	Tik JAV: Federaliniai JAV įstatymai apriboja teisę praktikuojantiems gydytojams pardavinėti šią priemonę
	Pripildymo žyma

Naudojimo instrukcijos pridedamos prie rinkinio, jas taip pat galite atsisiųsti iš tinklalapio www.biomerieux.com/techlib

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ

Pakeitimo tipo kategorijos

Net.	Netaikoma (pirmoji publikacija)
Pataisymas	Dokumentų klaidų pataisymas
Techninis pakeitimas	Su produktu susijusios informacijos papildymas, pakeitimas ir (arba) pašalinimas
Administracinis reikalavimas	Naudotojui pastebimų netechninių pakeitimų atlikimas

Pastaba. Nedideli tipografiniai, gramatikos ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukti į laidos istoriją.

Leidimo data	Dalies numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2020-02	043784 - 03	Techninis pakeitimas	Reagentai – išsamus galimos formulės koregavimų aprašas
			Mėginio paėmimas ir paruošimas – pridėtas veiksmas dėl tinkamo maišymo po inokuliacijos
			„BACT/ALERT FA Plus“ pasėlių buteliukų tyrimo procedūra – atsargumo priemonės dėl asmeninių apsaugos priemonių naudojimo įtraukimas
			Antimikrobinų medžiagų neutralizavimas ir veikimo charakteristikos – pridėta informacija dėl atitikimo tyrimo po formulės koregavimo
			Veikimo charakteristikos – pašalinti <i>A. defectiva</i> duomenys iš 19 lentelės
2017-04	9313398 F	Techninis pakeitimas	Papildymas informacija apie VIRTUO, įskaitant skyrius Tikėtinos vertės, Antimikrobinų medžiagų neutralizavimas ir Tyrimo veikimo charakteristikos (15–29 lentelės)
2016-04	9312050 E	Techninis pakeitimas	Reagentai – informacijos apie sudėtį atnaujinimas Perspėjimo ir simbolio „Receptinis“ įtraukimas JAV klientams
		Administracinis reikalavimas	Ribotoji garantija – pareiškimo įtraukimas

Leidimo data	Dalies numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015-05	9309503 D	Techninis pakeitimas	Reagentai – galiojimo datos patikslinimas
			Mėginio paėmimas ir paruošimas <ul style="list-style-type: none"> • Pespėjimo apie buteliuko slėgį įtraukimas • Pastabos dėl buteliuko etiketės pripildymo žymos informacijos įtraukimas • Pastabų dėl venos punkcijos informacijos įtraukimas
			Kokybės kontrolė – perspėjimo, susijusio su LIS ir buteliukų tipų santrumpomis, įtraukimas
		Administracinis reikalavimas	Simbolių rodyklė – atnaujinimas, įtraukiant naujus gaminio simbolius
2013-04	9305048 C	Techninis pakeitimas	Paskirtis, Mėginių surinkimas ir paruošimas, Tikėtinos reikšmės, Antimikrobinių medžiagų neutralizavimas, Tyrimo veikimo charakteristikos – tekstas peržiūrėtas, kad būtų įtraukta papildoma klinikinių tyrimų informacija apie gaminio veiksmingumą
			Tyrimo apribojimai – po FDA peržiūros pridėti 2, 8, 9 ir 10 apribojimai
			Administracinis reikalavimas

BIOMERIEUX, BIOMERIEUX logotipas, BACT/ALERT, BIOBALL, FAN ir VIRTUO yra naudojami, registruotieji ir (arba) laukiantys registravimo prekių ženklai, priklausantys „bioMérieux“ ar vienam iš jos filialų ar kompanijų.

Šis produktas gali būti apsaugotas vienu ar keliais patentais, žr. <http://www.biomerieux-usa.com/patents>.

ATCC prekės ženklas ir prekinis pavadinimas bei visi ATCC katalogo numeriai yra „American Type Culture Collection“ prekių ženklai.

CLSI yra „Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.“ priklausantis prekės ženklas.

Bet kuris kitas pavadinimas ar prekybinis ženklas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.

© BIOMÉRIEUX, 2011, 2013, 2015, 2016, 2017, 2019, 2020

BACT/ALERT® FA Plus**Intended Use**

BACT/ALERT® FA Plus culture bottles are used with BACT/ALERT® Microbial Detection Systems in qualitative procedures for recovery and detection of aerobic and facultative anaerobic (bacteria and yeast) from blood and other normally sterile body fluids.

Summary and Explanation

BACT/ALERT® Microbial Detection Systems are used to determine if microorganisms are present in blood or other normally sterile body fluid samples taken from a patient suspected of having bacteremia/fungemia. The BACT/ALERT® System and culture bottles provide both a microbial detection system and a culture medium with suitable nutritional and environmental conditions for organisms commonly encountered in blood infections and other normally sterile body fluid infections. An inoculated bottle is placed into the instrument where it is incubated and continuously monitored for the presence of microorganisms that will grow in the BACT/ALERT® FA Plus culture bottle.

Note: The information provided applies to all configurations of BACT/ALERT® Microbial Detection Systems, unless otherwise noted.

Principle of the Test

BACT/ALERT® Microbial Detection Systems utilize a colorimetric sensor and reflected light to monitor the presence and production of carbon dioxide (CO₂) dissolved in the culture medium. If microorganisms are present in the test sample, carbon dioxide is produced as the organisms metabolize the substrates in the culture medium. When growth of the microorganisms produces CO₂, the color of the gas-permeable sensor installed in the bottom of each culture bottle changes from blue-green to yellow.¹ The lighter color results in an increase of reflectance units monitored by the system. Bottle reflectance is monitored and recorded by the instrument every 10 minutes.

Reagents

For *in vitro* diagnostic use only.

Caution: Handle specimens and inoculated culture bottles as though capable of transmitting infectious agents. All inoculated culture bottles, specimen collection needles, and blood-drawing devices should be decontaminated according to your institution's procedures.²

BACT/ALERT® FA Plus (color-coded pale green) – BACT/ALERT® FA Plus disposable culture bottles contain 30 mL of complex medium and ≥1.6 g adsorbent polymeric beads. At time of manufacture, the medium consists of the following reactive components: combination of peptones/biological extracts (≥1.85% w/v), anticoagulant (≥0.083% w/v), vitamins and amino acids (≥0.00145% w/v) carbon sources (≥0.45% w/v), trace elements (≥0.0005% w/v) and other complex amino acid and carbohydrate substrates in purified water. Bottles contain an atmosphere of N₂, O₂, and CO₂, under vacuum. The composition of the medium may be adjusted to meet specific performance requirements and in such cases, analytical studies

¹ Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al. BacT/Alert: an Automated Colorimetric Microbial Detection System. *J Clin Micro* 1990; 28 (7), 1608-1612.

² *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)* 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

are conducted to establish substantial equivalence between the adjusted and previous formulations (Refer to Revision History section).

Caution: BACT/ALERT® culture bottles contain polycarbonate. Not all disinfectants are intended for use with polycarbonate surfaces and may cause bottle deterioration. Verify disinfectant compatibility with polycarbonate before use on BACT/ALERT® culture bottle surfaces.

Caution: BACT/ALERT® FA Plus culture bottles used to culture non-blood specimens (normally sterile body fluids) or very small blood specimen volumes (0.5 mL or less) will require added blood such as sterile defibrinated horse blood (10.0% v/v) to support growth, particularly for the recovery of fastidious organisms such as *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Neisseria gonorrhoeae*.³

Additional Materials Required

- BACT/ALERT® Microbial Detection Systems
- Blood-drawing device
- Sterile Airway Needle/Subculture Units
- Disposable gloves
- Appropriate biohazard waste containers for materials potentially contaminated with infectious agents
- Alcohol pads or equivalent

Materials Available from bioMérieux

- Blood Collection Adapter Cap
- BACT/ALERT® Microbial Detection Systems
- Sterile Airway Needle/Subculture Units

Storage Instructions

BACT/ALERT® FA Plus culture bottles are ready for use. Store in an upright position protected from direct light at room temperature (15-30°C). An expiration date is printed on each bottle label. Do not inoculate the culture bottles beyond the expiration date indicated. If the bottles are exposed to temperatures less than 15°C, precipitates may form that will disappear when the bottles are warmed to room temperature. Bottles must be at room temperature before use.

Chemical or Physical Indications of Instability

Prior to use, the BACT/ALERT® FA Plus culture bottles should be examined for evidence of damage or deterioration (discoloration). Bottles exhibiting evidence of damage, leakage, or deterioration should be discarded. The medium in undisturbed bottles should be clear, but there may be a slight opalescence or a trace of precipitate due to the anticoagulant SPS or the presence of adsorbent polymeric beads; do not confuse this with turbidity indicative of microbial growth. Do not use a bottle which contains medium exhibiting turbidity, a yellow sensor, or excess gas pressure; these are signs of possible contamination.

Instruments

Review the appropriate BACT/ALERT® Microbial Detection System User Manual before use.

Specimen Collection and Preparation

General Considerations

1. BACT/ALERT® FA Plus culture bottles should be utilized by trained healthcare personnel. Correct specimen collection is extremely important when obtaining blood culture specimens. Venipuncture is the technique of choice for obtaining blood cultures. Refer to Cumitech 1C for the proper specimen collection procedure.⁴
2. Take care to prevent contamination during both bottle preparation and inoculation of the patient sample. Proper skin disinfection is an essential requirement to reduce the incidence of contamination.

³ Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th ed. 2006, pp. 446, 590.

⁴ Baron EJ, Weinstein MP, Dunne Jr. WM, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. 2005. Cumitech 1C, Blood Cultures IV. Coordinating ed., Baron EJ. ASM Press, Washington, DC.

3. Although not recommended by bioMérieux, blood may be drawn directly into collection tubes containing SPS. Tubes containing other anticoagulants should never be used for blood culture.⁵
4. bioMérieux recommends that inoculated culture bottles be placed into the BACT/ALERT® Microbial Detection System as soon as possible after collection. If there is an unavoidable delay, inoculated bottles may be maintained at room temperature up to 24 hours before loading into the instrument.
5. Optimal recovery of isolates will be achieved by adding maximum amounts of specimen. Use of lower volumes may adversely affect recovery and/or detection times of some organisms. Do not fill above the bottle's maximum specimen volume of 10 mL. The vacuum in the bottle will usually exceed 10 mL; monitor the volume collected by means of the 5 mL incremental markings on the bottle label.

Bottle Preparation

1. Label the culture bottle with patient information. The icons on the bottle label (☺, #, ☹) can be defined by the user.
2. Remove plastic flip-top from the culture bottle. Prior to inoculation, disinfect the culture bottle top with an alcohol swab or equivalent. Allow to air dry.
3. Clean the selected venipuncture site as recommended by your institution's approved procedure.

Venipuncture Direct Draw Inoculation Procedure

Note: Direct draw procedures should never be used for obtaining blood from intravascular devices or hemodialysis ports, due to the potential for catheter lumen collapse or reflux of bottle contents into the patient.

Note: If inoculating more than one type of BACT/ALERT® blood culture bottle using a butterfly blood collection set and direct draw adapter cap, inoculate first the aerobic culture bottle and then the anaerobic culture bottle so that any oxygen trapped in the tubing will not be transferred to the anaerobic bottle.

Note: Although lower sample volumes can be used, recovery may be improved using a sample volume closer to the recommended 10 mL.^{6, 7}

Note: To prevent over inoculation, monitor the blood volume intake into the culture bottle. The target fill-to line on the bottle label may be used to assist in estimating a sample volume of approximately 10 mL. Alternatively, the 5 mL graduations on the bottle label may be used to assist in estimating sample volume.

Note: Monitor the direct draw process closely at all times during collection to assure proper flow is obtained and to avoid flow of the bottle contents into the adapter tubing. Due to the presence of chemical additives in the culture bottle, it is important to prevent possible backflow and subsequent adverse reactions by following all steps below.

1. Hold the culture bottle at a position below the patient's arm with the bottle in an upright position (stopper uppermost).
2. Collect the blood using a butterfly blood collection set and a blood collection adapter cap as recommended by your institution's approved procedure and inoculate directly into the culture bottle at the patient's bedside. Although lower sample volumes can be used, recovery may be improved using a sample volume closer to the recommended 10 mL. To prevent over inoculation, monitor the blood volume intake into the culture bottle, using the 5 mL incremental markings on the bottle label.
3. Release the tourniquet as soon as the blood starts to flow into the culture bottle, or within 2 minutes of application.
4. Do not allow the culture bottle contents to touch the stopper or the end of the needle during the collection procedure.

Caution: A contaminated culture bottle could contain positive pressure, and if used for direct draw, may cause reflux into the patient's vein. Culture bottle contamination may not be readily apparent. Monitor the direct draw process closely to avoid reflux. Do not use a bottle that contains medium exhibiting turbidity, a yellow sensor, or excess gas pressure; these are signs of possible contamination.

5. Ensure that the specimen is properly mixed with the reagents in the BACT/ALERT® FA Plus bottle.
6. Transfer the inoculated culture bottle promptly to the testing laboratory.

⁵ CLSI. *Principles and Procedures for Blood Cultures*; Approved Guideline. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.

⁶ Baron EJ, Weinstein MP, Dunne Jr. WM, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. 2005. Cumitech 1C, Blood Cultures IV. Coordinating ed. Baron EJ. ASM Press, Washington, DC.

⁷ CLSI/NCCLS. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*; Approved Standard—Third Edition. CLSI/NCCLS document M22-A3. Wayne, PA: NCCLS; 2004.

Syringe Draw Inoculation Procedure

Note: If inoculating more than one type of BACT/ALERT® blood culture bottle using syringe draw, inoculate first the anaerobic culture bottle and then the aerobic culture bottle so that any oxygen trapped in the syringe will not be transferred to the anaerobic bottle. Line demarcations on the bottle label should be used to assist in estimating the sample volume.

1. Perform venipuncture and blood transfer to the BACT/ALERT® culture bottle according to your institution's established procedures.

Caution: Never force the syringe plunger down during inoculation, as splashing of sample may occur. Remove the syringe when the fill amount is reached, as the vacuum will automatically draw more than the recommended maximum. Puncture the bottle stopper vertically to avoid releasing the vacuum; a bottle without a vacuum should not be inoculated.

2. Ensure that the specimen is properly mixed with the reagents in the BACT/ALERT® FA Plus bottle.
3. Transfer the inoculated culture bottle promptly to the testing laboratory.

BACT/ALERT® FA Plus Culture Bottle Test Procedure

Preliminary Comments and Precautions

1. Use disposable gloves and handle inoculated bottles cautiously as though capable of transmitting infectious agents. Consult a physician immediately if contaminated materials are ingested or come in contact with open lacerations, lesions, or other breaks in skin.
2. When handling positive bottles that are bulging or leaking, wear appropriate personal protective equipment (PPE) to avoid coming in contact with microorganisms.
3. Immediately clean up any spillage of contaminated material using a 1:10 dilution of 5% sodium hypochlorite. Dispose of the cleaning material by an acceptable method.
4. All inoculated culture bottles, specimen collection needles, and blood-drawing devices should be decontaminated according to your institution's procedures.⁸
5. These bottles should be utilized by trained healthcare personnel.

Caution: For US Only: US Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner.

Procedural Notes and Precautions

1. Great care must be taken to prevent contamination of the patient sample during venipuncture and during inoculation into the culture bottle since contamination could lead to a specimen being determined positive when a clinically relevant isolate is not actually present.
2. Obtain blood samples prior to initiating antibiotic therapy. If this is not possible, draw blood immediately before administering the next antibiotic dose.
3. If inoculated culture bottles have been delayed in their receipt into the laboratory or have been incubated prior to entry into the BACT/ALERT® instrument, visually inspect for indications of microbial growth. If microbial growth is evident, treat the bottles as positive and do not place in the BACT/ALERT® Microbial Detection System for monitoring.

Laboratory Procedure

Caution: General caution should be taken when subculturing positive culture bottles as they could have been overfilled or contain high gas-producing organisms. Positive culture bottle contents may be under increased internal pressure. Positive culture bottles should be transiently vented before staining or disposal to release any gas produced during microbial metabolism.

1. Visually inspect bottles before testing. Do not use bottles with evidence of damage, leakage, or deterioration. Consider bottles with hemolysis, turbidity, excess gas pressure, yellow sensors, and/or evidence of growth as positive. Smear and subculture. Do not incubate unless smear is negative.
2. After culture bottles have been loaded into the instrument, incubate 5 days or until designated positive.
3. Smear and subculture all positive bottles. If the smear is negative, indicating a possible false positive, the bottle should be reloaded into the instrument until growth of the subculture or redesignation as positive. Bottles that were initially determined false positive and were redesignated positive should be smeared and subcultured.
4. Negative cultures may be checked by smear and/or subculture at some point prior to discarding as negative.

⁸ *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)* 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

5. Procedures for loading and unloading culture bottles into the appropriate BACT/ALERT® instrument are given in the User Manual.
6. **Do not reuse BACT/ALERT® culture bottles.** Dispose of inoculated BACT/ALERT® culture bottles according to your laboratory protocol. Autoclaving and/or incinerating inoculated BACT/ALERT® bottles is appropriate.⁹
7. Utilization of coring devices (i.e., blunt needle) to puncture the septum may result in bottle leakage.

Quality Control

A Certificate of Conformance is available for each lot of culture bottles. If desired, individual laboratories can perform quality control testing of BACT/ALERT® FA Plus culture bottles. Refer to the appropriate BACT/ALERT® User Manual and to CLSI® document M22-A3.¹⁰

Instrument

A BACT/ALERT® Reflectance Standards kit is provided with each BACT/ALERT® 3D instrument and Reflectance Calibration Standards are included with each BACT/ALERT® VIRTUO® instrument for the QC and Calibration procedures. All quality control should be part of normal system maintenance. Refer to the appropriate BACT/ALERT® User Manual for more information.

Caution: If your facility's LIS vendor sends bottle IDs and bottle type abbreviations to the BACT/ALERT® instrument, use the correct bottle type abbreviation to avoid possible false positive or false negative results. For more information, contact your local bioMérieux representative.

Results

Positive or negative culture bottles are determined by decision-making software contained in the BACT/ALERT® Microbial Detection Systems. No action is required until the BACT/ALERT® instrument signals culture bottles positive or negative.

Limitations of the Test

Many variables involved in blood culture testing cannot be practically controlled to provide total confidence that results obtained are due solely to proper or improper performance of any culture medium or detection system.

1. Patient specimens determined positive by BACT/ALERT® may contain organisms that are positive by smear that will not grow on routine subculturing media. When this is suspected, specimens should be subcultured on special media. Also, BACT/ALERT® positive specimens may contain organisms that are not seen with routine smear staining methods and may require both specialized staining and subculturing media for detection and recovery.
2. It is possible that certain rare, fastidious microorganisms will not grow or may grow slowly in the BACT/ALERT® FA Plus culture bottle growth medium. In addition, on rare occasions, organisms may be encountered that grow in the BACT/ALERT® FA Plus culture bottle growth medium but do not produce sufficient carbon dioxide to be determined positive. If rare, fastidious organisms requiring specialized media and culture conditions are suspected, alternative methods or extended incubation time should be considered for recovery.
3. Certain strains of *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, and *Neisseria gonorrhoeae* may be sensitive to the anticoagulant SPS, which may result in lack of growth or low production of CO₂ by these strains if an insufficient amount of sample is inoculated into the culture bottles.
4. Infrequently, if there is a very high number of white blood cells present in the sample, the BACT/ALERT® may indicate a culture bottle positive. In this case, the smear and subculture results may be negative.
5. Organisms are often few in numbers and may appear intermittently in the blood stream; therefore, consecutive blood samples should be collected from each patient.

⁹ *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)* 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

¹⁰ CLSI®/NCCLS. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*; Approved Standard—Third Edition. CLSI®/NCCLS document M22-A3. Wayne, PA: NCCLS; 2004.

6. Promptly remove positive culture bottles when they are signaled by BACT/ALERT® to avoid possible non-viable cultures due to autolysis or other reasons. Certain strains of *Streptococcus pneumoniae* may be particularly prone to autolysis if they are not removed promptly after being signaled positive.
7. A Gram-stained smear from a negative bottle may sometimes contain a small number of non-viable organisms that were derived from culture medium components, staining reagents, immersion oil, or glass slides, resulting in a false positive smear.
8. bioMérieux recommends that inoculated culture bottles be placed into the BACT/ALERT® Microbial Detection System as soon as possible after collection. But, in the unavoidable cases when there is a delay in bottle receipt by the laboratory, delayed entry information is provided from seeded studies in the “Performance Characteristics of the Test” section.
9. Antimicrobial neutralization was not achieved for ceftazidime or cefepime.
10. Extended times to detection or negative results may be observed for *Stenotrophomonas maltophilia* in cerebrospinal fluid for 12 month old bottles.
11. The BACT/ALERT® FA Plus culture bottle does not have appropriate levels of CO₂ in the headspace to reliably support growth of capnophiles such as *Capnocytophaga* spp.

Expected Values

1. Percent positive cultures were observed to be 12.3% (range: 7.9%-14.3%) overall and 9.4% (range: 5.0%-11.2%) for significant isolates from three clinical trial sites in BACT/ALERT® FA Plus culture bottles that received 6-10 mL of blood during the BACT/ALERT® FA Plus culture bottle clinical trial conducted with the BACT/ALERT® 3D.
2. Percent positive cultures were observed to be 20.2% (range: 16.4%-24.3%) overall and 15.4% (range: 8.2%-21.6%) for significant isolates from three clinical trial sites in BACT/ALERT® FA Plus culture bottles that received sterile body fluids during the BACT/ALERT® FA Plus culture bottle clinical trial conducted with the BACT/ALERT® 3D.
3. For BACT/ALERT® 3D testing during the BACT/ALERT® VIRTUO® clinical trial, percent positive cultures were observed to be 6.9% (range: 4.4%-11.4%) overall and 5.5% (range: 3.9%-9.5%) for significant isolates from three clinical trial sites in BACT/ALERT® FA Plus culture bottles that received ≤10 mL of blood.
4. For BACT/ALERT® 3D testing during the BACT/ALERT® VIRTUO® clinical trial, percent positive cultures were observed to be 13.0% (range: 8.0%-19.0%) overall and 10.5% (range: 7.5%-14.0%) for significant isolates from three clinical trial sites in BACT/ALERT® FA Plus culture bottles that received sterile body fluids.
5. For the BACT/ALERT® VIRTUO® clinical trial, percent positive cultures were observed to be 6.2% (range: 4.7%-8.8%) overall and 5.5% (range: 4.2%-8.5%) for significant isolates from three clinical trial sites in BACT/ALERT® FA Plus culture bottles that received ≤10 mL of blood.
6. For the BACT/ALERT® VIRTUO® clinical trial, percent positive cultures were observed to be 13.3% (range: 9.2%-17.4%) overall and 9.9% (range: 8.0%-13.2%) for significant isolates from three clinical trial sites in BACT/ALERT® FA Plus culture bottles that received sterile body fluids.
7. Expected percent positives will vary based on factors such as patient population, prevalence of significant organisms, site location, and contamination rates. The expected values provided are based on clinical study data acquired during multiple clinical trials.

Neutralization of Antimicrobials

Neutralization of antimicrobials by adsorbent polymeric beads varies depending upon dosage level and timing of specimen collection. Internal studies tested on the BACT/ALERT® 3D Microbial Detection System have demonstrated that antimicrobials are effectively neutralized by the BACT/ALERT® FA Plus medium based on 100% recovery of the organisms tested. In these tests, antimicrobials were added in clinically relevant concentrations directly to culture bottles during inoculation with susceptible strains. The effectiveness of the antimicrobials was confirmed by parallel testing using a non-neutralizing medium as a control. Antimicrobials from the following categories were neutralized by the medium: penicillins, glycolylcyclines, polyenes, macrolides, triazoles, echinocandins, cefazolin, ceftazidime, ceftaroline, aminoglycosides, fluoroquinolones, lincosamides, glycopeptides, and oxazolidinones.

Antimicrobial neutralization was not achieved for ceftazidime or cefepime. Less than complete neutralization was observed for cefotaxime and ceftriaxone. Cefotaxime was neutralized at ranges of 50% peak serum level (PSL) to 2% PSL depending on the microorganism. Ceftriaxone was neutralized at ranges of 50% PSL to 1% PSL depending on the organism.

Antimicrobial neutralization properties are dependent upon the culture bottle material composition and are not determined by the analysis algorithms of the BACT/ALERT® Microbial Detection Systems. Representative antimicrobials selected from four

of the categories listed above were tested on the BACT/ALERT® VIRTUO® Microbial Detection System to confirm neutralization properties of the BACT/ALERT® FA Plus culture bottles. Neutralization was demonstrated for amikacin (from the aminoglycosides class), piperacillin (penicillins class), vancomycin (glycopeptides class), and voriconazole (triazoles class). Testing demonstrated that the instrument system had no impact on culture bottle antimicrobial neutralization properties.

After formulation adjustments, representative antimicrobials from the claimed drug categories were tested in the adjusted BACT/ALERT® FA Plus culture bottle in the absence of blood, unless otherwise noted, on both the BACT/ALERT® 3D and BACT/ALERT® VIRTUO® Microbial Detection Systems.

Antimicrobials from the following categories were neutralized by the adjusted medium: penicillins, glycolcyclines, polyenes, macrolides, triazoles, echinocandins, aminoglycosides, fluoroquinolones, lincosamides, glycopeptides, and oxazolidinones. Five echinocandin/ microorganism combinations were tested; one combination had a recovery rate of less than 100%. In the absence of blood, a 77.8% recovery rate was observed for *C. albicans*/caspofungin in the adjusted BACT/ALERT® FA Plus culture bottle. In the presence of blood, a 97% recovery rate was observed in the adjusted BACT/ALERT® FA Plus for *C. albicans*/caspofungin. In addition, substantial equivalency for ceftaroline, ceftaxime, and ceftazidime was observed between the adjusted and previous BACT/ALERT® FA Plus culture bottles for neutralization of the individual drugs. For *S. aureus*/ceftazidime, a 66% recovery was observed initially, however, retest results showed 100% recovery. For *E.coli*/ceftazidime, a 100% recovery was observed. Less than complete neutralization was observed for ceftazidime, which was neutralized at 50% peak serum level (PSL) when tested in PBS. Ceftazidime, ceftaxime, and ceftriaxone were not evaluated in the adjusted BACT/ALERT® FA Plus culture bottle as less than complete neutralization was achieved in the previous formulation.

For additional information on antimicrobial agents neutralized by BACT/ALERT® FA Plus culture bottles, contact your local bioMérieux representative.

Performance Characteristics

BACT/ALERT® 3D Microbial Detection Systems

Potentially Interfering Substances

In-house seeded studies were conducted with cerebrospinal fluid, pleural fluid, synovial fluid, plasma, blood, and blood clots. Aliquots of each of these fluids also received white blood cells at concentrations relevant to bacteremia in each given body fluid. Testing was conducted with and without microorganisms. These substances neither interfered with recovery and detection of organisms, nor did they generate false positive results in the absence of organisms.

Analytical Sensitivity: Limit of Detection (LoD)

Data in the following table represent results from in-house seeded studies. A minimum of 30 replicates were tested per species. Data in the following table were generated using bottles at the end of shelf life. Bottles inoculated with *H. influenzae* received 4 mL pooled human blood supplementation. At least 95% detection was achieved at LoD.

Table 1: Analytical Sensitivity: Limit of Detection (LoD)

Microorganism	Strain ID	LoD (CFU/bottle)
<i>Candida albicans</i>	ATCC® 14053™	6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC® 13048™	8
<i>Enterococcus faecalis</i>	NCTC 12697	5
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 12923	4
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC® 10211™	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	STL 104016	4
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC® 15313™	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NCTC 12924	4
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC® 14028™	5

Microorganism	Strain ID	LoD (CFU/bottle)
<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC 10788	5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC® 6305™	6

Note: 96.7% of the bottles were subcultured within 30 minutes of being declared positive. STL 104016 was sourced from bioMérieux's internal culture collection.

Analytical Sensitivity: Growth Performance

Data in the following table represent results from in-house seeded studies with and without blood obtained from healthy human volunteers. Multiple strains were tested for each species at target inoculum levels of 125 CFU/bottle. The actual inoculum levels ranged from 3-298 CFU/bottle. In this seeded study, the BACT/ALERT® FA Plus culture bottles were subcultured at least 24 hours after being flagged positive by the instrument. The species listed are representatives of clinically prevalent organisms in blood cultures and sterile body fluids.

Table 2: Analytical Sensitivity: Growth Performance

Microorganism	Blood				No Blood			
	% Recovery (n)	Range (CFU/bottle)	Time to Detection (hours)		% Recovery* (n=3)	Range (CFU/bottle)	Time to Detection (hours)	
			Mean	Range			Mean	Range
<i>Staphylococcus aureus</i>	100.0 (33/33)	54-150	13.4	12.2-15.6	100.0	116-150	16.7	14.6-18.2
<i>Escherichia coli</i>	100.0 (33/33)	71-254	11.3	10.3-12.4	100.0	73-176	11.4	10.6-11.9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100.0 (15/15)	74-148	16.0	13.7-18.6	100.0	74-148	20.8	17.8-25.6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100.0 (15/15)	89-123	11.3	10.6-12.3	100.0	95-123	12.0	11.6-12.4
<i>Candida albicans</i>	100.0 (38/38)	88-298	28.9	19.2-52.8	100.0	88-298	27.1	22.1-30.1
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100.0 (33/33)	3-260	13.9	10.8-16.5	100.0	4-25	14.3	13.0-16.3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100.0 (15/15)	44-135	17.6	14.3-36.0	100.0	45-105	21.4	19.0-24.8
<i>Enterococcus faecalis</i>	100.0 (15/15)	63-259	11.6	11.0-12.3	100.0	71-169	12.3	11.8-12.7
<i>Enterococcus faecium</i>	100.0 (15/15)	25-120	12.6	11.3-14.4	100.0	25-120	15.5	14.0-17.5
<i>Enterobacter cloacae</i>	100.0 (15/15)	111-200	12.0	10.8-15.7	100.0	111-185	11.7	11.3-12.0
<i>Candida glabrata</i>	100.0 (15/15)	118-281	44.8	27.3-64.8	100.0	118-194	39.9	30.9-50.4
<i>Haemophilus influenzae</i>	100.0 (15/15)	105-266	14.4	12.1-16.8	0	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	100.0 (15/15)	36-213	12.9	11.3-16.3	100.0	36-213	12.5	11.3-13.6

* In case of less than 100.0% recovery, it is recommended to add blood such as sterile defibrinated horse blood (10.0% v/v).¹¹

Less than 100% detection was observed for some species, including *Capnocytophaga ochracea*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Granulicatella adiacens*, and *Helicobacter cinaedi*.

After formulation adjustments, a direct comparison study was conducted with the adjusted BACT/ALERT® FA Plus and previous BACT/ALERT® FA Plus culture bottles using a panel of clinically relevant microorganisms tested in the presence and absence of blood on both the BACT/ALERT® 3D and BACT/ALERT® VIRTUO Microbial Detection Systems. The recovery rate for the 39 microorganisms evaluated for growth performance in the adjusted BACT/ALERT® FA Plus culture bottle met the criteria for equivalency to the previous BACT/ALERT® FA Plus culture bottle.

The time-to-detection (TTD) for 38 of the 39 microorganisms evaluated for growth performance in the adjusted BACT/ALERT® FA Plus culture bottle in the presence of blood met the criteria for equivalency to the previous BACT/ALERT® FA Plus culture bottle. A delay in TTD was observed for *Haemophilus parainfluenzae* in the adjusted BACT/ALERT® FA Plus culture bottles, although both the adjusted and previous had less than 100% detection as noted under Table 2. In the

¹¹ Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th ed. 2006, pp. 446,590.

adjusted BACT/ALERT® FA Plus culture bottle, the following microorganisms had a faster mean TTD when tested with 10 mL blood: *Acinetobacter baumannii* (5 hours), *Candida albicans* (2.4 hours), *Candida glabrata* (35.2 hours), *Enterobacter aerogenes* (2.8 hours), *Enterobacter cloacae* (5.7 hours), *Micrococcus luteus* (5.9 hours), *Salmonella enterica* (4.3 hours), and *Shigella flexneri* (10.9 hours).

The TTD for 32 out of 34 microorganisms evaluated for growth performance in the adjusted BACT/ALERT® FA Plus culture bottle in the absence of blood met the criteria for equivalency to the previous BACT/ALERT® FA Plus culture bottle. In the absence of blood, *S. aureus* and *S. pneumoniae* had a mean TTD delay of 1.7 hours and 5 hours, respectively, when tested in the adjusted BACT/ALERT® FA Plus culture bottle. However, it should be noted that in the presence of blood there was no delay in TTD for *S. aureus* and *S. pneumoniae*. In the absence of blood, *C. albicans* and *C. glabrata* had a faster mean TTD of 3.6 hours and 36.6 hours, respectively, when tested in the adjusted BACT/ALERT® FA Plus culture bottle.

Clinical Study Results (Blood Cultures)

Results compare BACT/ALERT® FA Plus to BACT/ALERT® FA blood cultures (for all compliant pairs).

A multi-center clinical study was conducted at three different geographic sites in the U.S. comparing the performance of the BACT/ALERT® FA Plus and BACT/ALERT® FA blood culture bottles for aerobic culture pairs that received blood volumes between 6 mL and 10 mL (compliant pairs). A total of 1656 bottle pairs were obtained from 728 adult patients suspected of blood stream bacterial/yeast infections. Subcultures of both bottles were performed when either bottle in the set was determined to be positive by the BACT/ALERT® System. A pair of bottles was determined to have a positive status if the subculture of either the BACT/ALERT® FA Plus or BACT/ALERT® FA culture bottle was positive. A culture bottle was determined to be a "True Positive" if the culture was flagged positive by the BACT/ALERT® System and resulted in growth of the isolate upon subculture of this bottle. True positive rates were calculated for the BACT/ALERT® FA Plus and BACT/ALERT® FA culture bottles, and the ratio of BACT/ALERT® FA Plus true positives to BACT/ALERT® FA true positives was calculated to compare performance. Clinical isolates recovered were classified as significant, contaminant, or unknown based on determination by the clinical trial sites.

A total of 267 isolates were recovered from all compliant aerobic blood culture pairs with a positive status. There were a total of 238 bottle pairs that recovered at least one isolate by subculture of BACT/ALERT® FA Plus or BACT/ALERT® FA culture bottles. A total of 214 bottle pairs recovered a single isolate, 19 bottle pairs recovered two isolates, and five bottle pairs recovered three isolates. The total population reported in the following table comprises the 267 isolates recovered from positive bottle pairs and 1418 negative bottle pairs for a total of 1685 results. The BACT/ALERT® FA Plus culture bottle detected a total of 208 isolates compared to the BACT/ALERT® FA culture bottle that detected 194 isolates. Of the significant isolates, the BACT/ALERT® FA Plus culture bottle detected a total of 159 isolates compared to the BACT/ALERT® FA culture bottle that detected 135 isolates. Five false positives were identified by subculture of positive BACT/ALERT® FA Plus culture bottles and comprised 0.30% (5/1685) of the study population.

The following tables compare results of the BACT/ALERT® FA Plus to BACT/ALERT® FA blood cultures for all compliant blood culture bottles that yielded any number of isolates on subculture (Table 3), a single isolate alone on subculture (Table 4), and multiple isolates on subculture (Table 5).

Table 3: All Compliant Pairs with Single and Multiple Isolates Combined (Blood Cultures)

Clinical Determination	BACT/ALERT® FA Plus True Positives	% of BACT/ALERT® FA Plus True Positives in Population	BACT/ALERT® FA True Positives	% of BACT/ALERT® FA True Positives in Population	Ratio of True Positives*
Significant	159	9.4 (159/1685)	135	8.0 (135/1685)	1.178
Contaminant	36	2.1 (36/1685)	47	2.8 (47/1685)	0.766
Unknown	13	0.8 (13/1685)	12	0.7 (12/1685)	1.083
Total	208	12.3 (208/1685)	194	11.5 (194/1685)	1.072

* One hundred thirty five (135) isolates were detected by both BACT/ALERT® FA Plus and BACT/ALERT® FA, 73 isolates were detected only by BACT/ALERT® FA Plus, and 59 isolates were detected only by BACT/ALERT® FA. The ratio of true positive rates for overall isolates was 1.072 (208/194) with a 95% CI (0.952, 1.192).¹²

¹² Kondratovich M. Comparing Two Medical Tests When Results of Reference Standard Are Unavailable for Those Negative via Both Tests. *J. Biopharm Stat* 2008;18:1,145-166.

Table 4: All Compliant Pairs with Single Isolates (Blood Cultures)

Clinical Determination	BACT/ALERT® FA Plus True Positives	BACT/ALERT® FA True Positives	Ratio of True Positives*
Significant	138	111	1.243
Contaminant	26	33	0.788
Unknown	8	9	0.889
Total	172	153	1.124

* One hundred eleven (111) isolates were detected by both BACT/ALERT® FA Plus and BACT/ALERT® FA, 61 isolates were detected only by BACT/ALERT® FA Plus, and 42 isolates were detected only by BACT/ALERT® FA. The ratio of true positive rates for overall single isolates was 1.124 (172/153) with a 95% CI (0.986, 1.262).¹³

Table 5: All Compliant Pairs with Multiple Isolates (Blood Cultures)

Clinical Determination	BACT/ALERT® FA Plus True Positives	BACT/ALERT® FA True Positives	Ratio of True Positives*
Significant	21	24	0.875
Contaminant	10	14	0.714
Unknown	5	3	1.667
Total	36	41	0.878

* Twenty four (24) isolates were detected by both BACT/ALERT® FA Plus and BACT/ALERT® FA, 12 isolates were detected only by BACT/ALERT® FA Plus, and 17 isolates were detected only by BACT/ALERT® FA. The ratio of true positive rates for overall multiple isolates was 0.878 (36/41) with a 95% CI (0.637, 1.119).¹⁴

In this clinical study, there were 1413 pairs of BACT/ALERT® FA Plus and BACT/ALERT® FA culture bottles with negative instrument results for both bottles after 5 days of incubation. Among these pairs, terminal subcultures on both bottles were performed for 95 pairs, and two false negative results by both BACT/ALERT® FA Plus and BACT/ALERT® FA culture bottles were observed; subculture on BACT/ALERT® FA Plus culture bottles alone was performed for 1312 pairs, and one false negative result was observed; both subcultures were not performed for six pairs of bottles. Results are summarized in the following table.

Table 6: Summary of Percent False Negatives from Aerobic Blood Culture Pairs That Were Flagged Negative by Both Instruments

Subculture Performed BACT/ALERT® FA Plus	Subculture Performed BACT/ALERT® FA	% False Negative BACT/ALERT® FA Plus	% False Negative BACT/ALERT® FA
Yes	Yes	2.11 (2/95)	2.11 (2/95)
Yes	No	0.08 (1/1312)	-

Overall false negative rate for BACT/ALERT® FA Plus based on a subset of terminal subcultures was 0.2% (3/1407).

A comparative yield of microorganisms (number of isolates) recovered on subculture of BACT/ALERT® FA Plus and BACT/ALERT® FA cultures is presented in the following table.

¹³ Kondratovich M. Comparing Two Medical Tests When Results of Reference Standard Are Unavailable for Those Negative via Both Tests. *J. Biopharm Stat* 2008;18:1,145-166.

¹⁴ Kondratovich M. Comparing Two Medical Tests When Results of Reference Standard Are Unavailable for Those Negative via Both Tests. *J. Biopharm Stat* 2008;18:1,145-166.

Table 7: Comparative Yield of Microorganisms (Number of Isolates) – Blood Cultures

Group	BACT/ALERT® FA Plus	BACT/ALERT® FA
Enterobacteriaceae	34	32
<i>Enterococcus</i> spp.	33	28
Yeasts	17	18
Non-fermentative Gram-Negative Bacilli	8	11
Other Gram-Negative	4	3
Other Gram-Positive	6	8
Coagulase-Negative <i>Staphylococcus</i>	37	53
<i>Staphylococcus aureus</i>	52	30
<i>Streptococcus</i> spp.	17	11

Note: Isolate table includes polymicrobial cultures.

Clinical Study Results (Sterile Body Fluid Cultures)

A multi-center clinical study was conducted at four different geographic sites in the U.S. and Canada comparing the performance of the BACT/ALERT® FA Plus and BACT/ALERT® FA culture bottles with sterile body fluid specimens. A total of 404 bottle pairs were obtained from 369 adult patients suspected of sterile body fluid bacterial/yeast infections. Sterile body fluid types evaluated were amniotic fluid, continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) fluid, cerebrospinal fluid (CSF), peritoneal fluid, pleural fluid, and synovial fluid. Clinical isolates recovered were classified as significant, contaminant, or unknown based on determination by the clinical trial sites.

A total of 92 isolates were recovered from all aerobic sterile body fluid culture pairs with a positive status. There were a total of 75 bottle pairs that recovered at least one isolate by subculture of BACT/ALERT® FA Plus or BACT/ALERT® FA culture bottles. A total of 62 bottle pairs recovered a single isolate, nine bottle pairs recovered two isolates, and four bottle pairs recovered three isolates. The total population reported in the following table comprises the 92 isolates recovered from positive bottle pairs and 329 negative bottle pairs for a total of 421 results. The BACT/ALERT® FA Plus culture bottle detected a total of 85 isolates compared to the BACT/ALERT® FA culture bottle that detected 67 isolates. Of the significant isolates, the BACT/ALERT® FA Plus culture bottle detected a total of 65 isolates compared to the BACT/ALERT® FA culture bottle that detected 59 isolates. No false positives were observed for the BACT/ALERT® FA Plus culture bottle from the study population (0/421).

The following table compares results of the BACT/ALERT® FA Plus to BACT/ALERT® FA sterile body fluid cultures that yielded single or multiple isolates on subculture.

Table 8: All Pairs with Single and Multiple Isolates Combined (Sterile Body Fluid Cultures)

Clinical Determination	BACT/ALERT® FA Plus True Positives	% of BACT/ALERT® FA Plus True Positives in Population	BACT/ALERT® FA True Positives	% of BACT/ALERT® FA True Positives in Population	Ratio of True Positives*
Significant	65	15.4 (65/421)	59	14.0 (59/421)	1.102
Contaminant	13	3.1 (13/421)	2	0.5 (2/421)	6.500
Unknown	7	1.7 (7/421)	6	1.4 (6/421)	1.167
Total	85	20.2 (85/421)	67	15.9 (67/421)	1.269

* Sixty (60) isolates were detected by both BACT/ALERT® FA Plus and BACT/ALERT® FA, 25 isolates were detected only by BACT/ALERT® FA Plus, and seven isolates were detected by only BACT/ALERT® FA. The ratio of true positive rates for overall isolates was 1.269 (85/67) with a 95% CI (1.083, 1.455).¹⁵

¹⁵ Kondratovich M. Comparing Two Medical Tests When Results of Reference Standard Are Unavailable for Those Negative via Both Tests. *J. Biopharm Stat* 2008;18:1,145-166.

Note: A limited number of amniotic fluid (n=2) and cerebrospinal fluid specimens (n=38) were obtained during the clinical study.

The following table summarizes the minimum specimen volume achieved in aerobic sterile body fluid clinical trials.

Table 9: BACT/ALERT® FA Plus Sterile Body Fluids Fill Volume (mL) – Positive Status

Specimen Type	Total # of Specimen	# of Positives	Minimum Specimen Volume (mL)
Amniotic Fluid	2	1	1.0
CAPD Fluid	94	26	1.0
CSF	38	4	0.1
Peritoneal Fluid	116	19	1.0
Pleural Fluid	106	17	0.5
Synovial Fluid	48	8	0.5
Total	404	75	-

In this clinical study, there were 329 pairs of BACT/ALERT® FA Plus and BACT/ALERT® FA culture bottles with negative instrument results for both bottles after 5 days of incubation. Among these pairs, terminal subcultures on both bottles were performed for 297 pairs and no false negative results by both BACT/ALERT® FA Plus and BACT/ALERT® FA culture bottles were observed. Subculture on BACT/ALERT® FA Plus culture bottles alone was performed for 32 pairs and no false negative results were observed. Results are summarized in the following table.

Table 10: Summary of Percent False Negatives from Aerobic Sterile Body Fluid Culture Pairs That Were Flagged Negative by the Instrument for Both Bottles

Subculture Performed BACT/ALERT® FA Plus	Subculture Performed BACT/ALERT® FA	% False Negative BACT/ALERT® FA Plus	% False Negative BACT/ALERT® FA
Yes	Yes	0.0 (0/297)	0.0 (0/297)
Yes	No	0.0 (0/32)	-

A comparative yield of microorganisms (number of isolates) recovered on subculture of BACT/ALERT® FA Plus and BACT/ALERT® FA cultures is presented in the following table.

Table 11: Comparative Yield of Microorganisms (Number of Isolates) – Sterile Body Fluid Cultures

Group	BACT/ALERT® FA Plus	BACT/ALERT® FA
Enterobacteriaceae	8	7
<i>Enterococcus</i> spp.	12	10
Yeasts	11	11
Non-fermentative Gram-Negative Bacilli	8	3
Other Gram-Positive	5	3
Other Gram-Negative	-	-
Coagulase-Negative <i>Staphylococcus</i>	21	19
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	9
<i>Streptococcus</i> spp.	8	5

Note: Isolate table includes polymicrobial cultures.

Quality control was performed during the clinical study on each of 13 organisms (*Candida albicans*, *Candida krusei*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Streptococcus pyogenes*), which were prepared using serial dilution and seeded into the

BACT/ALERT® FA Plus culture bottle at a target inoculum of 100 CFU/bottle, with an acceptable range of 30-300 CFU/bottle. Overall quality control results were found to be acceptable. Instances where unacceptable quality control results were observed were found to be due to technical errors (i.e., colony counts out of range, contaminated and mislabeled bottles). Repeat testing resulted in acceptable results.

Delayed Entry

The following table includes results from seeded studies using 11 species (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Haemophilus influenzae*, and *Neisseria meningitidis*), at target concentrations 100 CFU/bottle (acceptable range of 30-300 CFU/bottle) that were generated at three sites. Actual inoculum levels ranged from 35-290 CFU/bottle. All bottles were tested with human blood from healthy volunteers and were held at specified temperatures and times prior to loading into the BACT/ALERT® 3D instrument. Percent recovery reflects bottles flagged positive by the instrument and subculture with colony morphology consistent with the seeded organism.

Table 12: Delayed Entry

Sample Input	Incubation Temperature (°C)	Hold Time (hours)	% Recovery	Time to Detection from Sample Inoculation (Hold Time + Instrument TTD in hours)	
				Mean	Range
Inoculated Test Bottles	Control	No delay	100.0 (459/459)	14.3	8.5-84.0
	2-8	48	98.6 (292/296)	63.7	57.5-103.2
	20-25	24	98.0 (291/297)	31.8	26.2-74.4
	20-25	36	91.9 (272/296)	41.8	38.0-70.5
	35-37	8	98.9 (454/459)	16.1	10.2-53.8
	35-37	24	56.6 (259/458)	28.3	26.0-74.4
Negative Controls	All conditions		0.5 (1/221)*	-	-

* False positive observed during seeded study (1/221).

Caution: Culture bottles held at 35-37°C for 24 hours or longer before loading may not detect microorganisms and should be subcultured.

Within-Laboratory Precision (Repeatability)

Data in the following table represent results from in-house seeded studies conducted on 12 days on multiple instruments by multiple operators. Organisms were grown in the presence of clinically relevant concentrations of antimicrobials to which they are susceptible. In this seeded study BACT/ALERT® FA Plus culture bottles were subcultured at least 24 hours after being flagged positive by the instrument. A minimum of 108 replicates were tested for each organism/antimicrobial combination.

Table 13: Within-Laboratory Precision (Repeatability)

Sample Input		Range (CFU/bottle)	% Recovery				Time to Detection (hours)	
Microorganism	Antimicrobial		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Overall	Mean	Range
<i>C. albicans</i>	Fluconazole	140-364	100.0	100.0	100.0	100.0	26.0	22.8-31.3
<i>E. coli</i>	Amikacin	26-156	100.0	100.0	100.0	100.0	12.0	11.2-13.0
<i>K. pneumoniae</i>	Levofloxacin	108-170	100.0	100.0	100.0	100.0	13.4	11.7-15.2
<i>P. aeruginosa</i>	Piperacillin	80-148	100.0	97.2	100.0	99.1	19.2	17.4-24.1
<i>S. pneumoniae</i>	Penicillin G	9-505	100.0	100.0	100.0	100.0	13.2	11.6-15.5
<i>S. aureus</i>	Vancomycin	94-158	100.0	100.0	100.0	100.0	16.9	14.6-20.3

Reproducibility

Data in the following table represent results from seeded studies conducted at three sites using a target of 162 replicates per site on 3 days with a minimum of two operators per site. Reproducibility was evaluated on each of nine organisms. Two organisms (*C. albicans* and *S. pneumoniae*) were prepared using serial dilution and the other seven organisms were prepared using BIOBALL® products. *C. albicans* and *S. pneumoniae* were seeded into the BACT/ALERT® FA Plus culture bottle, at a target inoculum of 100 CFU/bottle, with an acceptable range of 30-300 CFU/bottle and the other seven organisms at a target range of 1-17 CFU/bottle. The actual inoculum ranged from 6-700 CFU/bottle for the 30-300 CFU/bottle range, and from 1-270 CFU/bottle for the 1-17 CFU/bottle range. Percent recovery reflects positive flag by the instrument and Gram-stain/subculture consistent with the seeded organism.

Table 14: Reproducibility

Sample Input	% Recovery				Time to Detection (hours)		Inoculum Ranges (CFU/bottle)
	Site 1	Site 2	Site 3	Overall	Mean	Range	
<i>S. aureus</i>	100.0% (18/18)	87.5% (21/24)	100.0% (30/30)	95.8% (69/72)	15.6	14.6-16.7	2-11
<i>C. albicans</i>	100.0% (18/18)	83.3% (30/36)	100.0% (33/33)	93.1% (81/87)	36.6	24.6-76.8	14-700
<i>E. coli</i>	100.0% (27/27)	77.8% (21/27)	100.0% (30/30)	92.9% (78/84)	12.8	11.8-14.1	1-38
<i>P. aeruginosa</i>	100.0% (24/24)	75.0% (18/24)	97.0% (32/33)	91.4% (74/81)	18.4	17.1-21.1	1-11
<i>E. faecalis</i>	100.0% (18/18)	79.2% (19/24)	96.7% (29/30)	91.7% (66/72)	13.9	12.6-15.3	1-15
<i>E. aerogenes</i>	74.4% (29/39)	72.2% (26/36)	85.4% (41/48)	78.1% (96/123)	14.9	11.7-20.8	<1-270*
<i>L. monocytogenes</i>	100.0% (18/18)	100.0% (24/24)	100.0% (30/30)	100.0% (72/72)	24.1	20.4-36.4	1-14
<i>S. enterica</i>	100.0% (24/24)	75.0% (18/24)	100.0% (33/33)	92.6% (75/81)	13.5	2.3-14.8	1-13
<i>S. pneumoniae</i>	100.0% (30/30)	100.0% (36/36)	100.0% (21/21)	100.0% (87/87)	14.2	11.6-18.9	6-500
Overall	95.4% (206/216) 95% CI: 91.7%, 97.8%	83.5% (213/255) 95% CI: 78.4%, 87.9%	96.9% (279/288) 95% CI: 94.2%, 98.6%	92.0% (698/759) 95% CI: 89.8%, 93.8%	-		

* Plate count of 270 CFU/bottle was arrived at by serial dilution.

These data include repeat testing performed as a result of laboratory errors at a single site (i.e., contaminated bottles/reagents, colony counts out of range, and site failure to change bottle status after positive instrument signal and positive subculture). Data excluding the laboratory errors demonstrated 100% recovery with the exception of *E. aerogenes*, which exhibited 85% recovery for all sites combined.

BACT/ALERT® VIRTUO® Microbial Detection Systems

Potentially Interfering Substances

In-house seeded studies were conducted with cerebrospinal fluid, pleural fluid, synovial fluid, plasma, blood, and blood clots. Aliquots of each of these fluids also received white blood cells at concentrations relevant to bacteremia in each given body fluid. Testing was conducted with and without microorganisms. These substances neither interfered with recovery and detection of organisms, nor did they generate false positive results in the absence of organisms.

Analytical Sensitivity: Limit of Detection (LoD)

Data in the following table represent results from in-house seeded studies. A minimum of 60 BACT/ALERT® FA Plus culture bottles were tested per species. At least 95% detection was achieved at LoD. Bottles inoculated with *H. influenzae* received 1 mL of human blood obtained from a healthy adult population.

Table 15: Analytical Sensitivity: Limit of Detection (LoD)

Microorganism	Strain ID	BACT/ALERT® VIRTUO® (CFU/bottle)
<i>Candida albicans</i>	ATCC® 14053™	7
<i>Enterococcus faecalis</i>	NCTC 12697	4
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 12923	4
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC® 10211™	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 9027™	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC 10788	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC® 6305™	3

Delayed Entry

The following table includes results from seeded studies using 9 species (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Enterococcus faecium*) at target concentrations of ≤100 CFU/bottle. Actual inoculum levels ranged from 5-84 CFU/bottle. Bottles were tested without and with 1 mL, 4 mL, and 10 mL human blood, with the exception of *N. meningitidis* (4 mL and 10 mL only), from healthy volunteers. Bottles were held at specified temperatures and times prior to loading into the BACT/ALERT® VIRTUO® instrument. Percent recovery reflects bottles flagged positive by the instrument and subculture with colony morphology consistent with the seeded organism.

Table 16: Delayed Entry

Sample Input	Incubation Temperature (°C)	Hold Time (hours)	% Recovery	Time to Detection from Sample Inoculation (Hold Time + Instrument TTD in hours)	
				Mean	Range
Inoculated Test Bottles	Control	No delay	100.0 (539/539)	14.0	8.5-40.5
	35-37	8	99.8 (538/539)	17.0	10.7-37.4
	20-25	24	100.0 (539/539)	33.3	27.4-78.8
	20-25	36	99.8 (535/536)	43.7	37.5-130.1
	2-8	48	97.6 (519/532)*	62.5	56.9-87.5
Negative Controls	All conditions		0.0 (0/64)†	-	-

* 12 out of 13 negative bottles were observed when tested with *N. meningitidis*.

† Negative controls tested with 10 mL human blood.

Caution: Culture bottles held at room temperature for longer than 24 hours before loading may not detect microorganisms and should be subcultured.

Within-Laboratory Precision (Repeatability)

Data in the following table represent results from in-house seeded studies conducted for 20 days using multiple instruments and tested by multiple operators. A minimum of 60 replicates were tested for each organism and lot tested. Bottles were tested without blood unless otherwise indicated.

Table 17: Within-Laboratory Precision (Repeatability)

Sample Input	Range (CFU/bottle)	% Recovery				Time to Detection (hours)	
		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Overall	Mean	Range
<i>Candida albicans</i>	3-30	100.0 (141/141)	100.0 (144/144)	100.0 (60/60)	100.0 (345/345)	27.1	21.4-40.0

Sample Input	Range (CFU/bottle)	% Recovery				Time to Detection (hours)	
		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Overall	Mean	Range
<i>Enterococcus faecalis</i>	3-16	100.0 (162/162)	100.0 (162/162)	100.0 (60/60)	100.0 (384/384)	10.9	9.6-12.4
<i>Escherichia coli</i>	8-20	100.0 (153/153)	100.0 (153/153)	100.0 (60/60)	100.0 (366/366)	9.6	8.7-10.8
<i>Haemophilus influenzae</i> *	1-24	100.0 (162/162)	100.0 (162/162)	100.0 (60/60)	100.0 (384/384)	13.6	11.0-21.6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5-17	100.0 (162/162)	100.0 (162/162)	100.0 (60/60)	100.0 (384/384)	14.7	12.8-17.6
<i>Staphylococcus aureus</i>	5-16	100.0 (171/171)	100.0 (171/171)	100.0 (60/60)	100.0 (402/402)	12.7	11.5-15.0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1-29	100.0 (162/162)	100.0 (162/162)	100.0 (60/60)	100.0 (384/384)	12.0	9.6-15.6

* Tested with 4 mL blood.

BACT/ALERT® 3D and BACT/ALERT® VIRTUO® Systems Comparative Data

Analytical Sensitivity: Growth Performance

Data in the following tables represent results from in-house seeded studies with and without blood (4 mL and 10 mL) obtained from healthy human donors. A single strain was tested for each species at target inoculum levels of ≤30 CFU/bottle. The actual inoculum levels ranged from 7-30 CFU/bottle for both BACT/ALERT® 3D and BACT/ALERT® VIRTUO®. Two positive bottles were subcultured per organism to assess purity. The species listed are representatives of clinically prevalent organisms in blood cultures and sterile body fluids.

Table 18: Analytical Sensitivity: Growth Performance on BACT/ALERT® VIRTUO® and on BACT/ALERT® 3D in Bottles Tested with Blood

Microorganism	BACT/ALERT® FA Plus BACT/ALERT® VIRTUO® - Blood				BACT/ALERT® FA Plus BACT/ALERT® 3D - Blood			
	% Recovery (n)	Average CFU/Bottle	Time to Detection		% Recovery (n)	Average CFU/Bottle	Time to Detection	
			Mean	Range			Mean	Range
<i>Abiotrophia defectiva</i>	100.0 (18/18)	23	15.1	14.2-16.1	100.0 (12/12)	15	22.0	19.0-28.6
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	100.0 (18/18)	21	30.4	22.2-36.2	100.0 (18/18)	21	34.8	28.1-39.8
<i>Campylobacter jejuni</i>	100.0 (18/18)	7	40.2	34.2-50.2	100.0 (18/18)	7	44.6	37.7-54.5
<i>Candida albicans</i>	100.0 (18/18)	11	27.0	23.4-29.8	100.0 (18/18)	11	28.5	26.6-31.7
<i>Candida glabrata</i>	100.0 (18/18)	7	45.5	38.4-57.2	100.0 (18/18)	7	50.4	45.6-55.9
<i>Candida krusei</i>	100.0 (18/18)	20	17.1	16.1-17.9	100.0 (18/18)	20	19.1	18.7-19.7
<i>Cardiobacterium hominis</i>	100.0 (18/18)	12	45.6	39.7-52.4	100.0 (18/18)	12	57.6	50.9-65.5
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	100.0 (18/18)	8	34.7	28.2-50.7	100.0 (17/17)	8	68.6	48.5-112.8
<i>Cryptococcus neoformans</i>	100.0 (16/16)	30	56.1	20.7-67.4	100.0 (18/18)	30	57.6	54.2-59.5
<i>Eikenella corrodens</i>	100.0 (18/18)	24	22.2	20.1-23.6	100.0 (18/18)	24	25.3	24.0-26.6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	100.0 (18/18)	10	11.3	10.3-13.0	100.0 (18/18)	10	12.7	12.0-13.4
<i>Enterococcus faecalis</i>	100.0 (18/18)	11	10.3	9.4-11.0	100.0 (18/18)	11	12.3	12.0-13.0
<i>Escherichia coli</i>	100.0 (18/18)	9	9.3	8.6-10.1	100.0 (18/18)	9	11.1	9.1-11.8

Microorganism	BACT/ALERT® FA Plus BACT/ALERT® VIRTUO® - Blood				BACT/ALERT® FA Plus BACT/ALERT® 3D - Blood			
	% Recovery (n)	Average CFU/Bottle	Time to Detection		% Recovery (n)	Average CFU/Bottle	Time to Detection	
			Mean	Range			Mean	Range
<i>Haemophilus influenzae</i>	100.0 (18/18)	18	14.1	9.1-16.3	100.0 (18/18)	18	17.6	16.6-18.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100.0 (18/18)	9	9.7	8.8-10.4	100.0 (18/18)	9	11.9	11.5-12.2
<i>Listeria monocytogenes</i>	100.0 (18/18)	19	19.7	18.2-21.3	100.0 (18/18)	19	20.8	20.2-21.6
<i>Micrococcus luteus</i>	100.0 (18/18)	24	32.7	30.0-36.1	100.0 (18/18)	24	34.7	32.4-37.7
<i>Neisseria meningitidis</i>	100.0 (18/18)	8	20.4	18.0-23.8	100.0 (18/18)	8	22.4	20.4-25.0
<i>Proteus vulgaris</i>	100.0 (18/18)	22	11.8	11.0-12.5	100.0 (18/18)	22	13.6	13.2-13.9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100.0 (18/18)	12	14.4	13.8-15.2	100.0 (18/18)	12	16.8	16.3-18.0
<i>Salmonella enterica</i>	100.0 (18/18)	9	11.5	10.6-12.5	100.0 (18/18)	9	13.6	12.5-15.1
<i>Serratia marcescens</i>	100.0 (18/18)	10	11.4	10.7-12.3	100.0 (18/18)	10	13.2	12.5-14.2
<i>Staphylococcus aureus</i>	100.0 (18/18)	14	10.7	10.1-11.5	100.0 (18/18)	15	13.2	12.7-13.9
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100.0 (18/18)	11	15.9	14.1-18.0	100.0 (18/18)	11	17.7	16.6-18.7
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	100.0 (16/16)	22	54.0	24.8-83.9	100.0 (18/18)	22	31.9	27.6-37.0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	100.0 (18/18)	13	11.9	10.5-13.3	100.0 (18/18)	13	15.0	13.9-16.1
<i>Streptococcus mitis</i>	100.0 (18/18)	17	9.3	8.6-10.4	100.0 (18/18)	17	11.7	11.3-12.0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100.0 (18/18)	22	11.4	10.6-12.1	100.0 (18/18)	22	13.7	13.4-14.2
<i>Streptococcus pyogenes</i>	100.0 (18/18)	16	10.4	9.8-10.9	100.0 (18/18)	16	12.4	11.5-13.0

Table 19: Analytical Sensitivity: Growth Performance on BACT/ALERT® VIRTUO® and on BACT/ALERT® 3D in Bottles Tested with No Blood

Microorganism	BACT/ALERT® FA Plus BACT/ALERT® VIRTUO® - No Blood				BACT/ALERT® FA Plus BACT/ALERT® 3D - No Blood			
	% Recovery (n)	Average CFU/Bottle	Time to Detection		% Recovery (n)	Average CFU/Bottle	Time to Detection	
			Mean	Range			Mean	Range
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	100.0 (9/9)	21	30.3	27.8-32.2	100.0 (9/9)	21	36.2	32.9-43.2
<i>Campylobacter jejuni</i>	100.0 (6/6)	7	45.8	40.2-52.0	100.0 (9/9)	7	49.2	47.3-51.4
<i>Candida albicans</i>	100.0 (9/9)	11	25.9	24.3-28.1	100.0 (9/9)	11	29.1	27.4-32.4
<i>Candida glabrata</i>	100.0 (9/9)	7	52.5	35.7-64.7	100.0 (9/9)	7	69.4	55.9-82.6
<i>Candida krusei</i>	100.0 (9/9)	20	20.6	17.9-22.0	100.0 (9/9)	20	22.5	20.6-24.2
<i>Cardiobacterium hominis</i>	100.0 (9/9)	12	55.3	52.8-59.1	0.0 (0/9)	12	N/A	N/A
<i>Cryptococcus neoformans</i>	100.0 (9/9)	30	62.6	54.5-73.4	100.0 (9/9)	30	62.8	58.8-66.5
<i>Enterobacter aerogenes</i>	100.0 (9/9)	10	10.2	9.7-11.7	100.0 (9/9)	10	12.9	12.2-13.2
<i>Enterococcus faecalis</i>	100.0 (9/9)	11	10.2	9.4-10.9	100.0 (9/9)	11	13.5	13.2-13.9
<i>Escherichia coli</i>	100.0 (9/9)	9	8.8	8.3-9.9	100.0 (9/9)	9	11.4	10.8-11.8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100.0 (9/9)	9	9.7	9.1-10.9	100.0 (9/9)	9	12.3	12.0-12.5
<i>Listeria monocytogenes</i>	100.0 (9/9)	19	18.7	17.2-19.6	100.0 (9/9)	19	20.2	19.7-20.9

Microorganism	BACT/ALERT® FA Plus BACT/ALERT® VIRTUO® - No Blood				BACT/ALERT® FA Plus BACT/ALERT® 3D - No Blood			
	% Recovery (n)	Average CFU/Bottle	Time to Detection		% Recovery (n)	Average CFU/Bottle	Time to Detection	
			Mean	Range			Mean	Range
<i>Micrococcus luteus</i>	100.0 (9/9)	24	31.8	31.1-33.1	100.0 (9/9)	24	35.4	34.8-36.7
<i>Proteus vulgaris</i>	100.0 (9/9)	22	10.8	10.2-11.2	100.0 (9/9)	22	13.3	13.0-13.9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100.0 (9/9)	12	14.9	14.1-15.8	100.0 (9/9)	12	18.4	17.8-19.0
<i>Salmonella enterica</i>	100.0 (9/9)	9	10.4	10.0-10.9	100.0 (9/9)	9	13.3	12.5-13.9
<i>Serratia marcescens</i>	100.0 (9/9)	10	11.3	10.9-12.5	100.0 (9/9)	10	13.8	13.0-15.4
<i>Staphylococcus aureus</i>	100.0 (9/9)	14	12.4	11.0-13.3	100.0 (9/9)	15	15.0	14.4-16.6
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100.0 (9/9)	11	17.9	16.4-19.2	100.0 (9/9)	11	20.9	20.4-21.6
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	100.0 (9/9)	22	45.0	31.2-56.9	100.0 (9/9)	22	42.7	33.6-63.8
<i>Streptococcus agalactiae</i>	100.0 (9/9)	13	10.2	9.9-10.8	100.0 (9/9)	13	13.5	13.2-13.9
<i>Streptococcus mitis</i>	100.0 (9/9)	17	9.0	8.6-9.8	100.0 (9/9)	17	12.6	12.0-13.7
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100.0 (9/9)	22	10.8	10.2-11.5	100.0 (9/9)	22	13.4	12.7-14.2
<i>Streptococcus pyogenes</i>	100.0 (9/9)	16	10.5	10.0-11.9	100.0 (9/9)	16	13.0	12.7-13.4

Note: Recovery of *A. defectiva*, *E. corrodens*, *H. influenzae*, *C. jeikeium*, and *N. meningitidis* in BACT/ALERT® FA Plus bottles, tested on either instrument, necessitate blood; therefore, BACT/ALERT® FA Plus bottles not containing blood were excluded from analysis for these organisms. Refer to Table 18 for data with blood for this organism.

Note: *C. hominis* was not detected in the absence of blood on the BACT/ALERT® 3D. However, upon subculture of the negative *C. hominis* bottles to solid medium, pure growth was observed.

Clinical Study Results (Blood Cultures)

Results compare BACT/ALERT® VIRTUO® to BACT/ALERT® 3D with BACT/ALERT® FA Plus bottles for blood cultures (for all compliant pairs).

A multi-center clinical study was conducted at three different geographic sites in the U.S. and Canada comparing the performance of the BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D for aerobic culture pairs in which each bottle was filled up to 10 mL of blood and in which the blood volume of the bottle with the smallest volume was within 30% of that of the bottle with the largest volume (compliant pairs). A total of 1053 bottle pairs were obtained from 637 adult patients suspected of blood stream bacterial/yeast infections. Subcultures of both bottles were performed when either bottle in the set was determined to be positive by the BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D System. A pair of bottles was determined to have a positive status if the subculture of either the BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D FA Plus culture bottle was positive. A culture bottle was determined to be a "True Positive" if the culture was flagged positive by the BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D System and resulted in growth of the isolate upon subculture of this bottle. True positive rates were calculated for the BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus and BACT/ALERT® 3D FA Plus culture bottles, and the ratio of BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus true positives to BACT/ALERT® 3D FA Plus true positives was calculated to compare performance. Clinical isolates recovered were classified as significant, contaminant, or unknown based on determination by the clinical trial sites.

A total of 98 isolates were recovered from all compliant aerobic blood culture pairs with a positive status. There were a total of 94 bottle pairs that recovered at least one isolate by subculture of BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D FA Plus culture bottles. A total of 91 bottle pairs recovered a single isolate, 2 bottle pairs recovered two isolates, and 1 bottle pair recovered three isolates. The total population reported in the following table comprises the 98 isolates recovered from positive bottle pairs and 959 negative bottle pairs for a total of 1057 results. The BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus culture bottle detected a total of 73 isolates compared to the BACT/ALERT® 3D FA Plus culture bottle that detected 79 isolates. Of the significant isolates, the BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus culture bottle detected a total of 64 isolates compared to the BACT/ALERT® 3D FA Plus culture bottle that detected 66 isolates. No false positives were identified by subculture of positive

BACT/ALERT® VIRTUO™ FA Plus culture bottles in the study population (0/1057). No false positives were identified by subculture of positive BACT/ALERT® 3D FA Plus culture bottles in the study population (0/1057).

The following tables compare results of the BACT/ALERT® VIRTUO® to BACT/ALERT® 3D blood cultures for all compliant BACT/ALERT® FA Plus blood culture bottles that yielded any number of isolates on subculture (Table 20), a single isolate alone on subculture (Table 21), and multiple isolates on subculture (Table 22).

Table 20: Blood - Compliant - Single And Multiple Isolates

Clinical Determination	BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives	% of BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives in Population	BACT/ALERT® 3D True Positives	% of BACT/ALERT® 3D True Positives in Population	Ratio of True Positives	95% CI (LCL, UCL)
Significant	64	6.1 (64/1057)	66	6.2 (66/1057)	0.970	0.821, 1.119
Contaminant	7	0.7 (7/1057)	11	1.0 (11/1057)	0.636	-
Unknown	2	0.2 (2/1057)	2	0.2 (2/1057)	1.000	-
Total	73	6.9 (73/1057)	79	7.5 (79/1057)	0.924	0.766, 1.082

Table 21: Blood - Compliant - Single Isolates

Clinical Determination	BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives	% of BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives in Population	BACT/ALERT® 3D True Positives	% of BACT/ALERT® 3D True Positives in Population	Ratio of True Positives	95% CI (LCL, UCL)
Significant	57	5.4 (57/1050)	60	5.7 (60/1050)	0.950	0.791, 1.109
Contaminant	7	0.7 (7/1050)	11	1.0 (11/1050)	0.636	-
Unknown	2	0.2 (2/1050)	2	0.2 (2/1050)	1.000	-
Total	66	6.3 (66/1050)	73	7.0 (73/1050)	0.904	0.737, 1.071

Table 22: Blood - Compliant - Multiple Isolates

Clinical Determination	BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives	% of BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives in Population	BACT/ALERT® 3D True Positives	% of BACT/ALERT® 3D True Positives in Population	Ratio of True Positives	95% CI (LCL, UCL)
Significant	7	100.0 (7/7)	6	85.7 (6/7)	1.167	0.814, 1.520
Contaminant	0	0.0 (0/7)	0	0.0 (0/7)	-	-
Unknown	0	0.0 (0/7)	0	0.0 (0/7)	-	-
Total	7	100.0 (7/7)	6	85.7 (6/7)	1.167	0.814, 1.520

A comparative yield of microorganisms (number of isolates) from BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D recovered on subculture of BACT/ALERT® FA Plus bottles is presented in the following table.

Table 23: Comparative Yield of Microorganisms (Number of Isolates) – Blood Cultures

Group	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
Anaerobes	2	0
Enterobacteriaceae	18	18
<i>Enterococcus</i> spp.	7	7
Yeasts	3	1
Non-fermentative Gram-Negative Bacilli	6	5
Other Gram-Negative	0	1
Other Gram-Positive	1	5

Group	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
Coagulase-Negative <i>Staphylococcus</i>	12	16
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	19
<i>Streptococcus</i> spp.	7	6
Other	1	1

Note: Isolate table includes polymicrobial cultures.

In this clinical study, there were 1317 pairs of BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D culture bottles with negative instrument results for both systems after 5 days of incubation. Among these pairs, terminal subcultures were performed for 624 pairs, and one false negative result by both BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D was observed; subculture on BACT/ALERT® VIRTUO® bottles alone was performed for 9 pairs, and no false negative result was observed; subculture on BACT/ALERT® 3D bottles alone was performed for 7 pairs, and no false negative result was observed; both subcultures were not performed for 677 pairs of bottles. A culture bottle was determined to be false negative if the bottle result was negative by the instrument and resulted in growth upon subculture of the bottle.

Table 24: Summary of Percent False Negatives From Aerobic Blood Culture Pairs That Were Flagged Negative By Both Instruments

Subculture Performed BACT/ALERT® VIRTUO®	Subculture Performed BACT/ALERT® 3D	% False Negative BACT/ALERT® VIRTUO®	% False Negative BACT/ALERT® 3D
Yes	Yes	0.16 (1/624)	0.16 (1/624)
Yes	No	0.00 (0/9)	-
No	Yes	-	0.00 (0/7)

Overall false negative rate for BACT/ALERT® VIRTUO® based on a subset of terminal subcultures was 0.16% (1/633).

Clinical Study Results (Sterile Body Fluid Cultures)

A multi-center clinical study was conducted at three different geographic sites in the U.S. and Canada comparing the performance of the BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus and BACT/ALERT® 3D FA Plus culture bottles with sterile body fluid specimens. A total of 362 bottle pairs were obtained from 284 adult patients suspected of sterile body fluid bacterial/yeast infections. Sterile body fluid types evaluated were continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) fluid, cerebrospinal fluid (CSF), pericardial fluid, peritoneal fluid, pleural fluid, and synovial fluid. Clinical isolates recovered were classified as significant, contaminant, or unknown based on determination by the clinical trial sites.

A total of 66 isolates were recovered from all aerobic sterile body fluid culture pairs with a positive status. There were a total of 54 bottle pairs that recovered at least one isolate by subculture of BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus or BACT/ALERT® 3D FA Plus culture bottles. A total of 46 bottle pairs recovered a single isolate, 5 bottle pairs recovered two isolates, 2 bottle pairs recovered three isolates, and 1 bottle pair recovered four isolates. The total population reported in the table below comprises the 66 isolates recovered from positive bottle pairs and 308 negative bottle pairs for a total of 374 results. The BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus culture bottle detected a total of 55 isolates compared to the BACT/ALERT® 3D FA Plus culture bottle that detected 52 isolates. Of the significant isolates, the BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus culture bottle detected a total of 42 isolates compared to the BACT/ALERT® 3D FA Plus culture bottle that detected 42 isolates. No false positives were identified by subculture of positive BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus culture bottles in the study population (0/374). No false positives were identified by subculture of positive BACT/ALERT® 3D FA Plus culture bottles in the study population (0/374).

The following table compares results of the BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus to BACT/ALERT® 3D FA Plus sterile body fluid cultures that yielded single or multiple isolates on subculture.

Table 25: Sterile Body Fluids - Single And Multiple Isolates

Clinical Determination	BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives	% of BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives in Population	BACT/ALERT® 3D True Positives	% of BACT/ALERT® 3D True Positives in Population	Ratio of True Positives	95% CI (LCL, UCL)
Significant	42	11.2 (42/374)	42	11.2 (42/374)	1.000	0.852, 1.148
Contaminant	8	2.1 (8/374)	6	1.6 (6/374)	1.333	-
Unknown	5	1.3 (5/374)	4	1.1 (4/374)	1.250	-
Total	55	14.7 (55/374)	52	13.9 (52/374)	1.058	0.864, 1.252

A comparative yield of microorganisms (number of isolates) from BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D recovered on subculture of BACT/ALERT® FA Plus culture bottles is presented in Table 26 and the number of positive specimens by fluid type is presented in Table 27.

Table 26: Comparative Yield of Microorganisms (Number of Isolates) – Sterile Body Fluid Cultures

Group	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
Anaerobes	-	-
Enterobacteriaceae	15	15
<i>Enterococcus</i> spp.	4	5
Yeasts	5	4
Non-fermentative Gram-Negative Bacilli	6	5
Other Gram-Negative	1	0
Other Gram-Positive	0	2
Coagulase-Negative <i>Staphylococcus</i>	4	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	3
<i>Streptococcus</i> spp.	17	12
Other	-	-

Note: Isolate table includes polymicrobial cultures.

Table 27: Number of Positive Specimens – Sterile Body Fluid Cultures

Sterile Body Fluid Type	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
CAPD	2	2
Pericardial	1	0
Peritoneal	20	21
Pleural	21	19
Synovial	4	5

In this clinical study, there were 308 pairs of BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D culture bottles with negative instrument results for both systems after 5 days of incubation. Among these pairs, terminal subcultures were performed for 236 pairs, and no false negative result by either BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D was observed; subculture on BACT/ALERT® VIRTUO® bottles alone was performed for 4 pairs, and no false negative result was observed; subculture on BACT/ALERT® 3D bottles alone was performed for 3 pairs, and no false negative result was observed; both subcultures were not performed for 65 pairs of bottles. A culture bottle was determined to be false negative if the bottle result was negative by the instrument and resulted in growth upon subculture of the bottle.

Table 28: Summary of Percent False Negatives from Aerobic Sterile Body Fluid Culture Pairs That Were Flagged Negative by Both Instruments

Subculture Performed BACT/ALERT® VIRTUO®	Subculture Performed BACT/ALERT® 3D	% False Negative BACT/ALERT® VIRTUO®	% False Negative BACT/ALERT® 3D
Yes	Yes	0.00 (0/236)	0.00 (0/236)
Yes	No	0.00 (0/4)	-
No	Yes	-	0.00 (0/3)

Summary of False Positive Results

A culture bottle was determined to be a false positive if the culture was flagged positive by the BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D system and was negative upon subculture of the bottle. The study population consisted of culture pairs that received specimen volumes of ≤10 mL. The false positive results were identified by subculture of positive BACT/ALERT® VIRTUO® bottles and positive BACT/ALERT® 3D bottles, comprising proportions of the study populations based on the total numbers of corresponding blood cultures or sterile body fluid cultures.

Table 29: Summary of False Positive Results

Bottle Type - Specimen Type	% False Positive BACT/ALERT® VIRTUO®	% False Positive BACT/ALERT® 3D
BACT/ALERT® FA Plus - Blood	0.00 (0/1441)	0.00 (0/1441)
BACT/ALERT® FA Plus - Sterile Body Fluid	0.00 (0/362)	0.00 (0/362)

Limited Warranty

bioMérieux warrants the performance of the product for its stated intended use provided that all procedures for usage, storage and handling, shelf life (when applicable), and precautions are strictly followed as detailed in the instructions for use (IFU).

Except as expressly set forth above, bioMérieux hereby disclaims all warranties, including any implied warranties of merchantability and fitness for a particular purpose or use, and disclaims all liability, whether direct, indirect or consequential, for any use of the reagent, software, instrument and disposables (the "System") other than as set forth in the IFU.

Availability

bioMérieux BACT/ALERT® FA Plus	100/case	 410851
-----------------------------------	----------	--

For technical assistance in the USA, contact bioMérieux Customer Service at 1-800-682-2666. Outside the USA, contact your local bioMérieux representative.

Index of Symbols

Symbol	Meaning
	Catalogue number
	Manufacturer
	Date of manufacture

Symbol	Meaning
	Temperature limit
	Use by date
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Authorized Representative in the European Community
	This way up
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device
	Do not reuse
	Does not contain latex
	For US Only: Caution: US Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner
	Fill-to

Instructions for use provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib

Revision History

Change type categories

N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user

Note: *Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.*

Release Date	Part Number	Change Type	Change Summary
2020-02	043784 - 03	Technical change	Reagents - Expanded description of potential formulation adjustments
			Specimen Collection and Preparation - Added step regarding proper mixing after inoculation
			BACT/ALERT FA Plus Culture Bottle Test Procedure - Added precaution regarding personal protective equipment (PPE)
			Neutralization of Antimicrobials and Performance Characteristics - Added information regarding equivalency testing after formulation adjustment
			Performance Characteristics - Removed data for <i>A. defectiva</i> from Table 19
2017-04	9313398 F	Technical change	Addition of VIRTUO information throughout, including Expected Values, Neutralization of Antimicrobials, and Performance Characteristics of the Test (Tables 15-29) sections
2016-04	9312050 E	Technical change	Reagents - Update to composition information Addition of Rx-only caution and symbol for US customers
		Administrative	Limited Warranty - Addition of statement
2015-05	9309503 D	Technical Change	Reagents - Clarification of expiration date
			Specimen Collection and Preparation <ul style="list-style-type: none"> • Addition of Caution regarding bottle pressure • Addition of Note regarding bottle label fill-to information • Addition of Notes regarding venipuncture information
		Administrative	Quality Control - Addition of Caution regarding LIS and bottle type abbreviations
2013-04	9305048 C	Technical Change	Intended Use, Specimen Collection and Preparation, Expected Values, Neutralization of Antimicrobials, Performance Characteristics of the Test - Revised text to include additional information on product performance based on clinical studies
		Administrative	Limitations of the Test - Added Limitations 2, 8, 9, and 10 following FDA review
		Administrative	Reagents - Moved Cautions to Limitations of the Test section

BIOMERIEUX, the BIOMERIEUX logo, BACT/ALERT, BIOBALL, FAN, and VIRTUO are used, pending, and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.

This product may be protected by one or more patents, see: <http://www.biomerieux-usa.com/patents>.

The ATCC trademark and trade name and any and all ATCC catalog numbers are trademarks of the American Type Culture Collection.

CLSI is a trademark belonging to Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.

©BIOMÉRIEUX 2011, 2013, 2015, 2016, 2017, 2019, 2020

BACT/ALERT® PF Plus

**PASKIRTIS**

BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliukai yra naudojami kartu su BACT/ALERT® mikroorganizmų aerobiniai ir fakultatyvieji anaerobiniai aptikimo sistemomis kokybinėms mikroorganizmų (bakterijų ir mieliagybių) išgavimo ir nustatymo iš kraujo procedūroms.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistemos naudojamos nustatyti, ar paimtame iš paciento, kuriam įtariama bakteremija / fungemija, kraujyje yra mikroorganizmų. BACT/ALERT® sistema ir pasėlio buteliukai – tai mikroorganizmų aptikimo sistema ir kultivavimo terpė su mitybos ir aplinkos sąlygomis, tinkamomis dažniausiai kraujo infekcijos atvejais aptinkamiems mikroorganizmams. BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliukai suteikia galimybę aptikti mikroorganizmus net ir mažo tūrio kraujo mėginyje. Inokuluoti buteliukai dedami į instrumentą, čia jie inkubuojami ir nuolat stebima, ar yra mikroorganizmų, kurie auga BACT/ALERT® PF Plus pasėlių buteliukuose.

Pastaba. Pateikta informacija taikoma visų konfigūracijų BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistemoms, nebent nurodyta kitaip.

TYRIMO PRINCIPAS

BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistema anglies dioksido (CO₂), išskiriamo iš pasėlio terpės, buvimui ir gamybai stebėti naudoja kolorimetrinį jutiklį ir atspindėtą šviesą. Jei tyrimo mėginyje yra mikroorganizmų, jiems metabolizuojant substratą pasėlio terpėje, išskiriamas anglies dioksidas. Kai augant mikroorganizmams išsiskiria CO₂, dujoms pralaidaus jutiklio, esančio buteliuko su pasėliu dugne, spalva keičiasi iš mėlynai žalios į geltoną.¹ Dėl šviesesnės spalvos padaugėja atspindėjimo vienetų, kuriuos stebi sistema. Instrumentas stebi ir įrašo buteliuko atspindžius kas 10 minučių.

REAGENTAI

Skirta naudoti *in vitro* diagnostikai.

PERSPĖJIMAS. Elkitės su mėginiais ir inokuliuotais pasėlio buteliukais taip, lyg jie galėtų perduoti infekcines medžiagas. Visi inokuluoti pasėlio buteliukai, adatos, kuriomis buvo paimti mėginiai, ir kraujo siurbimo priemonės turi būti nukenksminti pagal jūsų institucijos metodiką.²

BACT/ALERT® PF Plus (pažymėtas geltona spalva) – BACT/ALERT® PF Plus vienkartinuose pasėlio buteliukuose yra 30 ml kompleksinės terpės ir $\geq 1,6$ g adsorbentinių polimerinių rutuliukų. Gamybos laikotarpiu terpę sudaro toliau nurodyti reaguojantieji komponentai: peptonų / biologinių ekstraktų junginys ($\geq 1,85$ % w/v), antikoaguliantas ($\geq 0,083$ % w/v), vitaminai ir aminorūgštys ($\geq 0,00145$ % w/v), anglies šaltiniai ($\geq 0,45$ % w/v), mikroelementai ($\geq 0,0005$ % w/v) ir kiti sudėtiniai aminorūgščių ir angliavandenių substratai išgrynintame vandenyje. Buteliukai yra paruošti su N₂, O₂ ir CO₂ atmosfera vakuomo sąlygomis. Terpės sudėtis gali būti koreguojama, kad atitiktų konkrečius charakteristikų reikalavimus, o tokiais atvejais vykdomi analitiniai tyrimai reikšmingam atitikimui tarp koreguotos ir ankstesnės formuliu nustatyti (žr. skyrelį „Peržiūrų istorija“).

PERSPĖJIMAS. BACT/ALERT® pasėlio buteliukų sudėtyje yra polikarbonato. Ne visi dezinfekantai skirti polikarbonatiniams paviršiams, todėl gali sugadinti buteliukus. Prieš naudodami dezinfekantus ant BACT/ALERT® pasėlio buteliukų paviršiaus įsitikinkite, kad dezinfekantas tinka polikarbonatiniams paviršiams.

PERSPĖJIMAS. Į „BACT/ALERT® PF Plus“ pasėlio buteliukus, kuriuose kultivuojami labai nedidelio tūrio kraujo mėginiai (0,5 ml ar mažiau), gali prireikti pridėti kraujo, pvz., sterilaus defibrinuoto arklio kraujo (10,0 % v/v), augimui palaikyti, ypač išgaunant lėpius organizmus, tokius kaip *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* ir *Neisseria gonorrhoeae*.³

Būtinai papildomi reikmenys

- BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistemos

¹ Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al. BacT/Alert: an Automated Colorimetric Microbial Detection System. *J Clin Micro* 1990; 28 (7), 1608-1612.

² *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)* 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

- Kraujo paėmimo įtaisas
- Sterili „Airway“ adata / subkultūros vienetai
- Vienkartinės pirštinės
- Tinkami biologinį pavojų keliančių atliekų konteineriai medžiagoms, galimai užkrėstoms infekcinėmis medžiagomis
- Alkoholiu sudrėkinti tamponai ar lygiavertės priemonės

bioMérieux tiekiamos priemonės

- Kraujo surinkimo adapterio dangtelis
- BACT/ALERT® mikrobu aptikimo sistemos
- Sterili „Airway“ adata / subkultūros vienetai

Laikymo instrukcijos

BACT/ALERT® PF Plus pasėlių buteliukai yra paruošti naudoti. Laikykite juos vertikaliaje padėtyje kambario temperatūroje (15–30 °C), saugokite nuo tiesioginių saulės spindulių. Tinkamumo terminas atspausdintas ant kiekvieno buteliuko etiketės. Neinokuliuokite pasėlio buteliukų pasibaigus tinkamumo terminui. Jei buteliukai laikomi mažesnėje nei 15 °C temperatūroje, gali susidaryti nuosėdų, kurios išnyksta buteliukus atšildžius iki kambario temperatūros. Prieš naudojant buteliukai turi būti kambario temperatūroje.

Cheminiai ir fiziniai nestabilumo požymiai

Prieš naudojant BACT/ALERT® PF Plus pasėlių buteliukus būtina patikrinti, ar nėra pažeidimo arba sugedimo (spalvos pakitimo) požymių. Išmeskite buteliukus, jei pastebėjote pažeidimo, nuotėkio ar nusidėvėjimo požymių. Terpė turi būti skaidri, tačiau joje gali būti nežymi opalescencija ar nuosėdų pėdsakai dėl antikoagulianto SPS. Nepainiokite opalescencijos su drumstumu. Nenaudokite buteliukų, jei juose esanti terpė drumsta, jutiklis yra geltonos spalvos ar susidarė perteklinis dujų slėgis; tai galimo užterštumo požymiai.

PRIETAISAI

Prieš naudodami peržiūrėkite atitinkamą BACT/ALERT® mikrobu nustatymo sistemos naudotojo vadovą.

MĖGINIO PAĖMIMAS IR PARUOŠIMAS

Bendrosios nuostatos

1. BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliukus turi naudoti išmokyti sveikatos priežiūros specialistai. Ypač svarbu taisyklingai imti kraujo pasėlio mėginius. Žr. „Cumitech 1C“³ dėl tinkamos mėginių ėmimo procedūros.
2. Norėdami išvengti užteršimo, atsargiai atlikite buteliuko paruošimo ir paciento mėginio inokuliacijos procedūras. Ypač svarbu tinkamai dezinfekuoti odą, siekiant sumažinti taršos tikimybę.
3. „bioMérieux“ to nerekomenduoja, tačiau kraujas gali būti paimtas tiesiogiai į paėmimo mėgintuvėlius su SPS. Mėgintuvėliai su kitais antikoagulantais negali būti naudojami kraujo pasėliui.⁴
4. „bioMérieux“ rekomenduoja, kad inokuliuoti pasėlio buteliukai būtų patalpinti į BACT/ALERT® mikrobinio aptikimo sistemą kaip įmanoma greičiau po surinkimo. Jei delsos neįmanoma išvengti, jie gali būti laikomi kambario temperatūroje iki 24 valandų prieš dedant į instrumentą.
5. Optimalus izoliatų išgavimas pavyksta tada, kai yra įdedamas maksimalus mėginio kiekis. Mažesnis mėginio tūris gali neigiamai paveikti kai kurių organizmų išgavimą ir (arba) aptikimą. Rekomenduojamas mėginio tūris buteliuke yra iki 4 ml, surinktą kiekį reikia stebėti pagal 4 ml padalų žymas ant buteliuko etiketės.
6. Paprastai, kultivuoiant didesnio tūrio kraujo mėginius, kuriuose bakterijų skaičius mažas, pagerėja bakterijų išgavimo kokybė.⁵
7. Klinikiniai tyrimai buvo atlikti naudojant vos 0,1 ml tūrio kraujo mėginius. Tačiau BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliuke rekomenduojama inokuliuoti iki 4 ml kraujo. Norėdami išvengti perteklinio inokuliacijos, stebėkite kraujo tūrio didėjimą pasėlio buteliuke pagal 4 ml žymas ant buteliuko etiketės.

³ Baron EJ, Weinstein MP, Dunne Jr. WM, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. 2005. Cumitech 1C, Blood Cultures IV. Coordinating ed. Baron EJ. ASM Press, Washington, DC.

⁴ CLSI. *Principles and Procedures for Blood Cultures*; Approved Guideline. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.

⁵ CLSI/NCCLS. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*; Approved Guideline. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.



PERSPĖJIMAS. Imant mėginį į BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliuką tiesioginio vakuomo būdu gali būti paimta daugiau nei 4 ml kraujo mėginio. Todėl patariama mėginius tiesioginio vakuomo būdu iš mažų vaikų, kūdikių ir naujagimių imti atsargiai, nes bendrasis kraujo tūris nedidelis.

Buteliuko paruošimas

1. Užrašykite paciento duomenis ant pasėlio buteliuko. Piktogramas ant buteliuko etiketės (☹, #, ☺) gali pasirinkti naudotojas.
2. Nuo kiekvieno pasėlio buteliuko nuimkite plastikinę apsaugą. Prieš inokuliuodami dezinfekuokite pasėlio buteliuko dangtelį alkoholyje sumirkytu tamponu ar pan. Leiskite nudžiūti.
3. Nuvalykite pasirinktą venos punkcijos vietą, kaip nurodyta jūsų įstaigos procedūros rekomendacijose.

Inokuliacijos procedūra tiesiogiai paimant mėginį venos punkcijos metodu

Pastaba. Jei norite inokuliuoti daugiau kaip vienos rūšies BACT/ALERT® kraujo pasėlio buteliuką, naudodami peteliškės formos kraujo paėmimo rinkinį ir tiesioginio paėmimo adapterio dangtelį, pirma inokuliuokite aerobinio pasėlio buteliuką, tada inokuliuokite anaerobinio pasėlio buteliuką, kad į anaerobinį buteliuką nepatektų sistemoje esantis deguonis.

Pastaba. Visada atidžiai stebėkite tiesioginio paėmimo procesą, kad būtų užtikrinta reikiama srovė ir buteliuko turinys nepatektų į adapterio sistemą. Pasėlio buteliuke yra cheminių priedų, todėl svarbu užkirsti kelią galimai atgalinei srovei ir jos sukeltoms pašalinėms reakcijoms, atliekant toliau nurodytus veiksmus.

1. Pasėlio buteliuką laikykite žemiau paciento rankos vertikaloje padėtyje (kamštelis viršuje).
2. Kraują imkite naudodami peteliškės formos kraujo ėmimo rinkinį ir kraujo ėmimo adapterio dangtelį, laikydamiesi įstaigoje patvirtintos procedūros, ir inokuliuokite tiesiai į pasėlio buteliuką prie paciento lovos. Nors galima naudoti ir mažesnį mėginio tūrį, bet geriausia atlikti išgavimą naudojant maždaug rekomenduojamo 4 ml tūrio mėginį.
3. Atleiskite turniketą iškart, kai kraujas ima tekėti į kultivavimo buteliuką arba po 2 minučių po uždėjimo.
4. Surinkimo procedūros metu neleiskite, kad buteliuko turinys paliestų kamštelį arba adatos galiuką.

PERSPĖJIMAS. Užterštame pasėlio buteliuke gali būti susidaręs teigiamas slėgis; jei toks buteliukas naudojamas tiesiogiai imant kraujo mėginį, tai gali sukelti refliuksą į paciento veną. Pasėlio buteliuko tarša gali būti ne iš karto matoma. Įdėmiai stebėkite tiesioginio paėmimo procesą, kad išvengtumėte refliukso. Nenaudokite buteliuko, jei jame esanti terpė yra drumsta, jutiklis yra geltonas arba buteliuke per didelis dujų slėgis. Šie požymiai gali rodyti užteršimą.

5. Įsitikinkite, kad BACT/ALERT® PF Plus buteliuke esantis mėginys yra gerai susimaišęs su reagentais.
6. Inokuliuotą pasėlio buteliuką iš karto perkelkite į tyrimo laboratoriją.

Inokuliacijos procedūra mėginį imant švirkštu

Pastaba. Jei norite inokuliuoti daugiau kaip vienos rūšies BACT/ALERT® kraujo pasėlio buteliuką įtraukdami švirkštu, pirma inokuliuokite anaerobinio pasėlio buteliuką, tada inokuliuokite aerobinio pasėlio buteliuką, kad į anaerobinį buteliuką nepatektų švirkšte esantis deguonis. Įvertindami mėginio tūrį remkitės ant buteliuko etiketės esančiomis linijomis žymėmis.

1. Atlikite venos punkciją ir surinkite kraują į BACT/ALERT® pasėlio buteliuką, laikydamiesi Jūsų įstaigoje naudojamų procedūrų.

PERSPĖJIMAS. Inokuliacijos metu niekada nespauskite švirkšto stūmoklio žemyn, nes galite ištaškyti mėginį. Kai bus pasiektas užpildymo tūris, nuimkite švirkštą, nes vakuumas automatiškai ištrauks daugiau nei rekomenduojamas tūris. Norėdami išvengti vakuomo išleidimo, pradurkite buteliuko kamštį vertikaliai; buteliukas be vakuomo neturi būti inokuliuotas.

2. Įsitikinkite, kad BACT/ALERT® PF Plus buteliuke esantis mėginys yra gerai susimaišęs su reagentais.
3. Inokuliuotą pasėlio buteliuką iš karto perkelkite į tyrimo laboratoriją.

BACT/ALERT® PF PLUS PASĖLIO BUTELIUKO TYRIMO PROCEDŪRA

Išankstinės pastabos ir atsargumo priemonės

1. Mūvėkite vienkartinę pirštines, su inokuliuotais pasėlio buteliukais elkitės atsargiai – lyg jie galėtų perduoti infekcines medžiagas. Jei prarijote užterštų medžiagų arba jos susilietė su atviromis žaizdomis, pažeistomis vietomis ar kitaip sužalota oda, nedelsdami kreipkitės į gydytoją.
2. Tvarkydami išspūtusius ar lašančius buteliukus su teigiamais rezultatais naudokite tinkamas asmenines apsaugos priemones. Taip išvengsite kontakto su mikroorganizmais.
3. Išsiliejusią užterštą medžiagą nedelsdami išvalykite 5 % natrio hipochlorito tirpalu (santykis 1:10). Valymo medžiagą išmeskite priimtinu būdu.

4. Visi inokuliuoti pasėlio buteliukai, adatos, kuriomis buvo paimti mėginiai, ir kraujo siurbimo priemonės turi būti nukenksminti pagal jūsų institucijos metodiką.⁶
5. Šiuos buteliukus turi naudoti kvalifikuotas sveikatos priežiūros personalas.

PERSPĖJIMAS. Tik JAV: Federaliniai JAV įstatymai apriboja teisę praktikuojantiems gydytojams pardavinėti šį prietaisą.

Procedūrinės pastabos ir atsargumo priemonės

1. Venepunkciją ir inokuliaciją į pasėlių buteliuką reikia atlikti itin atsargiai, kad būtų neužkrėstas paciento mėginys, nes dėl užkrėtimo mėginys gali būti nustatytas kaip teigiamas, kai kliniškai reikšmingo izoliato iš tikrųjų nėra.
2. Kraujo mėginius imkite prieš pradėdami gydymą antibiotikais. Jeigu to padaryti neįmanoma, kraują paimkite prieš pat suleidami kitą antibiotikų dozę.
3. Jeigu inokuliuotų pasėlio buteliukų pristatymas į laboratoriją buvo uždelstas arba jeigu jie buvo inkubuojami prieš sudedant juos į BACT/ALERT® instrumentą, patikrinkite, ar nėra mikrobiologinio augimo požymių. Jei pastebėsite mikroorganizmų augimą, elkitės su buteliukais taip, lyg jų rezultatai būtų teigiami, ir nedėkite jų į BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistemą stebėti.

Laboratorijos procedūra

PERSPĖJIMAS. Atsargiai sėkite pasėlius iš buteliukų, kurių rezultatas laikomas teigiamu, nes jie gali būti perpildyti arba juose gali būti dujas išskiriančių mikroorganizmų. Pasėlio buteliukų, kurių rezultatas teigiamas, vidinis slėgis gali būti padidėjęs. Pasėlio buteliukai, kurių rezultatas teigiamas, turėtų būti laikinai ventiliuojami prieš dažymą arba išmetimą, kad būtų išleistos dujos, susidariusios dėl mikroorganizmo metabolizmo.

1. Prieš tirdami apžiūrėkite ir įvertinkite buteliukus. Nenaudokite buteliukų, jei pastebėjote pažeidimo, nuotėkio ar nusidėvėjimo požymių. Buteliukų, kuriuose pastebima hemolizė, drumstumas, padidėjęs dujų slėgis, kurių jautikliai geltoni ir (arba) yra augimo požymių, rezultatas turėtų būti laikomas teigiamu. Paruoškite tepinėlį ir auginkite pasėlį. Neinkubuokite, nebent tepinėlio rezultatas neigiamas.
2. Įstatę pasėlio buteliukus į instrumentą, inkubuokite juos 5 dienas arba tol, kol jie bus nustatyti esantys teigiami.
3. Paimkite visų teigiamų buteliukų tepinėlius ir juos persėkite. Jei tepinėlis neigiamas, bet nurodomas kaip galimai klaidingai teigiamas, buteliukas turi būti iš naujo įdedamas į instrumentą, kol persėtas pasėlis užaugs arba kol bus iš naujo nustatytas teigiamas rezultatas. Jeigu buteliukai iš pradžių buvo nustatyti kaip klaidingai teigiami ir buvo iš naujo priskirti teigiamiems, būtina paimti jų tepinėlių ir persėti.
4. Pasėliai, kurių rezultatas neigiamas, prieš išmetant gali būti patikrinti darant tepinėlį ir (arba) sėjant pasėlį.
5. Nurodymai, kaip įdėti ir išimti pasėlio buteliukus iš BACT/ALERT® prietaiso, pateikti naudotojo vadove.
6. **BACT/ALERT® pasėlio buteliukų pakartotinai nenaudokite.** Inokuliuotus BACT/ALERT® pasėlio buteliukus išmeskite pagal savo laboratorijos protokolą. Inokuliuotus BACT/ALERT® buteliukus galima dėti į autoklavą ir (arba) sudeginti.⁷
7. Pertvarą perduriant duriančiomis priemonėmis (pvz., buka adata), gali ištekėti šiek tiek buteliuko turinio.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Kiekvienai pasėlio buteliukų partijai suteiktas atitiktis sertifikatas. Pageidaujant atskiros laboratorijos gali atlikti BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliukų kokybės kontrolės tyrimą. Žr. atitinkamą BACT/ALERT® naudotojo vadovą ir CLSI® dokumentą M22-A3.⁸

Instrumentas

BACT/ALERT® atspindžio standartų rinkinys pateikiamas su kiekvienu BACT/ALERT® 3D instrumentu, o atspindžio kalibravimo standartai yra pridėdami prie kiekvieno BACT/ALERT® VIRTUO® instrumento kokybės kontrolės ir kalibravimo procedūroms atlikti. Kokybės kontrolė turi būti sistemos įprastos priežiūros dalis. Daugiau informacijos žr. atitinkamame BACT/ALERT® naudotojo vadove.

⁶ *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition.* U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

⁷ *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition.* U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

⁸ CLSI®/NCCLS. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard—Third Edition.* CLSI®/NCCLS document M22-A3. Wayne, PA: NCCLS; 2004.

PERSPĖJIMAS. Jei įstaigos LIS tiekėjas nusiunčia buteliukų identifikavimo numerius ir buteliukų tipų santrumpas į BACT/ALERT® prietaisą, naudokite tinkamą buteliuko tipo santrumpą, kad išvengtumėte galimų klaidingai teigiamų ir klaidingai neigiamų rezultatų. Norėdami gauti daugiau informacijos, kreipkitės į vietinį „bioMérieux“ atstovą.

REZULTATAI

Pasėlio buteliukų teigiamą arba neigiamą rezultatą nustato BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistemose esanti sprendimų priėmimo programinė įranga. Nereikia imtis jokių veiksmų, kol BACT/ALERT® prietaisas nenurodo pasėlio buteliukų kaip teigiamų ar neigiamų.

TYRIMO APRIBOJIMAI

Yra daug kintamųjų, susijusių su kraujo pasėlių tyrimais, kurių praktiškai neįmanoma kontroliuoti, todėl negalima visiškai užtikrinti, kad gauti rezultatai nulemti tik tinkamo ar netinkamo pasėlio terpės arba aptikimo sistemos veikimo.

1. Pacientų mėginiuose, kurių rezultatas BACT/ALERT® sistemoje yra teigiamas, gali būti tokių organizmų, kurie bus matomi darant tepinėlį, bet neaugs įprastinėje terpėje sėjant iš buteliuko. Jei įtariamas toks atvejis, mėginys turi būti pakartotinai sėjamas į specialią terpę. Be to, mėginiuose, kurių rezultatas BACT/ALERT® sistemoje yra teigiamas, gali būti mikroorganizmų, kurie gali būti nematomi įprastai naudojant tepinėlį, todėl jiems aptikti ir išgauti gali prireikti ir specialaus tepinėlio, ir terpės, skirtos sėti iš buteliuko.
2. Gali būti, kad kai kurie reti ir reiklūs mikroorganizmai BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliuko augimo terpėje neaugs arba augs lėtai. Be to, retais atvejais mikroorganizmai gali augti BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliuko terpėje, bet neišskirti tiek anglies dioksido, kad būtų nustatytas teigiamas rezultatas. Jei įtariate, kad yra retų ir reiklių mikroorganizmų, kuriems reikia specialios terpės ir auginimo sąlygų, išgaunant gali prireikti alternatyvių metodų arba ilgesnės inkubacijos trukmės.
3. Tam tikros *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* ir *Neisseria gonorrhoeae* padermės gali būti jautrios antikoagulantui natrio polianetolsulfonatui (SPS) ir dėl to neaugti ar išskirti mažai CO₂, jei į pasėlio buteliukus inokuluota nepakankamai kraujo mėginio.
4. Retais atvejais, jei mėginyje yra labai daug baltųjų kraujo kūnelių, BACT/ALERT® gali nurodyti pasėlių buteliuką kaip teigiamą. Tokiu atveju tepinėlio ir persėjimo rezultatai gali būti neigiami.
5. Mikroorganizmų kraujuje paprastai būna mažai ir su pertraukomis, todėl iš kiekvieno paciento turėtų būti paimami keli kraujo mėginiai iš eilės.
6. Nedelsdami išimkite teigiamus pasėlių buteliukus, kai BACT/ALERT® apie juos praneša, kad pasėliai netaptų negyvybingi dėl autolizės ar kitų priežasčių. Kai kurios *Streptococcus pneumoniae* padermės gali būti ypač linkusios į autolizę, jei nepašalinamos iškart, pranešus, kad jų rezultatas teigiamas.
7. Gramo metodu nudažyti neigiamų buteliukų tepinėliuose gali būti labai mažas negyvybingų organizmų kiekis, atsiradusių iš kultūrinės terpės komponentų, dažymo reagentų, imersinio aliejaus ar stiklelių, dėl to gali būti gaunamas klaidingai teigiamas rezultatas.
8. „bioMérieux“ rekomenduoja, kad inokuluoti pasėlio buteliukai būtų patalpinti į BACT/ALERT® mikrobinio aptikimo sistemą kaip įmanoma greičiau po surinkimo. Bet jei buteliukus į laboratoriją tenka siųsti vėliau, skyriuje „Tyrimo veikimo charakteristikos“ pateikiama tyrimų informacija apie vėliau gautus mėginius.
9. Ceflazidimo ir cefepimo antimikrobinės savybės nebuvo neutralizuotos.

TIKĖTINOS VERTĖS

1. Bendroji trijų klinikinių tyrimų įstaigų teigiamų kultūrų procentinė reikšmė buvo 6,3 % (diapazonas: 4,9–8,1 %), o svarbių izoliatų – 4,1 % (diapazonas: 2,5–6,4 %) reikšmingi izoliatai BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliukuose, į kuriuos įpilta 0,1–4 ml kraujo per BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliukų klinikinį tyrimą, atliktą naudojant BACT/ALERT® 3D.
2. Tiriant BACT/ALERT® 3D per BACT/ALERT® VIRTUO® klinikinį tyrimą, trijų klinikinių tyrimų centrų reikšmingų izoliatų teigiamų kultūrų procentinė reikšmė buvo 1,5 % (diapazonas: 0,0–11,1 %), o 1,5 % sudarė (diapazonas: 0,0–11,1 %) naudojant BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliukus, į kuriuos įpilta ≤ 4 ml kraujo.
3. Tiriant BACT/ALERT® 3D per BACT/ALERT® VIRTUO® klinikinį tyrimą, trijų klinikinių tyrimų centrų reikšmingų izoliatų teigiamų kultūrų procentinė reikšmė buvo 8,4 % (diapazonas: 3,6–13,6 %), o 6,9 % sudarė (diapazonas: 3,6–13,6 %) naudojant BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukus, į kuriuos įpilta ≤ 4 ml kraujo.
4. Atliekant BACT/ALERT® VIRTUO® klinikinį tyrimą, trijų klinikinių tyrimų centrų reikšmingų izoliatų teigiama procentinė reikšmė buvo 2,0 % (diapazonas: 0,0–2,1 %), o 1,5 % sudarė (diapazonas: 0,0–1,6 %) reikšmingi izoliatai iš trijų klinikinių tyrimų centrų „BACT/ALERT® PF Plus“ pasėlio buteliukuose, į kuriuos įpilta ≤ 4 ml kraujo.
5. Atliekant BACT/ALERT® VIRTUO® klinikinį tyrimą, trijų klinikinių tyrimų centrų reikšmingų izoliatų teigiama procentinė reikšmė buvo 8,2 % (diapazonas: 6,9–13,6 %), o 6,9 % sudarė (diapazonas: 5,7–12,5 %) reikšmingi izoliatai iš trijų klinikinių tyrimų centrų „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio buteliukuose, į kuriuos įpilta ≤ 4 ml kraujo.

6. Tikėtinos procentinės teigiamosios reikšmės kinta atsižvelgiant į pacientų populiaciją, svarbių organizmų paplitimą, įstaigos vietą ir užkrėtimo dažnį. Pateiktos tikėtinos reikšmės paremtos klinikinių tyrimų duomenimis, gautais atlikus keletą klinikinių tyrimų.

ANTIMIKROBINIŲ MEDŽIAGŲ NEUTRALIZAVIMAS

Antimikrobinų medžiagų neutralizavimas adsorbentiniais polimeriniais rutuliukais gali skirtis priklausomai nuo dozės dydžio ir mėginio paėmimo laiko. Vidiniais tyrimais testuojant BACT/ALERT® 3D mikrobu aptikimo sistemą, nustatyta, kad antimikrobinės medžiagos veiksmingai neutralizuojamos naudojant BACT/ALERT® PF Plus terpę, sprendžiant pagal 100 % tirtų organizmų išgavimą. Atliekant tyrimus, antimikrobinės medžiagos (kliniškai reikšminga koncentracija) buvo dedamos tiesiai į pasėlių buteliukus inokuliacijos su jautriomis padermėmis metu. Antimikrobinų medžiagų poveikis buvo patvirtintas lygiagrečiai tiriant neneutralizuojančią terpę kaip kontrolinę medžiagą. Terpė neutralizavo toliau pateiktų kategorijų antimikrobines medžiagas: penicilinus, glicilciklinus, polienus, makrolidus, triazolius, echinokandinus, cefazoliną, cefoksitiną, ceftaroliną, aminoglikozidus, fluorochinolonus, linkozamidus, glikopeptidus ir oksazolidinonus.

Ceftazidimo ir cefepimo antimikrobinės savybės nebuvo neutralizuotos. Cefotaksimas ir ceftriaksonas neutralizuoti nevisiškai. Atsižvelgiant į mikroorganizmą, cefotaksimas neutralizuotas esant nuo 50 % iki 2 % didžiausio serumo lygio (PSL). Atsižvelgiant į mikroorganizmą, ceftriaksonas neutralizuotas esant nuo 50 % iki 1 % didžiausio serumo lygio.

Antimikrobinų medžiagų neutralizavimo savybės priklauso nuo pasėlio buteliuko medžiagos sudėties ir nėra nustatomos pagal BACT/ALERT® mikroorganizmų aptikimo sistemų analizės algoritmus. Pavyzdinės antimikrobinės medžiagos, atrinktos iš keturių anksčiau išvardytų kategorijų, ištytos naudojant BACT/ALERT® VIRTUO® mikroorganizmų aptikimo sistemą, siekiant patvirtinti BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliukų neutralizavimo savybes. Neutralizavimas pasireiškė amikacinui (iš aminoglikozidų klasės), piperacilinui (penicilinų klasė), vankomicinui (glikopeptidų klasė) ir vorikonazoliui (triazolių klasė). Tyrimai parodė, kad instrumento sistema neturėjo įtakos pasėlio buteliuko antimikrobinų medžiagų neutralizavimo savybėms.

Pakoregavus formules, reikalingų vaistų kategorijų antimikrobiniai preparatai buvo tiriami koreguoto BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliuke be kraujo, jeigu nenurodyta kitaip, abiejose BACT/ALERT® 3D ir BACT/ALERT® VIRTUO® mikroorganizmų aptikimo sistemose. Pakoreguota terpė neutralizavo toliau pateiktų kategorijų antimikrobines medžiagas: penicilinus, glicilciklinus, polienus, makrolidus, triazolius, echinokandinus, aminoglikozidus, fluorochinolonus, linkozamidus, glikopeptidus ir oksazolidinonus. Buvo ištyti penki echinokandino / mikroorganizmų deriniai; vieno derinio atkuriamumas buvo mažesnis kaip 100 %. Be kraujo, *C. albicans* / kaspofungino atkuriamumas buvo 77,8 % pakoreguoto BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliuke. Su krauju *C. albicans* / kaspofungino atkuriamumas buvo 97 % pakoreguotame BACT/ALERT® PF Plus. Be to, buvo stebimas reikšmingas ceftarolino, cefoksitino ir cefazolino atitikimas neutralizuojant atskirus vaistus koreguotame ir ankstesniame BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliukuose. Pradžioje buvo stebėtas 66 % *S. aureus* / cefoksitino atkuriamumas, tačiau pakartotinio tyrimo rezultatai parodė 100 % atkuriamumą. *E. coli* / cefoksitinui buvo stebimas 100 % atkuriamumas. Cefazolinui buvo stebėta mažesnė nei visiška neutralizacija, kai jis buvo neutralizuojamas esant 50 % didžiausio serumo lygio (PSL) tiriant PBS. Ceftazidimas, cefepimas, cefotaksimas ir ceftriaksonas nebuvo vertinti koreguotame BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliuke, nes mažesnė nei visiška neutralizacija buvo pasiekta ankstesnėje formulėje.

Norėdami gauti daugiau informacijos apie BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliukų neutralizuojamas antimikrobines medžiagas, kreipkitės į vietos „bioMérieux“ atstovą.

VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS

BACT/ALERT® 3D mikroorganizmų aptikimo sistemos

Galimos trukdančios medžiagos

Vidiniai tyrimai atlikti naudojant plazmą, kraują ir kraujo krešulius. Į kiekvieną šių skysčių alikvotinę dalį pridėta baltųjų kraujo kūnelių, kad būtų gauta koncentracija, nustatoma kraujyje esant bakteremijai. Tyrimai atlikti su mikroorganizmais ir be jų. Šios medžiagos netrukdė išgauti ir aptikti organizmus ir nelėmė klaidingai teigiamų rezultatų, kai organizmų nėra.

Analitinis jautrumas: aptikimo riba (LoD)

Šioje lentelėje pateikiami vidinių pasėlių tyrimų rezultatų duomenys. Kiekviena rūšis tirta ne mažiau kaip 30 kartų. Ties LoD aptikimas buvo bent 95 %. Šioje lentelėje pateikti duomenys gauti naudojant besibaigiančio galiojimo termino buteliukus. Į *H. influenzae* inokuliuotus buteliukus pridėta 4 ml žmogaus kraujo.

1 lent.: Analitinis jautrumas: aptikimo riba (LoD)

Mikroorganizmas	Padermės ID	LoD (CFU buteliuke)
<i>Candida albicans</i>	ATCC® 14053™	6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC® 13048™	8
<i>Enterococcus faecalis</i>	NCTC 12697	5
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 12923	4
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC® 10211™	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	STL 104016	4
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC® 15313™	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NCTC 12924	4
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC® 14028™	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC 10788	5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC® 6305™	6

Pastaba. Pažymėjus teigiamais, 96,7 % buteliukų subkultivuoti per 30 minučių. STL 104016 gautas iš „bioMérieux“ vidinės kultūrų kolekcijos.

Analitinis jautrumas: augimas

Šioje lentelėje pateikti duomenys gauti atlikus vidaus tyrimus su krauju, surinktu iš sveikų savanorių žmonių, ir be jo. Buvo tirtos kelios padermės, kiekvienos rūšies tikslinis inokuliacijos lygis buvo 125 KSV buteliuke. Tikrieji inokuliacijos lygiai buvo 3–298 KSV buteliuke. Šiame pasėlių tyrime instrumentui pažymėjus BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliukus kaip teigiamus, jie subkultivuoti bent 24 valandas. Toliau išvardytos rūšys atspindi kliniškai dominuojančius mikroorganizmus kraujo kultūrose.

2 lent.: Analitinis jautrumas: augimas

Mikroorganizmas	Kraujas			
	Atkuriamumo % (n)	Diapazonas (KSV buteliuke)	Laikas iki aptikimo (valandos)	
			Vidurkis	Diapazonas
<i>Staphylococcus aureus</i>	100,0 (30/30)	54–150	13,3	12,2–15,2
<i>Escherichia coli</i>	100,0 (30/30)	71–254	11,2	10,3–11,7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100,0 (12/12)	74–148	15,7	13,7–17,8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100,0 (12/12)	89–123	11,3	10,6–12,3
<i>Candida albicans</i>	100,0 (30/30)	88–298	29,0	19,2–52,8
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100,0 (30/30)	3–260	13,8	10,8–16,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100,0 (12/12)	44–135	17,6	14,3–18,8
<i>Enterococcus faecalis</i>	100,0 (12/12)	63–259	11,6	11,0–12,2
<i>Enterococcus faecium</i>	100,0 (12/12)	25–120	12,8	11,3–14,4
<i>Enterobacter cloacae</i>	100,0 (12/12)	111–200	11,6	10,8–12,5
<i>Candida glabrata</i>	100,0 (12/12)	118–281	43,5	27,3–64,8
<i>Haemophilus influenzae</i>	100,0 (12/12)	105–266	14,4	12,0–16,8
<i>Proteus mirabilis</i>	100,0 (12/12)	36–213	12,5	11,3–14,6

Kai kurių rūšių išgavimas mažesnis nei 100 %, pavyzdžiui, *Capnocytophaga ochracea*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Granulicatella adiacens* ir *Helicobacter cinaedi*.

Pakoregavus formulę buvo atliktas tiesioginis palyginamasis tyrimas su pakoreguoto ir ankstesnio BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliukais, naudojant kliniškai reikšmingų mikroorganizmų grupę, tirtą su krauju ir be kraujo abiejose BACT/ALERT® 3D ir BACT/ALERT® VIRTUO® mikroorganizmų aptikimo sistemose. 39 mikroorganizmų, kurių augimas buvo vertintas koreguoto BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliuke, atkuriamumas atitiko ankstesnio BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliuko lygiavertiškumo kriterijus.

38 iš 39 mikroorganizmų, kurių augimas buvo vertintas koreguoto BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliuke su krauju, laikas iki aptikimo (TTD) atitiko ankstesnio BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliuko lygiavertiškumo kriterijus. TTD delsa buvo stebėta *Haemophilus parainfluenzae* pakoreguoto „BACT/ALERT® PF Plus“ pasėlio buteliukuose, nors pakoreguotas ir ankstesnis pasėlis turėjo mažesnę kaip 100 % aptikimą, kaip nurodyta 2 lentelėje. Esant 4 ml krauju, su *C. glabrata* buvo pasiektas greitesnis TTD, o vidutinis TTD pagerėjimas buvo 30 valandų.

Klinikinių tyrimų rezultatai (kraujo pasėliai)

Rezultatuose lyginami BACT/ALERT® PF Plus ir BACT/ALERT® PF kraujo pasėliai (visos atitinkančios poros).

Trijose skirtingose įstaigose JAV atliktas daugiacentris klinikinis tyrimas, kuriame lygintos BACT/ALERT® PF Plus ir BACT/ALERT® PF vaikų kraujo kultūrų pasėlio buteliukų, į kuriuos įpilta nuo 0,1 ml iki 4 ml krauju (atitinkančios poros), charakteristikos. Iš 1086 vaikų, kuriems įtariamos bakterinės ar mieliagrybių kraujo infekcijos, gautos 2188 buteliukų poros. Kai BACT/ALERT® sistema nustatydavo, kad nors vienas buteliukas yra teigiamas, abu buteliukai būdavo subkultivuojami. Buteliukai buvo laikomi teigiamais, kai arba BACT/ALERT® PF Plus, arba BACT/ALERT® PF pasėlių buteliukų subkultūros buvo teigiamos. Pasėlio buteliukas buvo laikomas „tikrai teigiamu“, jei BACT/ALERT® sistema nustatydavo teigiamą pasėlį, o šį buteliuką subkultivuojant augo izoliatai. Apskaičiuoti BACT/ALERT® PF Plus ir BACT/ALERT® PF pasėlio buteliukų tikrųjų teigiamų rezultatų dažniai, o charakteristikoms palyginti apskaičiuoti BACT/ALERT® PF Plus ir BACT/ALERT® PF pasėlio buteliukų tikrųjų teigiamų rezultatų santykiai. Klinikinio tyrimo centruose išgauti klinikiniai izoliatai klasifikuoti kaip reikšmingi, užkrečiami arba nežinomi.

Iš visų tinkamų teigiamų vaikų kraujo kultūrų porų išgauta 172 izoliatai. Iš 145 BACT/ALERT® PF Plus ir BACT/ALERT® PF pasėlio buteliukų porų subkultivuojant išgautas bent vienas izoliatas. Iš viso iš 126 buteliukų porų išgauta po vieną izoliatą, iš 12 buteliukų porų išgauta po du izoliatus, o iš šešių buteliukų porų išgauta po tris izoliatus, iš vienos buteliukų poros išgauta po keturis izoliatus. Bendrąją 3, 4 ir 5 lentelėse pateiktą populiaciją sudaro 172 izoliatai, išgauti iš teigiamų buteliukų porų, ir 2043 neigiamos buteliukų poros, iš viso 2215 rezultatų. BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 140 izoliatai, o BACT/ALERT® PF pasėlio buteliukuose – 128 izoliatai. Iš jų BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 91 reikšmingi izoliatai, o BACT/ALERT® PF pasėlio buteliukuose – 77 izoliatai. Subkultivuojant teigiamus BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliukus nustatytas vienas klaidingai teigiamas rezultatas, jis sudarė 0,05 % (1/2215) tyrimo populiacijos.

Toliau pateiktose lentelėse palyginami tinkamų BACT/ALERT® PF Plus ir BACT/ALERT® PF kraujo pasėlio buteliukų, kuriuos subkultivuojant gautas bet koks skaičius izoliatų (3 lentelė), vienas izoliatas (4 lentelė) ir keli izoliatai (5 lentelė), rezultatai.

3 lent.: Visos tinkamos poros, pavieniai ir keli izoliatai kartu (kraujo pasėliai)

Klinikinis izoliato apibrėžimas	BACT/ALERT® PF Plus tikrai teigiami rezultatai	BACT/ALERT® PF Plus % tikrai teigiamų rezultatų populiacijoje	BACT/ALERT® PF tikrai teigiami rezultatai	BACT/ALERT® PF % tikrai teigiamų rezultatų populiacijoje	Tikrai teigiamų rezultatų santykis*
Reikšmingas	91	4,1 (91/2215)	77	3,5 (77/2215)	1,182
Užkrečiamas	24	1,1 (24/2215)	29	1,3 (29/2215)	0,828
Nežinoma	25	1,1 (25/2215)	22	1,0 (22/2215)	1,136
Iš viso	140	6,3 (140/2215)	128	5,8 (128/2215)	1,094

* Tiek BACT/ALERT® PF Plus, tiek BACT/ALERT® PF aptikti devyniasdešimt šeši (96) izoliatai, 44 aptikti tik BACT/ALERT® PF Plus, o 32 – tik BACT/ALERT® PF. Tikrai teigiamų ir bendrųjų izoliatų santykis buvo 1,094 (140/128) esant 95 % PI (0,954, 1,234).⁷

4 lent.: Visos tinkamos poros su pavieniais izoliatais (kraujo pasėliai)

Klinikinis apibrėžimas	BACT/ALERT® PF Plus tikrai teigiami rezultatai	BACT/ALERT® PF tikrai teigiami rezultatai	Tikrai teigiamų rezultatų santykis*
Reikšmingas	69	61	1,131

Klinikinis apibrėžimas	BACT/ALERT® PF Plus tikrai teigiami rezultatai	BACT/ALERT® PF tikrai teigiami rezultatai	Tikrai teigiamų rezultatų santykis *
Užkrečiamas	17	17	1,000
Nežinoma	19	16	1,188
Iš viso	105	94	1,117

* Tiek BACT/ALERT® PF Plus, tiek BACT/ALERT® PF aptikti septyniasdešimt trys (73) izoliatai, 32 aptikti tik BACT/ALERT® PF Plus, o 21 – tik BACT/ALERT® PF. Tikrai teigiamų ir bendrųjų pavienių izoliatų santykis buvo 1,117 (105/94) esant 95 % PI (0,957, 1,277).⁷

5 lent.: Visos tinkamos poros su keliais izoliatais (kraujo pasėliai)

Klinikinis apibrėžimas	BACT/ALERT® PF Plus tikrai teigiami rezultatai	BACT/ALERT® PF tikrai teigiami rezultatai	Tikrai teigiamų rezultatų santykis *
Reikšmingas	22	16	1,375
Užkrečiamas	7	12	0,583
Nežinoma	6	6	1,000
Iš viso	35	34	1,029

* Tiek BACT/ALERT® PF Plus, tiek BACT/ALERT® PF aptikti dvidešimt keturi (23) izoliatai, 12 aptikta tik BACT/ALERT® PF Plus, o 11 – tik BACT/ALERT® PF. Tikrai teigiamų ir bendrųjų kelių izoliatų santykis buvo 1,029 (35/34) esant 95 % CI (0,748, 1,310).⁷

Šiame klinikiniam tyrime nustatyta 2041 BACT/ALERT® PF Plus ir BACT/ALERT® PF pasėlio buteliukų porų, kurias inkubavus 5 dienas instrumento rezultatai buvo neigiami. Iš šių porų trys galutinai subkultivuotos ir nenustatyta klaidingai neigiamų BACT/ALERT® PF Plus ir BACT/ALERT® PF pasėlio buteliukų rezultatų; subkultivuotos 2034 BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliukų poros ir nustatytas vienas klaidingai neigiamas rezultatas; keturios buteliukų poros nebuvo subkultivuotos. Rezultatai yra apibendrinti šioje lentelėje.

6 lent.: Klaidingai neigiamų rezultatų iš aerobinių kraujo pasėlio porų, kurios abiejų instrumentų buvo pažymėtos kaip neigiamos, procentinių reikšmių suvestinė

Subkultivuota BACT/ALERT® PF Plus	Subkultivuota BACT/ALERT® PF	BACT/ALERT® klaidingai neigiamų rezultatų % PF Plus	BACT/ALERT® PF klaidingai neigiamų rezultatų %
Taip	Taip	0,0 (0/3)	0,0 (0/3)
Taip	Ne	0,05 (1/2034)	–

Pagal galutines subkultūras bendrasis BACT/ALERT® PF Plus klaidingai neigiamų rezultatų dažnis buvo 0,05 % (1/2037).

Palyginamoji mikroorganizmų (izoliatų skaičius), išgautų iš BACT/ALERT® PF Plus ir BACT/ALERT® PF subkultūrų, išveiga pateikta šioje lentelėje.

7 lent.: Palyginamoji mikroorganizmų išėiga (izoliatų skaičius) – kraujo pasėliai

Mikroorganizmų grupė	Pediatrijos pogrupis	BACT/ALERT® PF Plus	BACT/ALERT® PF Plus užpildymo diapazonas (ml)	BACT/ALERT® PF	BACT/ALERT® PF užpildymo diapazonas (ml)
Enterobacteriaceae	Naujagimis (< 1 mėn.)	6	0,1–1,4	7	0,1–1,6
	Kūdikis (> 1 mėn.–2 m.)	19	0,1–3,7	13	0,1–3,1
	Vaikas (> 2–12 m.)	9	0,6–3,9	7	0,3–3,2
	Paauglys (> 12–21 m.)	0	1,4	1	1,6
Lepūs (<i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Neisseria sicca</i>)	Naujagimis (< 1 mėn.)	0	–	0	–
	Kūdikis (> 1 mėn.–2 m.)	1	0,2	1	0,5
	Vaikas (> 2–12 m.)	0	–	0	–
	Paauglys (> 12–21 m.)	1	1,1	1	0,6
Mieliagybiai (<i>Candida albicans</i> , <i>C. guilliermondii</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. lusitanae</i>)	Naujagimis (< 1 mėn.)	0	–	0	–
	Kūdikis (> 1 mėn.–2 m.)	0	0,5	1	0,9
	Vaikas (> 2–12 m.)	5	0,9–3,7	6	1,0–3,4
	Paauglys (> 12–21 m.)	1	0,2–3,0	2	2,1–2,5
Nefermentuojančios gramneigiamos Bacilli bakterijos	Naujagimis (< 1 mėn.)	0	–	0	–
	Kūdikis (> 1 mėn.–2 m.)	5	1,7–3,5	6	1,5–2,5
	Vaikas (> 2–12 m.)	2	0,9–2,2	3	1,0–2,8
	Paauglys (> 12–21 m.)	0	–	0	–
Neigiamos koaguliazės <i>Staphylococcus</i>	Naujagimis (< 1 mėn.)	5	0,1–0,5	5	0,1–0,9
	Kūdikis (> 1 mėn.–2 m.)	12	0,1–3,0	10	0,1–3,4
	Vaikas (> 2–12 m.)	15	0,1–3,8	12	0,5–3,6
	Paauglys (> 12–21 m.)	6	0,5–3,5	7	0,5–3,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	Naujagimis (< 1 mėn.)	0	0,3	1	0,1
	Kūdikis (> 1 mėn.–2 m.)	5	0,5–1,5	5	0,6–1,6
	Vaikas (> 2–12 m.)	7	0,8–4,0	3	0,1–3,6
	Paauglys (> 12–21 m.)	2	1,5–1,7	2	1,3–1,4

Mikroorganizmų grupė	Pediatrijos pogrupis	BACT/ALERT® PF Plus	BACT/ALERT® PF Plus užpildymo diapazonas (ml)	BACT/ALERT® PF	BACT/ALERT® PF užpildymo diapazonas (ml)
<i>Enterococcus</i> spp.	Naujagimis (< 1 mėn.)	1	0,1	1	0,1
	Kūdikis (> 1 mėn.–2 m.)	9	0,2–2,9	10	0,1–3,2
	Vaikas (> 2–12 m.)	2	0,2–1,0	1	0,8–1,8
	Paauglys (> 12–21 m.)	8	1,5–3,1	7	1,9–2,9
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Naujagimis (< 1 mėn.)	0	–	0	–
	Kūdikis (> 1 mėn.–2 m.)	2	1,0–2,7	1	1,1–1,6
	Vaikas (> 2–12 m.)	0	–	0	–
	Paauglys (> 12–21 m.)	0	–	0	–
<i>Streptococcus</i> spp., A ir B grupės	Naujagimis (< 1 mėn.)	0	–	0	–
	Kūdikis (> 1 mėn.–2 m.)	1	0,5	0	1,0
	Vaikas (> 2–12 m.)	0	–	0	–
	Paauglys (> 12–21 m.)	0	–	0	–
Kitos <i>Streptococcus</i> spp.	Naujagimis (< 1 mėn.)	0	–	0	–
	Kūdikis (> 1 mėn.–2 m.)	4	0,1–1,6	5	0,1–1,5
	Vaikas (> 2–12 m.)	3	0,7–2,3	2	0,6–2,6
	Paauglys (> 12–21 m.)	1	0,7–2,4	2	1,1–2,4
Kiti gramneigiami*	Naujagimis (< 1 mėn.)	0	–	0	–
	Kūdikis (> 1 mėn.–2 m.)	1	0,6	0	0,4
	Vaikas (> 2–12 m.)	0	–	0	–
	Paauglys (> 12–21 m.)	0	–	0	–
Kiti gramteigiami†	Naujagimis (< 1 mėn.)	1	0,1–0,7	2	0,1–0,4
	Kūdikis (> 1 mėn.–2 m.)	3	0,5–3,0	2	0,9–2,3
	Vaikas (> 2–12 m.)	3	0,1–3,4	1	0,1–3,2
	Paauglys (> 12–21 m.)	0	3,3	1	3,2

* Kiti šiame klinikiniame tyrime išgauti gramneigiami mikroorganizmai: neatpažintos gramneigiamos lazdelės (1)

† Kiti šiame klinikiniame tyrime išgauti gramteigiami mikroorganizmai: *Bacillus* spp. (6), *Corynebacterium* spp. (2), Diphtheroids (1), *Micrococcus* spp. (2), *Stomatococcus* spp. (1).

Atliekant klinikinius tyrimus mikroorganizmai išgauti turint daugiau nei 0,1 ml kraujo. Tie mikroorganizmai yra:

- ≥ 1,0 ml, *Streptococcus pneumoniae*

- ≥ 0,9 ml, nefermentuojančios gramneigiamos lazdelės; ≥ 0,6, neatpažintos gramneigiamos lazdelės
- ≥ 0,5 ml, A ir B grupių *Streptococcus* spp.
- ≥ 0,3 ml, *S. aureus*
- ≥ 0,2 ml, lepūs mikroorganizmai (*N. meningitidis* ir *N. sicca*)
- ≥ 0,2 ml, mieliagrybiai (*Candida albicans*, *C. guilliermondii*, *C. krusei* ir *C. lusitanae*)

Atliekant klinikinį tyrimą kokybė kontroliuota su kiekvienu iš 13 organizmų (*Candida albicans*, *Candida krusei*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Streptococcus pyogenes*), paruoštų nuosekliai skiedžiant ir sėjant į BACT/ALERT® PF Plus pasėlių buteliukus esant 100 KSV buteliuke tikslinei inokuliacijai, kai priimtinas diapazonas buvo 30–300 KSV buteliuke. Gauti priimtini kokybės kontrolės rezultatai. Nepriimtini kokybės kontrolės rezultatai gauti dėl techninių klaidų (t. y. į diapazoną nepatenkantis kolonijų skaičius, įstaigai nepakeitus buteliuko būsenos instrumentui nustačius, kad subkultūra teigiama, nenaudotos iš anksto redukuotos terpės ar reagentai arba ne pridėta priedo). Tiriant pakartotinai gauti priimtini rezultatai.

Atidėtas įkėlimas

Šioje lentelėje pateikti 11 rūšių pasėlių tyrimai (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Haemophilus influenzae* ir *Neisseria meningitidis*), atlikti trijose įstaigose, tikslinės koncentracijos buvo 100 KSV buteliuke (priimtinas diapazonas 30–300 KSV buteliuke). Tikrasis inokuliacijos lygis buvo 35–290 KSV buteliuke, bet pasitaikė atvejais, kai kolonijų buvo > 300 KSV buteliuke; jis į galutinę duomenų analizę neįtrauktas. Buteliukai buvo tiriami su žmogaus krauju, paimtu iš sveikų savanorių. Prieš įkeliant į BACT/ALERT® 3D instrumentą, buteliukai nurodytą laiką buvo laikomi nurodytoje temperatūroje. Procentinė išgavimo reikšmė nurodo, kiek buteliukų instrumento pažymėti kaip teigiami, ir subkultūrą su kolonijų morfologija, sutampanti su pasėtu mikroorganizmu.

8 lent.: Atidėtas įkėlimas

Mėginio įdėjimas	Inkubacijos temperatūra (°C)	Laikymo trukmė (valandos)	Atkuriamumas, %	Laikas iki aptikimo nuo mėginio inokuliacijos (laikymo laikas + instrumento TTD valandomis)		Inokuliacijos diapazonas (KSV buteliuke)
				Vidurkis	Diapazonas	
Inokuliuoti tyrimo buteliukai	Kontrolė	Be atidėjimo	100,0 (459/459)	14,3	8,5–84,0	35–288
	2–8	48	98,6 (292/296)	63,7	57,5–103,2	48–288
	20–25	24	98,0 (291/297)	31,8	26,2–74,4	50–288
	20–25	36	91,9 (272/296)	41,8	38,0–70,5	50–290
	35–37	8	98,9 (454/459)	16,1	10,2–53,8	35–288
	35–37	24	56,6 (259/458)	28,3	26,0–74,4	35–288
Neigiamos kontrolės	Visos sąlygos		0,5 (1/221)*	–	–	–

* Tiriant pasėlius nustatytas vienas klaidingai teigiamas rezultatas. Neigiamas rezultatas patvirtintas dažant Gramo metodu ir subkultivuojant.

SVARBI INFORMACIJA. Pasėlio buteliukuose, 35–37 °C temperatūroje laikytuose 24 valandas ar ilgiau, gali nebūti aptikta mikroorganizmų, todėl juos reikėtų subkultivuoti.

Laboratorijos tikslumas (pakartojamumas)

Šioje lentelėje pateikti vidinių pasėlių tyrimų, atliktų per 12 dienų, skirtingiems operatoriams naudojant skirtingus instrumentus, rezultatai. Mikroorganizmai buvo auginami esant klinikinio požiūriu svarbioms antimikrobinėms medžiagoms, kuriems jie jautrūs, koncentracijoms. Šiame pasėlių tyrime instrumentui pažymėjus BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliukus teigiamais, jie subkultivuoti bent 24 valandas. Iširta mažiausiai 108 kiekvieno organizmo / antimikrobinės medžiagos kombinacijos replikų.

9 lent.: Laboratorijos tikslumas (pakartojamumas)

Mėginio įdėjimas		Diapazonas (KSV buteliuke)	Atkuriamumas, %				Laikas iki aptikimo (valandos)	
Mikroorganizmas	Antimikrobinė medžiaga		1 partija	2 partija	3 partija	Iš viso	Vidurkis	Diapazonas
<i>C. albicans</i>	Flukonazolis	140–364	100,0	100,0	100,0	100,0	26,0	22,8–31,3
<i>E. coli</i>	Amikacinas	26–156	100,0	100,0	100,0	100,0	12,0	11,2–13,0
<i>K. pneumoniae</i>	Levofloksacinai	108–170	100,0	100,0	100,0	100,0	13,4	11,7–15,2
<i>P. aeruginosa</i>	Piperacilinas	80–148	100,0	97,2	100,0	99,1	19,2	17,4–24,1
<i>S. pneumoniae</i>	Penicilinas G	9–505	100,0	100,0	100,0	100,0	13,2	11,6–15,5
<i>S. aureus</i>	Vankomicinas	94–158	100,0	100,0	100,0	100,0	16,9	14,6–20,3

Atkartojamumas

Šioje lentelėje pateikti pasėlių tyrimų, atliktų trijose įstaigose, duomenys; kiekvienoje jų per 3 dienas bent du operatoriai pakartojo tyrimus 162 kartus. Vertintas kiekvieno iš devynių organizmų atkuriamumas. Du mikroorganizmai (*C. albicans* ir *S. pneumoniae*) paruošti nuosekliai skiedžiant, kiti septyni – naudojant BIOBALL® produktus. *C. albicans* ir *S. pneumoniae* pasėti į BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliuką tiksliai 100 KSV inokuliacija, priimtinas diapazonas 30–300 KSV buteliuke, o kiti septyni mikroorganizmai – 1–17 KSV buteliuke tiksliniu diapazonu. Tikroji 30–300 KSV buteliuke diapazono inokuliacija buvo 6–700 KSV buteliuke, o 1–17 KSV buteliuke diapazono – 1–270 KSV buteliuke. Procentinė išgavimo išraiška rodo teigiamą instrumento rezultatą ir dažymo Gramo metodu bei subkultivavimo rezultatą, sutampantį su pasėtu organizmu.

10 lent.: Atkartojamumas

Mėginio įdėjimas	Atkuriamumas, %				Laikas iki aptikimo (valandos)		Inokuliacijos diapazonai (KSV buteliuke)
	1 vieta	2 vieta	3 vieta	Iš viso	Vidurkis	Diapazonas	
<i>S. aureus</i>	100,0 % (18/18)	87,5 % (21/24)	100,0 % (30/30)	95,8 % (69/72)	15,6	14,6–16,7	2–11
<i>C. albicans</i>	100,0 % (18/18)	83,3 % (30/36)	100,0 % (33/33)	93,1 % (81/87)	36,6	24,6–76,8	14–700
<i>E. coli</i>	100,0 % (27/27)	77,8 % (21/27)	100,0 % (30/30)	92,9 % (78/84)	12,8	11,8–14,1	1–38
<i>P. aeruginosa</i>	100,0 % (24/24)	75,0 % (18/24)	97,0 % (32/33)	91,4 % (74/81)	18,4	17,1–21,1	1–11
<i>E. faecalis</i>	100,0 % (18/18)	79,2 % (19/24)	96,7 % (29/30)	91,7 % (66/72)	13,9	12,6–15,3	1–15
<i>E. aerogenes</i>	74,4 % (29/39)	72,2 % (26/36)	85,4 % (41/48)	78,1 % (96/123)	14,9	11,7–20,8	< 1–270*
<i>L. monocytogenes</i>	100,0 % (18/18)	100,0 % (24/24)	100,0 % (30/30)	100,0 % (72/72)	24,1	20,4–36,4	1–14
<i>S. enterica</i>	100,0 % (24/24)	75,0 % (18/24)	100,0 % (33/33)	92,6 % (75/81)	13,5	2,3–14,8	1–13
<i>S. pneumoniae</i>	100,0 % (30/30)	100,0 % (36/36)	100,0 % (21/21)	100,0 % (87/87)	14,2	11,6–18,9	6–500
Iš viso	95,4 % (206/216)	83,5 % (213/255)	96,9 % (279/288)	92,0 % (698/759)	–		
	95 % PI: 91,7 %, 97,8 %	95 % PI: 78,4 %, 87,9 %	95 % PI: 94,2 %, 98,6 %	95 % PI: 89,8 %, 93,8 %			

* 270 KSV buteliuke skaičius gautas nuosekliai skiedžiant.

Į šiuos duomenis įtraukti pakartotiniai vienos įstaigos tyrimai, atlikti dėl laboratorijos klaidų (t. y., užterštos subkultūros). Atmetus laboratorijos klaidas, atkuriamumas buvo 100 %, išskyrus *E. aerogenes*, kurio bendrasis atkuriamumas visuose centruose buvo 85 %.

BACT/ALERT® VIRTUO® mikroorganizmų aptikimo sistemos

Galimos trukdančios medžiagos

Vidiniai tyrimai atlikti naudojant plazmą, kraują ir kraujo krešulius. Į kiekvieną šių skysčių alikvotinę dalį pridėta baltųjų kraujo kūnelių, kad būtų gauta koncentracija, nustatoma kraujyje esant bakteremijai. Tyrimai atlikti su mikroorganizmais ir be jų. Šios medžiagos netrukdė išgauti ir aptikti organizmus ir nelėmė klaidingai teigiamų rezultatų, kai organizmų nėra.

Analitinis jautrumas: aptikimo riba (LoD)

Šioje lentelėje pateikiami vidinių pasėlių tyrimų rezultatų duomenys. Mažiausiai 60 BACT/ALERT® PF Plus pasėlio buteliuku buvo iširta pagal rūšis. Ties LoD aptikimas buvo bent 95 %. Į butelius, inokuliuotus *H. influenzae*, įpilta 1 ml žmogaus kraujo, gauto iš sveikų suaugusiųjų populiacijos.

11 lent.: Analitinis jautrumas: aptikimo riba (LoD)

Mikroorganizmas	Padermės ID	BACT/ALERT® VIRTUO® (KSV buteliuke)
<i>Candida albicans</i>	ATCC® 14053™	7
<i>Enterococcus faecalis</i>	NCTC 12697	4
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 12923	4
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC® 10211™	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 9027™	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC 10788	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC® 6305™	3

Atidėtas įkėlimas

Šioje lentelėje pateikti 9 rūšių pasėlių tyrimų rezultatai (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* ir *Enterococcus faecium*), tikslinės koncentracijos buvo ≤ 100 KSV buteliuke. Tikrieji inokuliuoto lygiai buvo 5–84 KSV buteliuke. Buteliukai buvo tiriami be kraujo ir su 4 ml bei 10 ml žmogaus kraujo, paimto iš sveikų savanorių. Prieš įkeliant į BACT/ALERT® VIRTUO® instrumentą, buteliukai nurodytą laiką buvo laikomi nurodytoje temperatūroje. Procentinė išgavimo reikšmė nurodo, kiek buteliukų instrumento pažymėti kaip teigiami, ir subkultūrą su kolonijų morfologija, sutampančia su pasėtu mikroorganizmu. Neigiamos kontrolės buvo tiriamos naudojant 10 ml žmogaus kraujo, kaip griežtesnis tyrimas, siekiant įvertinti klaidingai teigiamų rezultatų riziką.

12 lent.: Atidėtas įkėlimas

Mėginio įdėjimas	Inkubacijos temperatūra (°C)	Laikymo trukmė (valandos)	Atkuriamumas, %	Laikas iki aptikimo nuo mėginio inokuliuavimo (laikymo laikas + instrumento TTD valandomis)	
				Vidurkis	Diapazonas
Inokuliuoti tyrimo buteliukai	Kontrolė	Be atidėjimo	100,0 (259/259)	14,0	8,5–30,0
	35–37	8	100,0 (261/261)	16,5	10,9–31,1
	20–25	24	100,0 (261/261)	32,1	27,6–46,6
	20–25	36	99,6 (260/261)	42,0	37,7–65,1
	2–8	48	96,5 (247/256)*	61,3	57,2–77,9
Neigiamos kontrolės	Visos sąlygos		0,0 (0/64)†	–	–

* 8/9 neigiami buteliukai nustatyti tiriant *N. meningitidis*.

† Neigiamos kontrolės tirtos su 10 ml žmogaus kraujo.

PERSPĖJIMAS. Prieš įkeliant į instrumentą, kambario temperatūroje ilgiau kaip 24 valandas laikomi pasėlio buteliukai gali neaptikti mikroorganizmų, todėl juos reikia subkultivuoti.

Laboratorijos tikslumas (pakartojamumas)

Šioje lentelėje pateikti vidinių pasėlių tyrimų, vykdytų 20 dienų, skirtingiems operatoriams naudojant skirtingus instrumentus, rezultatai. Kiekvienas mikroorganizmas ir tirama partija iširta mažiausiai 60 kartų.

13 lent.: Laboratorijos tikslumas (pakartojamumas)

Mikroorganizmas	Diapazonas (KSV buteliuke)	Atkuriamumas, %				Laikas iki aptikimo (valandos)	
		1 partija	2 partija	3 partija	Iš viso	Vidurkis	Diapazonas
<i>Candida albicans</i>	3–30	100,0 (141/141)	100,0 (144/144)	100,0 (60/60)	100,0 (345/345)	27,1	21,4–40,0
<i>Enterococcus faecalis</i>	3–16	100,0 (162/162)	100,0 (162/162)	100,0 (60/60)	100,0 (384/384)	10,9	9,6–12,4
<i>Escherichia coli</i>	8–20	100,0 (153/153)	100,0 (153/153)	100,0 (60/60)	100,0 (366/366)	9,6	8,7–10,8
<i>Haemophilus influenzae</i> *	1–24	100,0 (162/162)	100,0 (162/162)	100,0 (60/60)	100,0 (384/384)	13,6	11,0–21,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5–17	100,0 (162/162)	100,0 (162/162)	100,0 (60/60)	100,0 (384/384)	14,7	12,8–17,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	5–16	100,0 (171/171)	100,0 (171/171)	100,0 (60/60)	100,0 (402/402)	12,7	11,5–15,0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1–29	100,0 (162/162)	100,0 (162/162)	100,0 (60/60)	100,0 (384/384)	12,0	9,6–15,6

* Iširta su 4 ml kraujo.

BACT/ALERT® 3D ir BACT/ALERT® VIRTUO® sistemų lyginamieji duomenys

Analitinis jautrumas: augimas

Lentelėje pateikti duomenys yra gauti tyrimų centre atlikus pasėlių tyrimus su krauju (4 ml), paimtu iš sveikų žmonių donorų. Iširta viena padermė, kiekvienos rūšies tikslinis inokuliacijos lygis buvo ≤ 30 KSV buteliuke. Tikrieji inokuliacijos lygiai buvo nuo 7–30 KSV buteliuke tiek naudojant BACT/ALERT® 3D, tiek BACT/ALERT® VIRTUO®. Subkultivuoti du teigiami buteliukai mikroorganizmui, siekiant įvertinti grynumą. Toliau išvardytos rūšys atspindi kliniškai dominuojančius mikroorganizmus kraujo kultūrose.

14 lent.: Analitinis jautrumas: augimas

Mikroorganizmas	BACT/ALERT® PF Plus BACT/ALERT® VIRTUO® – 4 ml kraujo				BACT/ALERT® PF Plus BACT/ALERT® 3D – 4 ml kraujo			
	Atkuriamumo % (n)	Vidutiniškai KSV buteliuke	Iki aptikimo likęs laikas		Atkuriamumo % (n)	Vidutiniškai KSV buteliuke	Iki aptikimo likęs laikas	
			Vidurkis	Diapazonas			Vidurkis	Diapazonas
<i>Abiotrophia defectiva</i>	100,0 (9/9)	23	14,8	14,2–16,1	100,0 (4/4)	15	23,1	19,0–28,6
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	100,0 (9/9)	21	29,8	27,2–32,2	100,0 (9/9)	21	32,6	28,1–34,8
<i>Campylobacter jejuni</i>	100,0 (9/9)	7	38,2	34,2–41,5	100,0 (9/9)	7	40,6	37,7–43,2
<i>Candida albicans</i>	100,0 (9/9)	11	26,9	23,4–29,8	100,0 (9/9)	11	28,3	26,6–31,0

Mikroorganizmas	BACT/ALERT® PF Plus BACT/ALERT® VIRTUO® – 4 ml kraujo				BACT/ALERT® PF Plus BACT/ALERT® 3D – 4 ml kraujo			
	Atkuriamumo % (n)	Vidutiniškai KSV buteliuke	Iki aptikimo likęs laikas		Atkuriamumo % (n)	Vidutiniškai KSV buteliuke	Iki aptikimo likęs laikas	
			Vidurkis	Diapazonas			Vidurkis	Diapazonas
<i>Candida glabrata</i>	100,0 (9/9)	7	41,7	38,4–44,5	100,0 (9/9)	7	49,4	45,6–55,9
<i>Candida krusei</i>	100,0 (9/9)	20	16,8	16,1–17,8	100,0 (9/9)	20	19,1	18,7–19,7
<i>Cardiobacterium hominis</i>	100,0 (9/9)	12	41,6	39,7–44,5	100,0 (9/9)	12	52,9	50,9–55,0
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	100,0 (9/9)	8	39,5	29,9–50,7	100,0 (9/9)	8	84,4	52,1–112,8
<i>Cryptococcus neoformans</i>	100,0 (7/7)	30	56,6	49,5–65,8	100,0 (9/9)	30	57,8	56,4–59,0
<i>Eikenella corrodens</i>	100,0 (9/9)	24	21,2	20,1–22,5	100,0 (9/9)	24	24,7	24,0–25,4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	100,0 (9/9)	10	10,7	10,3–11,1	100,0 (9/9)	10	12,4	12,0–12,7
<i>Enterococcus faecalis</i>	100,0 (9/9)	11	10,1	9,4–10,8	100,0 (9/9)	11	12,2	12,0–12,7
<i>Escherichia coli</i>	100,0 (9/9)	9	9,0	8,6–9,6	100,0 (9/9)	9	10,9	9,1–11,3
<i>Haemophilus influenzae</i>	100,0 (9/9)	18	14,8	13,5–16,3	100,0 (9/9)	18	17,8	17,0–18,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100,0 (9/9)	9	9,3	8,8–9,9	100,0 (9/9)	9	11,8	11,8–12,0
<i>Listeria monocytogenes</i>	100,0 (9/9)	19	18,9	18,2–20,0	100,0 (9/9)	19	20,5	20,2–20,9
<i>Micrococcus luteus</i>	100,0 (9/9)	24	31,2	30,0–32,4	100,0 (9/9)	24	33,2	32,4–33,8
<i>Neisseria meningitidis</i>	100,0 (9/9)	8	22,2	21,1–23,8	100,0 (9/9)	8	23,8	22,1–25,0
<i>Proteus vulgaris</i>	100,0 (9/9)	22	11,4	11,0–12,1	100,0 (9/9)	22	13,4	13,2–13,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100,0 (9/9)	12	14,1	13,8–14,6	100,0 (9/9)	12	16,8	16,6–17,0
<i>Salmonella enterica</i>	100,0 (9/9)	9	11,0	10,6–11,4	100,0 (9/9)	9	13,1	12,5–13,9
<i>Serratia marcescens</i>	100,0 (9/9)	10	11,2	10,7–12,2	100,0 (9/9)	10	13,0	12,5–13,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	100,0 (9/9)	14	10,4	10,1–10,8	100,0 (9/9)	15	13,3	12,7–13,9
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100,0 (9/9)	11	14,6	14,1–15,8	100,0 (9/9)	11	17,2	16,6–17,8
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	100,0 (7/7)	22	65,1	24,8–83,9	100,0 (9/9)	22	33,5	31,4–37,0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	100,0 (9/9)	13	11,0	10,5–12,2	100,0 (9/9)	13	14,3	13,9–14,6
<i>Streptococcus mitis</i>	100,0 (9/9)	17	8,8	8,6–9,0	100,0 (9/9)	17	11,9	11,5–12,0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100,0 (9/9)	22	11,2	10,6–12,1	100,0 (9/9)	22	13,8	13,4–14,2
<i>Streptococcus pyogenes</i>	100,0 (9/9)	16	10,4	9,8–10,9	100,0 (9/9)	16	12,7	12,5–13,0

Klinikinių tyrimų rezultatai (kraujo pasėliai)

Pagal rezultatus lyginami BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D su BACT/ALERT® PF Plus buteliukais naudojant kraujo pasėlius (visoms atitinkančioms poroms).

Daugiacentris klinikinis tyrimas buvo vykdomas trijose skirtingose JAV geografinėse vietovėse, lygintas BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D aerobinių kultūrų porų augimas, kai kiekvienas buteliukas buvo pripildytas 4 ml kraujo ir, [1] jei bendras paimto kraujo kiekis buvo > 5 ml, buteliuko kraujo tūris, kuriame tūris buvo mažiausias, sudarė 20 % to buteliuko tūrio, kuriame tūris buvo didžiausias, arba 2) jei bendras paimto kraujo tūris buvo ≤ 5 ml, buteliukas su mažiausiu kraujo tūriu sudarė 50 % to, kuriame tūris buvo didžiausias] (atitinkančios poros). Iš 62 vaikų, kuriems įtariamos bakterinės ar mieliagybių kraujo infekcijos, gautos 161 buteliukų poros. Kai BACT/ALERT® VIRTUO® sistema arba BACT/ALERT® 3D sistema nustatydavo, kad nors vienas poros buteliukas yra teigiamas, abu buteliukai būdavo subkultivuojami. Buteliukai buvo laikomi teigiamais, kai arba BACT/ALERT® VIRTUO®, arba BACT/ALERT® 3D PF Plus pasėlio buteliukų subkultūros buvo teigiamos. Pasėlio buteliukas buvo laikomas „tikrai teigiamu“, jei BACT/ALERT® VIRTUO® sistema arba BACT/ALERT® 3D sistema pažymėdavo pasėlį kaip teigiamą ir subkultivuojant šį buteliuką augdavo izoliatas. Apskaičiuoti BACT/ALERT® VIRTUO® PF Plus ir BACT/ALERT® 3D PF Plus pasėlio buteliukų tikrai teigiamų rezultatų dažniai, o charakteristikoms palyginti apskaičiuoti BACT/ALERT® VIRTUO® PF Plus ir BACT/ALERT® 3D PF Plus tikrai teigiamų rezultatų santykiai. Klinikinio tyrimo centruose išgauti klinikiniai izoliatai klasifikuoti kaip reikšmingi, užkrečiami arba nežinomi.

Iš visų tinkamų teigiamų aerobinių kraujo pasėlių porų išgauti 2 izoliatai. Iš viso buvo 2 buteliukų poros, kuriose subkultivuoiant BACT/ALERT® VIRTUO® ar BACT/ALERT® 3D PF Plus pasėlio buteliukus išgautas vienas izoliatas. Bendrąją toliau lentelėje pateiktą populiaciją sudaro 2 izoliatų, išgautų iš teigiamų buteliukų porų, ir 159 neigiamų buteliukų porų, iš viso 161 rezultatai. BACT/ALERT® VIRTUO® PF Plus pasėlio buteliukuose iš viso aptiktas 1 izoliatas, o BACT/ALERT® 3D PF Plus pasėlio buteliukuose – 1 izoliatas. BACT/ALERT® VIRTUO® PF Plus pasėlio buteliukuose iš viso aptiktas 1 reikšmingas izoliatas, o BACT/ALERT® 3D PF Plus pasėlio buteliukuose – 1 izoliatas. Vienas klaidingai teigiamas rezultatas buvo nustatytas subkultivuoiant teigiamus BACT/ALERT® VIRTUO® PF Plus pasėlio buteliukus, tai sudarė 0,62 % tyrimo populiacijos (1/161). Tyrimo populiacijoje nenustatyta jokių klaidingai teigiamų rezultatų subkultivuoiant teigiamus BACT/ALERT® 3D PF Plus pasėlio buteliukus (0/161).

Toliau pateiktoje lentelėje lyginami rezultatai naudojant BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D kraujo pasėlius visiems atitinkantiems BACT/ALERT® PF Plus kraujo pasėlio buteliukams, kurių išėiga subkultivuoiant buvo pavienis izoliatas (15 lentelė). Nėra tinkamų aerobinių kraujo pasėlių porų, kurių būseną būtų teigiama, o išėiga subkultivuoiant – keli izoliatai.

15 lent.: Tinkami – pavieniai izoliatai

Klinikinis apibrėžimas	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	Tikrai teigiamų rezultatų santykis*	95 % PI (LCL, UCL)
Reikšmingas	1	0,6 (1/161)	1	0,6 (1/161)	1,000	-1,772, 3,772*
Užkrečiamas	0	0,0 (0/161)	0	0,0 (0/161)	–	–
Nežinoma	0	0,0 (0/161)	0	0,0 (0/161)	–	–
Iš viso	1	0,6 (1/161)	1	0,6 (1/161)	1,000	-1,772, 3,772*

* Kadangi pasiklovimo intervalas yra neigiama reikšmė, o santykis negali būti neigiamas, intervalo negalima reikšmingai interpretuoti.

Palyginamoji mikroorganizmų, išgautų iš BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D, išėiga (izoliatų skaičius) subkultivuoiant „BACT/ALERT® PF Plus FA Plus“ pasėlio buteliukus, pateikta šioje lentelėje.

16 lent.: Palyginamoji mikroorganizmų išėiga (izoliatų skaičius) – kraujo pasėliai

Grupė	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
Enterobacteriaceae	1	0
<i>Enterococcus</i> spp.	–	–
Mieliagybiai	–	–
Nefermentuojančios gramneigiamos Bacilli bakterijos	–	–
Kiti gramteigiami	–	–
Neigiamos koaguliazės <i>Staphylococcus</i>	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	1
<i>Streptococcus</i> spp.	–	–
Kita	–	–

Klinikiniame tyrime nustatytos 196 BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D pasėlio buteliukų poros, kurių abu buteliukus inkubavus 5 dienas instrumento rezultatai buvo neigiami. Iš šių porų 50 subkultivuotos ir nenustatyta jokių klaidingai neigiamų rezultatų nei BACT/ALERT® VIRTUO®, nei BACT/ALERT® 3D; subkultivuoiant 1 porą vien tik BACT/ALERT® 3D buteliukuose, nenustatyta jokių klaidingai neigiamų rezultatų; 145 buteliukų poros nebuvo subkultivuotos. Pasėlio buteliukas nustatytas kaip klaidingai neigiamas, jei buteliuko rezultatas buvo neigiamas instrumente, o subkultivuoiant buteliuką pastebėtas augimas.

17 lent.: Klaidingai neigiamų rezultatų iš aerobinių kraujo pasėlių porų, kurios abiejų instrumentų buvo pažymėtos kaip neigiamos, procentinių reikšmių suvestinė

Subkultivuota BACT/ALERT® VIRTUO®	Subkultivuota BACT/ALERT® 3D	Klaidingai neigiami rezultatai BACT/ALERT® VIRTUO®, %	Klaidingai neigiami rezultatai BACT/ALERT® 3D, %
Taip	Taip	0,0 (0/50)	0,0 (0/50)
Ne	Taip	–	0,0 (0/1)

Klinikinių tyrimų rezultatai (kraujo pasėliai) – mažai pripildyti BACT/ALERT® FA Plus pasėlio buteliukai

Pagal rezultatus lyginami BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D naudojant mažai pripildytus BACT/ALERT® FA Plus butelius su kraujo pasėliais (visos atitinkančios poros).

Dėl per klinikinį tyrimą nustatytų teigiamų BACT/ALERT® PF Plus butelių mažo skaičiaus, mažo pripildymo tūrio BACT/ALERT® FA Plus buteliukai buvo vertinami kaip BACT/ALERT® PF Plus pakaitalas, nes pagal terpės sudėtį jie yra vienodi. Atkreipkite dėmesį, kad BACT/ALERT® PF Plus ir BACT/ALERT® FA Plus butelių etiketėse pateikiami rekomenduojami kraujo tūriai kiekvienam buteliuko tipui ir skiriasi jų atitinkamas naudojimas klinikinėje aplinkoje. Daugiacentris klinikinis tyrimas buvo vykdomas trijose skirtingose geografinėse JAV ir Kanados vietovėse, lygintas BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D aerobinių kultūrų porų augimas, kai kiekvienas buteliukas buvo pripildytas iki 4 ml kraujo ir buteliuko su mažiausiu tūriu kraujo tūris buvo 30 % buteliuko tūrio, kurio tūris didžiausias (atitinkančios poros). Iš 292 suaugusių pacientų, kuriems įtariamos bakterinės ar mieliagybių kraujo infekcijos, gautos 379 butelių poros. Kai BACT/ALERT® VIRTUO® sistema arba BACT/ALERT® 3D sistema nustatydavo, kad nors vienas poros buteliukas yra teigiamas, abu buteliukai būdavo subkultivuojami. Buteliukai buvo laikomi teigiamais, kai arba BACT/ALERT® VIRTUO®, arba BACT/ALERT® 3D PF Plus pasėlio buteliukų subkultūros buvo teigiamos. Pasėlio buteliukas buvo laikomas „tikrai teigiamu“, jei BACT/ALERT® VIRTUO® sistema arba BACT/ALERT® 3D sistema pažymėdavo pasėlį kaip teigiamą ir subkultivuoiant šį buteliuką augdavo izoliatas. Apskaičiuoti „BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus“ ir „BACT/ALERT® 3D FA Plus“ pasėlio buteliukų tikrai teigiamų rezultatų dažniai, o charakteristikoms palyginti apskaičiuoti „BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus“ ir „BACT/ALERT® 3D FA Plus“ pasėlio buteliukų tikrai teigiamų rezultatų santykiai. Klinikinio tyrimo centruose išgauti klinikiniai izoliatai klasifikuoti kaip reikšmingi, užkrečiami arba nežinomi.

Iš visų tinkamų teigiamų aerobinių kraujo pasėlių porų išgauta 40 izoliatų. Iš viso buvo 40 butelių porų, iš kurių išgauta po vieną izoliatą subkultivuoiant BACT/ALERT® VIRTUO® arba BACT/ALERT® 3D FA Plus pasėlio butelius. Bendrąją 18 lentelėje pateiktą populiaciją sudaro 40 izoliatų, atkurtų iš teigiamų butelių porų, ir 339 neigiamų butelių porų, iš viso 379 rezultatai. „BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus“ pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 33 izoliatai, palyginti su „BACT/ALERT® 3D FA Plus“ pasėlio buteliukais, kur aptikti 32 izoliatai. BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus pasėlio buteliukuose iš viso aptikti 28 reikšmingi izoliatai, o BACT/ALERT® 3D FA Plus pasėlio buteliukuose – 29 izoliatai. Tyrimo populiacijoje nenustatyta jokių klaidingai teigiamų rezultatų subkultivuoiant teigiamus „BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus“ pasėlio butelius (0/379). Tyrimo populiacijoje nenustatyta jokių klaidingai teigiamų rezultatų subkultivuoiant teigiamus „BACT/ALERT® 3D FA Plus“ pasėlio butelius (0/379).

Toliau pateiktoje lentelėje lyginami rezultatai naudojant BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D kraujo pasėlius visiems atitinkantiems mažai pripildytiems „BACT/ALERT® FA Plus“ kraujo pasėlio buteliukams, kuriuos subkultivuoiant gautas pavienis izoliatas (18 lentelė). Nėra tinkamų aerobinių kraujo pasėlių porų, kurių būsena būtų teigiama, o išėiga subkultivuoiant – keli izoliatai.

18 lent.: Mažai pripildyti „BACT/ALERT® FA Plus“ – su krauju – atitinkantys – pavieniai izoliatai

Klinikinis apibrėžimas	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami	BACT/ALERT® VIRTUO® tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami	BACT/ALERT® 3D tikrai teigiami rezultatai populiacijoje, %	Tikrai teigiamų rezultatų santykis	95 % PI (LCL, UCL)
Reikšmingas	28	7,4 (28/379)	29	7,7 (29/379)	0,966	0,790, 1,142
Užkrečiamas	4	1,1 (4/379)	3	0,8 (3/379)	1,333	–
Nežinoma	1	0,3 (1/379)	0	0,0 (0/379)	–	–
Iš viso	33	8,7 (33/379)	32	8,4 (32/379)	1,031	0,790, 1,272

Palyginamoji mikroorganizmų, išgautų iš BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D, išėiga (izoliatų skaičius) subkultivuoiant mažai užpildytus „BACT/ALERT® FA Plus“ pasėlio butelius, pateikta šioje lentelėje.

19 lent.: Palyginamoji mikroorganizmų išeiga (izoliatų skaičius) – mažai pripildyti „BACT/ALERT® FA Plus“ kraujo pasėliai

Grupė	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
Enterobacteriaceae	8	9
<i>Enterococcus</i> spp.	3	2
Mieliagrybiai	2	1
Nefermentuojančios gramneigiamos Bacilli bakterijos	2	1
Kiti granteigiami	0	1
Neigiamos koaguliazės <i>Staphylococcus</i>	5	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	7
<i>Streptococcus</i> spp.	6	5
Kita	1	1

Klinikiniame tyrime nustatytos 492 BACT/ALERT® VIRTUO® ir BACT/ALERT® 3D pasėlio buteliukų poros, kurių abu buteliukus inkubavus 5 dienas instrumento rezultatai buvo neigiami. Iš šių porų galutinai subkultivuotos 242 poros, neaptiktas nė vienas klaidingai neigiamas rezultatas naudojant BACT/ALERT® VIRTUO® arba BACT/ALERT® 3D; 4 poros subkultivavus tik BACT/ALERT® VIRTUO® buteliukuose jokių klaidingai neigiamų rezultatų neaptikta; subkultivavus 3 poras tik BACT/ALERT® 3D buteliukuose jokių klaidingai neigiamų rezultatų neaptikta; 243 buteliukų poros nebuvo subkultivuotos. Pasėlio buteliukas nustatytas kaip klaidingai neigiamas, jei buteliuko rezultatas buvo neigiamas instrumente, o subkultivuojant buteliuką pastebėtas augimas.

20 lent.: Klaidingai neigiamų rezultatų iš mažai pripildytų „BACT/ALERT® FA Plus“ aerobinių kraujo pasėlių porų, kurios abiejų instrumentų buvo pažymėtos kaip neigiamos, procentinių reikšmių suvestinė

Subkultivuota BACT/ALERT® VIRTUO®	Subkultivuota BACT/ALERT® 3D	Klaidingai neigiami rezultatai BACT/ALERT® VIRTUO®, %	Klaidingai neigiami rezultatai BACT/ALERT® 3D, %
Taip	Taip	0,0 (0/242)	0,0 (0/242)
Taip	Ne	0,0 (0/4)	–
Ne	Taip	–	0,0 (0/3)

Klaidingai teigiamų rezultatų suvestinė

Pasėlio buteliukas buvo laikomas klaidingai teigiamu, jeigu BACT/ALERT® VIRTUO® sistema arba BACT/ALERT® 3D sistema pažymėdavo pasėlį kaip teigiamą, o subkultivavus šį buteliuką rezultatas buvo neigiamas. Tyrimo populiaciją sudarė kultūrų poros, kurių kraujo tūris ≤ 4 ml (BACT/ALERT® PF Plus ir mažai pripildyti „BACT/ALERT® FA Plus“ buteliukai). Klaidingai teigiami rezultatai buvo nustatyti subkultivuojant teigiamus BACT/ALERT® VIRTUO® buteliukus ir teigiamus BACT/ALERT® 3D buteliukus, atitinkančius tyrimo populiacijų proporcijas pagal bendrus atitinkamų kraujo pasėlių skaičius.

21 lent.: Klaidingai teigiamų rezultatų suvestinė

Buteliuko tipas – mėginio tipas	Klaidingai teigiami rezultatai BACT/ALERT® VIRTUO®, %	Klaidingai teigiami rezultatai BACT/ALERT® 3D, %
BACT/ALERT® PF Plus – su krauju	0,50 (1/202)	0,0 (0/202)
Mažai pripildyti „BACT/ALERT® FA Plus“ – su krauju	0,0 (0/550)	0,0 (0/550)

RIBOTOJI GARANTIJA

„bioMérieux“ garantuoja, kad gaminyje veiks pagal nurodytą naudojimo paskirtį, jei bus griežtai laikomasi visų naudojimo, laikymo ir tvarkymo procedūrų bei atsižvelgiama į eksploataavimo trukmę (jei taikoma) ir atsargumo priemones, išdėstytas naudojimo instrukcijoje.

Išskyrus pirmiau aiškiai išreikštą garantiją, „bioMérieux“ šiuo dokumentu atsisako visų garantijų, įskaitant bet kokias numanomas perkamumo arba tinkamumo konkrečiam tikslui ar naudojimo paskirčiai garantijas, ir atsisako tiek tiesioginės, tiek netiesioginės, tiek šalutinės atsakomybės už reagentų, programinės įrangos, instrumentų ir vienkartinį medžiagų („sistema“) naudojimą naudojimo instrukcijose nurodytais tikslais.

PRIEINAMUMAS

BIOMÉRIEUX BACT/ALERT® PF Plus	100/dėžėje	REF 410853
-----------------------------------	------------	-------------------

Techninės pagalbos JAV kreipkitės į „bioMérieux“ klientų aptarnavimo skyrių telefonu 1-800-682-2666. Ne JAV kreipkitės į vietinį „bioMérieux“ atstovą.

SIMBOLIŲ LENTELĖ

Simbolis	Reikšmė
REF	Katalogo numeris
	Gamintojas
	Pagaminimo data
	Temperatūriniai apribojimai
	Snaudoti iki
LOT	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
EC REP	Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje
	Šia puse į viršų
IVD	<i>In Vitro</i> diagnostinės medicinos priemonė
	Nenaudokite pakartotinai
	Sudėtyje nėra latekso
Rx only	Tik JAV: Federaliniai JAV įstatymai apriboja teisę praktikuojantiems gydytojams pardavinėti šią priemonę

Naudojimo instrukcijos pridamos prie rinkinio, jas taip pat galite atsisiųsti iš tinklalapio www.biomerieux.com/techlib

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ

Pakeitimo tipo kategorijos

Net. Netaikoma (pirmoji publikacija)

Pataisymas	Dokumentų klaidų pataisymas
Techninis pakeitimas	Su produktu susijusios informacijos papildymas, pakeitimas ir (arba) pašalinimas
Administracinis reikalavimas	Naudotojui pastebimų netechninių pakeitimų atlikimas

Pastaba. Nedideli tipografiniai, gramatikos ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukti į laidos istoriją.

Leidimo data	Dalies numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2020-07	056200-01	Techninis pakeitimas	Reagentai – išsamus galimos formulės koregavimų aprašymas.
			Mėginio paėmimas ir paruošimas – tiesioginio vakuomo būdas – pridėtas veiksmas dėl tinkamo maišymo po inokuliacijos
			„BACT/ALERT PF Plus“ pasėlių buteliukų tyrimo procedūra – atsargumo priemonės dėl asmeninių apsaugos priemonių naudojimo įtraukimas
			Antimikrobinų medžiagų neutralizavimas ir veikimo charakteristikos – pridėta informacija dėl atitikimo tyrimo po formulės koregavimo
2017-04	9313400 E	Techninis pakeitimas	Papildymas informacija apie VIRTUO®, įskaitant skyrius Tikėtinos vertės, Antimikrobinų medžiagų neutralizavimas ir Tyrimo veiksmingumo charakteristikos (11–21 lentelės).
2016-04	9309505 D	Techninis pakeitimas	Reagentai <ul style="list-style-type: none"> • Informacijos apie sudėtį atnaujinimas • Tinkamumo termino paaiškinimas
			Mėginių surinkimas ir paruošimas – perspėjimo apie buteliuko slėgį įtraukimas;
			Kokybės kontrolė – perspėjimo, susijusio su LIS ir buteliukų tipų santrumpomis, įtraukimas
			Perspėjimo ir simbolio „Receptinis“ įtraukimas JAV klientams
		Administracinis reikalavimas	Ribotoji garantija – pareiškimo įtraukimas
			Simbolių lentelė – atnaujinimas, įtraukiant naujus gaminio simbolius
2013-04	9305130 C	Techninis pakeitimas	Paskirtis, Mėginių surinkimas ir paruošimas, Tikėtinos vertės, Antimikrobinų medžiagų neutralizavimas, Tyrimo veikimo charakteristikos – tekstas peržiūrėtas, kad būtų įtraukta papildoma klinikinių tyrimų informacija apie gaminio veiksmingumą
			Tyrimo apribojimai – po FDA peržiūros pridėti 2, 8 ir 9 apribojimai
		Administracinis reikalavimas	Reagentai: Įspėjimai perkelti į skyrių „Tyrimo apribojimai“

BIOMERIEUX, BIOMERIEUX logotipas, BACT/ALERT, BIOBALL, FAN ir VIRTUO yra naudojami, registruotieji ir (arba) laukiantys registravimo prekių ženklai, priklausantys „bioMérieux“ ar vienam iš jos filialų ar kompanijų.

Šis produktas gali būti apsaugotas vienu ar keliais patentais, žr. <http://www.biomerieux-usa.com/patents>.

ATCC prekės ženklas ir prekinis pavadinimas bei visi ATCC katalogo numeriai yra „American Type Culture Collection“ prekių ženklai.

CLSI yra registruotasis Clinical and Laboratory Standards Institute prekės ženklas.

Bet kuris kitas pavadinimas ar prekybinis ženklas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.

©BIOMÉRIEUX, 2011, 2013, 2016, 2017, 2019, 2020



bioMérieux, Inc.
100 Rodolphe Street
Durham, North Carolina 27712 - USA
www.biomerieux.com



bioMérieux SA
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France
673 620 399 RCS LYON
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90

BACT/ALERT® PF Plus



Intended Use

BACT/ALERT® PF Plus culture bottles are used with BACT/ALERT® Microbial Detection Systems in qualitative procedures for recovery and detection of aerobic and facultative anaerobic microorganisms (bacteria and yeast) from blood.

Summary and Explanation

BACT/ALERT® Microbial Detection Systems are used to determine if microorganisms are present in blood taken from a patient suspected of having bacteremia/fungemia. The BACT/ALERT® System and culture bottles provide both a microbial detection system and a culture medium with suitable nutritional and environmental conditions for organisms commonly encountered in blood infections. The BACT/ALERT® PF Plus culture bottle provides for detection of microorganisms when a small volume of blood is available. An inoculated bottle is placed into the instrument where it is incubated and continuously monitored for the presence of microorganisms that will grow in the BACT/ALERT® PF Plus culture bottle.

Note: The information provided applies to all configurations of BACT/ALERT® Microbial Detection Systems, unless otherwise noted.

Principle of the Test

BACT/ALERT® Microbial Detection Systems utilize a colorimetric sensor and reflected light to monitor the presence and production of carbon dioxide (CO₂) dissolved in the culture medium. If microorganisms are present in the test sample, carbon dioxide is produced as the organisms metabolize the substrates in the culture medium. When growth of the microorganisms produces CO₂, the color of the gas-permeable sensor installed in the bottom of each culture bottle changes from blue-green to yellow.¹ The lighter color results in an increase of reflectance units monitored by the system. Bottle reflectance is monitored and recorded by the instrument every 10 minutes.

Reagents

For *in vitro* diagnostic use only.

Caution: Handle specimens and inoculated culture bottles as though capable of transmitting infectious agents. All inoculated culture bottles, specimen collection needles, and blood-drawing devices should be decontaminated according to your institution's procedures.²

BACT/ALERT® PF Plus (color-coded yellow) – BACT/ALERT® PF Plus disposable culture bottles contain 30 mL of complex medium and ≥1.6 g adsorbent polymeric beads. At time of manufacture, the medium consists of the following reactive components: combination of peptones/biological extracts (≥1.85% w/v), anticoagulant (≥0.083% w/v), vitamins and amino acids (≥0.00145% w/v), carbon sources (≥0.45% w/v), trace elements (≥0.0005% w/v) and other complex amino acid and carbohydrate substrates in purified water. Bottles contain an atmosphere of N₂, O₂, and CO₂, under vacuum. The composition of the medium may be adjusted to meet specific performance requirements and in such cases, analytical studies are conducted to establish substantial equivalence between the adjusted and previous formulations (refer to Revision History section).

¹ Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al. BacT/Alert: an Automated Colorimetric Microbial Detection System. *J Clin Micro* 1990; 28 (7), 1608-1612.

² *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)* 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

Caution: BACT/ALERT® culture bottles contain polycarbonate. Not all disinfectants are intended for use with polycarbonate surfaces and may cause bottle deterioration. Verify disinfectant compatibility with polycarbonate before use on BACT/ALERT® culture bottle surfaces.

Caution: BACT/ALERT® PF Plus culture bottles used to culture very small blood specimen volumes (0.5 mL or less) will require added blood such as sterile defibrinated horse blood (10.0% w/v) to support growth, particularly for the recovery of fastidious organisms such as *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Neisseria gonorrhoeae*.³

Additional Materials Required

- BACT/ALERT® Microbial Detection Systems
- Blood-drawing device
- Sterile Airway Needle/Subculture Units
- Disposable gloves
- Appropriate biohazard waste containers for materials potentially contaminated with infectious agents
- Alcohol pads or equivalent

Materials Available from bioMérieux

- Blood Collection Adapter Cap
- BACT/ALERT® Microbial Detection Systems
- Sterile Airway Needle/Subculture Units

Storage Instructions

BACT/ALERT® PF Plus culture bottles are ready for use. Store in an upright position protected from direct light at room temperature (15-30°C). An expiration date is printed on each bottle label. Do not inoculate the culture bottles beyond the expiration date indicated. If the bottles are exposed to temperatures less than 15°C, precipitates may form that will disappear when the bottles are warmed to room temperature. Bottles must be at room temperature before use.

Chemical or Physical Indications of Instability

Prior to use, the BACT/ALERT® PF Plus culture bottles should be examined for evidence of damage or deterioration (discoloration). Bottles exhibiting evidence of damage, leakage, or deterioration should be discarded. The medium in undisturbed bottles should be clear, but there may be a slight opalescence or a trace of precipitate due to the anticoagulant SPS. Do not confuse opalescence with turbidity. Do not use a bottle which contains medium exhibiting turbidity, a yellow sensor, or excess gas pressure; these are signs of possible contamination.

Instruments

Review the appropriate BACT/ALERT® Microbial Detection System User Manual before use.

Specimen Collection and Preparation

General Considerations

1. BACT/ALERT® PF Plus culture bottles should be utilized by trained healthcare personnel. Correct specimen collection is extremely important when obtaining blood culture specimens. Refer to Cumitech 1C³ for the proper specimen collection procedure.
2. Take care to prevent contamination during both bottle preparation and inoculation of the patient sample. Proper skin disinfection is an essential requirement to reduce the incidence of contamination.
3. Although not recommended by bioMérieux, blood may be drawn directly into collection tubes containing SPS. Tubes containing other anticoagulants should never be used for blood culture.⁴
4. bioMérieux recommends that inoculated culture bottles be placed into the BACT/ALERT® Microbial Detection System as soon as possible after collection. If there is an unavoidable delay, inoculated bottles may be maintained at room temperature up to 24 hours before loading into the instrument.

³ Baron EJ, Weinstein MP, Dunne Jr. WM, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. 2005. Cumitech 1C, Blood Cultures IV. Coordinating ed., Baron EJ. ASM Press, Washington, DC.

⁴ CLSI. *Principles and Procedures for Blood Cultures*; Approved Guideline. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.

5. Optimal recovery of isolates will be achieved by adding maximum amounts of specimen. Use of lower volumes may adversely affect recovery and/or detection times of some organisms. The bottle's recommended specimen volume is up to 4 mL and the volume collected should be monitored by means of the 4 mL incremental markings on the bottle label.
6. In general, culturing higher volumes of blood containing small numbers of bacteria will improve recovery of bacteria by culture.⁵
7. The clinical studies were conducted with blood volumes as low as 0.1 mL. It is recommended, however, that up to 4 mL of blood be inoculated in the BACT/ALERT® PF Plus culture bottle. To prevent over inoculation, monitor the blood volume intake into the culture bottle, using the 4 mL incremental markings on the bottle label.

Caution: Direct vacuum draw using the BACT/ALERT® PF Plus culture bottle can result in the collection of greater than 4 mL blood sample volume. As a result, caution is advised when performing direct draw collection of blood from young children, infants, and neonates where total blood volume is a concern.

Bottle Preparation

1. Label the culture bottle with patient information. The icons on the bottle label (☺, #, ☹) can be defined by the user.
2. Remove plastic flip-top from the culture bottle. Prior to inoculation, disinfect the culture bottle top with an alcohol swab or equivalent. Allow to air dry.
3. Clean the selected venipuncture site as recommended by your institution's approved procedure.

Venipuncture Direct Draw Inoculation Procedure

Note: If inoculating more than one type of BACT/ALERT® blood culture bottle using a butterfly blood collection set and direct draw adapter cap, inoculate first the aerobic culture bottle and then the anaerobic culture bottle so that any oxygen trapped in the tubing will not be transferred to the anaerobic bottle.

Note: Monitor the direct draw process closely at all times during collection to assure proper flow is obtained and to avoid flow of the bottle contents into the adapter tubing. Due to the presence of chemical additives in the culture bottle, it is important to prevent possible backflow and subsequent adverse reactions by following all steps below.

1. Hold the culture bottle at a position below the patient's arm with the bottle in an upright position (stopper uppermost).
2. Collect the blood using a butterfly blood collection set and a blood collection adapter cap as recommended by your institution's approved procedure and inoculate directly into the culture bottle at the patient's bedside. Although lower sample volumes can be used, recovery may be improved using a sample volume closer to the recommended 4 mL.
3. Release the tourniquet as soon as the blood starts to flow into the culture bottle, or within 2 minutes of application.
4. Do not allow the culture bottle contents to touch the stopper or the end of the needle during the collection procedure.

Caution: A contaminated culture bottle could contain positive pressure, and if used for direct draw, may cause reflux into the patient's vein. Culture bottle contamination may not be readily apparent. Monitor the direct draw process closely to avoid reflux. Do not use a bottle that contains medium exhibiting turbidity, a yellow sensor, or excess gas pressure; these are signs of possible contamination.

5. Ensure that the specimen is properly mixed with the reagents in the BACT/ALERT® PF Plus bottle.
6. Transfer the inoculated culture bottle promptly to the testing laboratory.

Syringe Draw Inoculation Procedure

Note: If inoculating more than one type of BACT/ALERT® blood culture bottle using syringe draw, inoculate first the anaerobic culture bottle and then the aerobic culture bottle so that any oxygen trapped in the syringe will not be transferred to the anaerobic bottle. Line demarcations on the bottle label should be used to assist in estimating the sample volume.

1. Perform venipuncture and blood transfer to the BACT/ALERT® culture bottle according to your institution's established procedures.

Caution: Never force the syringe plunger down during inoculation, as splashing of sample may occur. Remove the syringe when the fill amount is reached, as the vacuum will automatically draw more than the recommended maximum. Puncture the bottle stopper vertically to avoid releasing the vacuum; a bottle without a vacuum should not be inoculated.

2. Ensure that the specimen is properly mixed with the reagents in the BACT/ALERT® PF Plus bottle.
3. Transfer the inoculated culture bottle promptly to the testing laboratory.

⁵ CLSI/NCCLS. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*; Approved Guideline. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.

BACT/ALERT® PF Plus Culture Bottle Test Procedure

Preliminary Comments and Precautions

1. Use disposable gloves and handle inoculated bottles cautiously as though capable of transmitting infectious agents. Consult a physician immediately if contaminated materials are ingested or come in contact with open lacerations, lesions, or other breaks in skin.
2. When handling positive bottles that are bulging or leaking, wear appropriate personal protective equipment (PPE) to avoid coming in contact with microorganisms.
3. Immediately clean up any spillage of contaminated material using a 1:10 dilution of 5% sodium hypochlorite. Dispose of the cleaning material by an acceptable method.
4. All inoculated culture bottles, specimen collection needles, and blood-drawing devices should be decontaminated according to your institution's procedures.⁶
5. These bottles should be utilized by trained healthcare personnel.

Caution: For US Only: US Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner.

Procedural Notes and Precautions

1. Great care must be taken to prevent contamination of the patient sample during venipuncture and during inoculation into the culture bottle since contamination could lead to a specimen being determined positive when a clinically relevant isolate is not actually present.
2. Obtain blood samples prior to initiating antibiotic therapy. If this is not possible, draw blood immediately before administering the next antibiotic dose.
3. If inoculated culture bottles have been delayed in their receipt into the laboratory or have been incubated prior to entry into the BACT/ALERT® instrument, visually inspect for indications of microbial growth. If microbial growth is evident, treat the bottles as positive and do not place in the BACT/ALERT® Microbial Detection System for monitoring.

Laboratory Procedure

Caution: General caution should be taken when subculturing positive culture bottles as they could have been overfilled or contain high gas-producing organisms. Positive culture bottle contents may be under increased internal pressure. Positive culture bottles should be transiently vented before staining or disposal to release any gas produced during microbial metabolism.

1. Visually inspect bottles before testing. Do not use bottles with evidence of damage, leakage, or deterioration. Consider bottles with hemolysis, turbidity, excess gas pressure, yellow sensors, and/or evidence of growth as positive. Smear and subculture. Do not incubate unless smear is negative.
2. After culture bottles have been loaded into the instrument, incubate 5 days or until designated positive.
3. Smear and subculture all positive bottles. If the smear is negative, indicating a possible false positive, the bottle should be reloaded into the instrument until growth of the subculture or redesignation as positive. Bottles that were initially determined false positive and were redesignated positive should be smeared and subcultured.
4. Negative cultures may be checked by smear and/or subculture at some point prior to discarding as negative.
5. Procedures for loading and unloading culture bottles into the appropriate BACT/ALERT® instrument are given in the User Manual.
6. **Do not reuse BACT/ALERT® culture bottles.** Dispose of inoculated BACT/ALERT® culture bottles according to your laboratory protocol. Autoclaving and/or incinerating inoculated BACT/ALERT® bottles is appropriate.⁷
7. Utilization of coring devices (i.e., blunt needle) to puncture the septum may result in bottle leakage.

⁶ *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)* 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

⁷ *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)* 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.

Quality Control

A Certificate of Conformance is available for each lot of culture bottles. If desired, individual laboratories can perform quality control testing of BACT/ALERT® PF Plus culture bottles. Refer to the appropriate BACT/ALERT® User Manual and to CLSI® document M22-A3.⁸

Instrument

A BACT/ALERT® Reflectance Standards kit is provided with each BACT/ALERT® 3D instrument and Reflectance Calibration Standards are included with each BACT/ALERT® VIRTUO® instrument for the QC and Calibration procedures. All quality control should be part of normal system maintenance. Refer to the appropriate BACT/ALERT® User Manual for more information.

Caution: If your facility's LIS vendor sends bottle IDs and bottle type abbreviations to the BACT/ALERT® instrument, use the correct bottle type abbreviation to avoid possible false positive or false negative results. For more information, contact your local bioMérieux representative.

Results

Positive or negative culture bottles are determined by decision-making software contained in the BACT/ALERT® Microbial Detection Systems. No action is required until the BACT/ALERT® instrument signals culture bottles positive or negative.

Limitations of the Test

Many variables involved in blood culture testing cannot be practically controlled to provide total confidence that results obtained are due solely to proper or improper performance of any culture medium or detection system.

1. Patient specimens determined positive by BACT/ALERT® may contain organisms that are positive by smear that will not grow on routine subculturing media. When this is suspected, specimens should be subcultured on special media. Also, BACT/ALERT® positive specimens may contain organisms that are not seen with routine smear methods and may require both specialized smears and subculturing media for detection and recovery.
2. It is possible that certain rare, fastidious microorganisms will not grow or may grow slowly in the BACT/ALERT® PF Plus culture bottle growth medium. In addition, on rare occasions, organisms may be encountered that grow in the BACT/ALERT® PF Plus culture bottle growth medium but do not produce sufficient carbon dioxide to be determined positive. If rare, fastidious organisms requiring specialized media and culture conditions are suspected, alternative methods or extended incubation time should be considered for recovery.
3. Certain strains of *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, and *Neisseria gonorrhoeae* may be sensitive to the anticoagulant SPS, which may result in a lack of growth or low production of CO₂ by these strains if an insufficient amount of sample is inoculated into the culture bottles.
4. Infrequently, if there is a very high number of white blood cells present in the sample, the BACT/ALERT® may indicate a culture bottle positive. In this case, the smear and subculture results may be negative.
5. Organisms are often few in numbers and may appear intermittently in the blood stream; therefore, several consecutive blood samples should be collected from each patient.
6. Promptly remove positive culture bottles when they are signaled by BACT/ALERT® to avoid possible non-viable cultures due to autolysis or other reasons. Certain strains of *Streptococcus pneumoniae* may be particularly prone to autolysis if they are not removed promptly after being signaled positive.
7. A Gram-stained smear from a negative bottle may sometimes contain a small number of non-viable organisms that were derived from culture medium components, staining reagents, immersion oil, or glass slides, resulting in a false positive smear.
8. bioMérieux recommends that inoculated culture bottles be placed into the BACT/ALERT® Microbial Detection System as soon as possible after collection. But, in the unavoidable cases when there is a delay in bottle receipt by the laboratory, delayed entry information is provided from seeded studies in the "Performance Characteristics of the Test" section.
9. Antimicrobial neutralization was not achieved for ceftazidime or cefepime.

⁸ CLSI®/NCCLS. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*; Approved Standard—Third Edition. CLSI®/NCCLS document M22-A3. Wayne, PA: NCCLS; 2004.

Expected Values

1. Percent positive cultures were observed to be 6.3% (range: 4.9%-8.1%) overall and 4.1% (range: 2.5%-6.4%) for significant isolates from three clinical trial sites in BACT/ALERT® PF Plus culture bottles that received 0.1-4 mL of blood during the BACT/ALERT® PF Plus culture bottle clinical trial conducted with the BACT/ALERT® 3D.
2. For BACT/ALERT® 3D testing during the BACT/ALERT® VIRTUO® clinical trial, percent positive cultures were observed to be 1.5% (range: 0.0%-11.1%) overall and 1.5% (range: 0.0%-11.1%) for significant isolates from three clinical trial sites in BACT/ALERT® PF Plus culture bottles that received ≤4 mL of blood.
3. For BACT/ALERT® 3D testing during the BACT/ALERT® VIRTUO® clinical trial, percent positive cultures were observed to be 8.4% (range: 3.6%-13.6%) overall and 6.9% (range: 3.6%-13.6%) for significant isolates from three clinical trial sites in BACT/ALERT® FA Plus culture bottles that received ≤4 mL of blood.
4. For the BACT/ALERT® VIRTUO® clinical trial, percent positive cultures were observed to be 2.0% (range: 0.0%-2.1%) overall and 1.5% (range: 0.0%-1.6%) for significant isolates from three clinical trial sites in BACT/ALERT® PF Plus culture bottles that received ≤4 mL of blood.
5. For the BACT/ALERT® VIRTUO® clinical trial, percent positive cultures were observed to be 8.2% (range: 6.9%-13.6%) overall and 6.9% (range: 5.7%-12.5%) for significant isolates from three clinical trial sites in BACT/ALERT® FA Plus culture bottles that received ≤4 mL of blood.
6. Expected percent positives will vary based on factors such as patient population, prevalence of significant organisms, site location, and contamination rates. The expected values provided are based on clinical study data acquired during multiple clinical studies.

Neutralization of Antimicrobials

Neutralization of antimicrobials by adsorbent polymeric beads varies depending upon dosage level and timing of specimen collection. Internal studies tested on the BACT/ALERT® 3D Microbial Detection System have demonstrated that antimicrobials are effectively neutralized by the BACT/ALERT® PF Plus medium based on 100% recovery of the organisms tested. In these tests, antimicrobials were added in clinically relevant concentrations directly to culture bottles during inoculation with susceptible strains. The effectiveness of the antimicrobials was confirmed by parallel testing using a non-neutralizing medium as a control. Antimicrobials from the following categories were neutralized by the medium: penicillins, glycolcyclines, polyenes, macrolides, triazoles, echinocandins, cefazolin, ceftazidime, ceftazidime, ceftazidime, aminoglycosides, fluoroquinolones, lincosamides, glycopeptides, and oxazolidinones.

Antimicrobial neutralization was not achieved for ceftazidime or cefepime. Less than complete neutralization was observed for cefotaxime and ceftriaxone. Cefotaxime was neutralized at ranges of 50% peak serum level (PSL) to 2% PSL depending on the microorganism. Ceftriaxone was neutralized at ranges of 50% PSL to 1% PSL depending on the organism.

Antimicrobial neutralization properties are dependent upon the culture bottle material composition and are not determined by the analysis algorithms of the BACT/ALERT® Microbial Detection Systems. Representative antimicrobials selected from four of the categories listed above were tested on the BACT/ALERT® VIRTUO® Microbial Detection System to confirm neutralization properties of the BACT/ALERT® PF Plus culture bottles. Neutralization was demonstrated for amikacin (from the aminoglycosides class), piperacillin (penicillins class), vancomycin (glycopeptides class), and voriconazole (triazoles class). Testing demonstrated that the instrument system had no impact on culture bottle antimicrobial neutralization properties.

After formulation adjustments, representative antimicrobials from the claimed drug categories were tested in the adjusted BACT/ALERT® PF Plus culture bottle in the absence of blood, unless otherwise noted, on both the BACT/ALERT® 3D and BACT/ALERT® VIRTUO® Microbial Detection Systems. Antimicrobials from the following categories were neutralized by the adjusted medium: penicillins, glycolcyclines, polyenes, macrolides, triazoles, echinocandins, aminoglycosides, fluoroquinolones, lincosamides, glycopeptides, and oxazolidinones. Five echinocandin/microorganism combinations were tested; one combination had a recovery rate of less than 100%. In the absence of blood, a 77.8% recovery rate was observed for *C. albicans*/caspofungin in the adjusted BACT/ALERT® PF Plus culture bottle. In the presence of blood, a 97% recovery rate was observed in the adjusted BACT/ALERT® PF Plus for *C. albicans*/caspofungin. In addition, substantial equivalency for ceftazidime, ceftazidime, and ceftazidime was observed between the adjusted and previous BACT/ALERT® PF Plus culture bottles for neutralization of the individual drugs. For *S. aureus*/ceftazidime, a 66% recovery was observed initially; however, retest results showed 100% recovery. For *E. coli*/ceftazidime, a 100% recovery was observed. Less than complete neutralization was observed for ceftazidime, which was neutralized at 50% peak serum level (PSL) when tested in PBS.

Ceftazidime, cefepime, cefotaxime, and ceftriaxone were not evaluated in the adjusted BACT/ALERT® PF Plus culture bottle as less than complete neutralization was achieved in the previous formulation.

For additional information on antimicrobial agents neutralized by BACT/ALERT® PF Plus culture bottles, contact your local bioMérieux representative.

Performance Characteristics

BACT/ALERT® 3D Microbial Detection Systems

Potentially Interfering Substances

In-house seeded studies were conducted with plasma, blood, and blood clots. Aliquots of each of these fluids also received white blood cells at concentrations relevant to bacteremia in blood. Testing was conducted with and without microorganisms. These substances neither interfered with recovery and detection of organisms, nor did they generate false positive results in the absence of organisms.

Analytical Sensitivity: Limit of Detection (LoD)

Data in the following table represent results from in-house seeded studies. A minimum of 30 replicates were tested per species. At least 95% detection was achieved at LoD. Data in the following table were generated using bottles at the end of shelf life. Bottles inoculated with *H. influenzae* received 4 mL pooled human blood supplementation.

Table 1: Analytical Sensitivity: Limit of Detection (LoD)

Microorganism	Strain ID	LoD (CFU/bottle)
<i>Candida albicans</i>	ATCC® 14053™	6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC® 13048™	8
<i>Enterococcus faecalis</i>	NCTC 12697	5
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 12923	4
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC® 10211™	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	STL 104016	4
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC® 15313™	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NCTC 12924	4
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC® 14028™	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC 10788	5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC® 6305™	6

Note: 96.7% of the bottles were subcultured within 30 minutes of being declared positive. STL 104016 was sourced from bioMérieux's internal culture collection.

Analytical Sensitivity: Growth Performance

Data in the following table represent results from in-house seeded studies with and without blood obtained from healthy human volunteers. Multiple strains were tested for each species at target inoculum levels of 125 CFU/bottle. The actual inoculum levels ranged from 3-298 CFU/bottle. In this seeded study, the BACT/ALERT® PF Plus culture bottles were subcultured at least 24 hours after being flagged positive by the instrument. The species listed are representatives of clinically prevalent organisms in blood cultures.

Table 2: Analytical Sensitivity: Growth Performance

Microorganism	Blood			
	% Recovery(n)	Range (CFU/Bottle)	Time to Detection (hours)	
			Mean	Range
<i>Staphylococcus aureus</i>	100.0 (30/30)	54-150	13.3	12.2-15.2
<i>Escherichia coli</i>	100.0 (30/30)	71-254	11.2	10.3-11.7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100.0 (12/12)	74-148	15.7	13.7-17.8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100.0 (12/12)	89-123	11.3	10.6-12.3
<i>Candida albicans</i>	100.0 (30/30)	88-298	29.0	19.2-52.8
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100.0 (30/30)	3-260	13.8	10.8-16.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100.0 (12/12)	44-135	17.6	14.3-18.8
<i>Enterococcus faecalis</i>	100.0 (12/12)	63-259	11.6	11.0-12.2
<i>Enterococcus faecium</i>	100.0 (12/12)	25-120	12.8	11.3-14.4
<i>Enterobacter cloacae</i>	100.0 (12/12)	111-200	11.6	10.8-12.5
<i>Candida glabrata</i>	100.0 (12/12)	118-281	43.5	27.3-64.8
<i>Haemophilus influenzae</i>	100.0 (12/12)	105-266	14.4	12.0-16.8
<i>Proteus mirabilis</i>	100.0 (12/12)	36-213	12.5	11.3-14.6

Less than 100% detection was observed for some species, including *Capnocytophaga ochracea*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Granulicatella adiacens*, and *Helicobacter cinaedi*.

After formulation adjustments, a direct comparison study was conducted with the adjusted and previous BACT/ALERT® PF Plus culture bottles using a panel of clinically relevant microorganisms tested in the presence and absence of blood on both the BACT/ALERT® 3D and BACT/ALERT® VIRTUO® Microbial Detection Systems. The recovery rate for the 39 microorganisms evaluated for growth performance in the adjusted BACT/ALERT® PF Plus culture bottle met the criteria for equivalency to the previous BACT/ALERT® PF Plus culture bottle.

The time-to-detection (TTD) for 38 of the 39 microorganisms evaluated for growth performance in the adjusted BACT/ALERT® PF Plus culture bottle in the presence of blood met the criteria for equivalency to the previous BACT/ALERT® PF Plus culture bottle. A delay in TTD was observed for *Haemophilus parainfluenzae* in the adjusted BACT/ALERT® PF Plus culture bottle, although both the adjusted and previous had less than 100% detection, as noted under Table 2. In the presence of 4 mL blood, a faster TTD was achieved for *C. glabrata* with a mean TTD improvement of 30 hours.

Clinical Study Results (Blood Cultures)

Results compare BACT/ALERT® PF Plus to BACT/ALERT® PF blood cultures (for all compliant pairs).

A multi-center clinical study was conducted at three different geographic sites in the U.S. comparing the performance of the BACT/ALERT® PF Plus and BACT/ALERT® PF blood culture bottles for pediatric culture pairs that received blood volumes between 0.1 mL and 4 mL (compliant pairs). A total of 2188 bottle pairs were obtained from 1086 pediatric patients suspected of blood stream bacterial/yeast infections. Subcultures of both bottles were performed when either bottle in the set was determined to be positive by the BACT/ALERT® System. A pair of bottles was determined to have a positive status if the subculture of either the BACT/ALERT® PF Plus or BACT/ALERT® PF culture bottle was positive. A culture bottle was determined to be a "True Positive" if the culture was flagged positive by the BACT/ALERT® System and resulted in growth of the isolate upon subculture of this bottle. True positive rates were calculated for the BACT/ALERT® PF Plus and BACT/ALERT® PF culture bottles, and the ratio of BACT/ALERT® PF Plus true positives to BACT/ALERT® PF true positives was calculated to compare performance. Clinical isolates recovered were classified as significant, contaminant, or unknown based on determination by the clinical trial sites.

A total of 172 isolates were recovered from all compliant pediatric blood culture pairs with a positive status. There were a total of 145 bottle pairs that recovered at least one isolate by subculture of BACT/ALERT® PF Plus or BACT/ALERT® PF culture bottles. A total of 126 bottle pairs recovered a single isolate, 12 bottle pairs recovered two isolates, six bottle pairs recovered three isolates, and one bottle pair recovered four isolates. The total population reported in Tables 3, 4, and 5 comprises the 172 isolates recovered from positive bottle pairs and 2043 negative bottle pairs for a total of 2215 results. The BACT/ALERT® PF Plus culture bottle detected a total of 140 isolates compared to the BACT/ALERT® PF culture bottle that

detected 128 isolates. Of the significant isolates, the BACT/ALERT® PF Plus culture bottle detected a total of 91 isolates compared to the BACT/ALERT® PF culture bottle that detected 77 isolates. One false positive was identified by subculture of a positive BACT/ALERT® PF Plus culture bottle and comprised 0.05% (1/2215) of the study population.

The following tables compare results of the BACT/ALERT® PF Plus to BACT/ALERT® PF blood cultures for all compliant blood culture bottles that yielded any number of isolates on subculture (Table 3), a single isolate alone on subculture (Table 4), and multiple isolates on subculture (Table 5).

Table 3: All Compliant Pairs with Single and Multiple Isolates Combined (Blood Cultures)

Clinical Isolate Determination	BACT/ALERT® PF Plus True Positives	% of BACT/ALERT® PF Plus True Positives in Population	BACT/ALERT® PF True Positives	% of BACT/ALERT® PF True Positives in Population	Ratio of True Positives*
Significant	91	4.1 (91/2215)	77	3.5 (77/2215)	1.182
Contaminant	24	1.1 (24/2215)	29	1.3 (29/2215)	0.828
Unknown	25	1.1 (25/2215)	22	1.0 (22/2215)	1.136
Total	140	6.3 (140/2215)	128	5.8 (128/2215)	1.094

*Ninety-six (96) isolates were detected by both the BACT/ALERT® PF Plus and BACT/ALERT® PF, 44 isolates were detected only by BACT/ALERT® PF Plus, and 32 isolates were detected only by BACT/ALERT® PF. The ratio of true positive rates for overall isolates was 1.094 (140/128) with a 95% CI (0.954, 1.234).⁷

Table 4: All Compliant Pairs with Single Isolates (Blood Cultures)

Clinical Determination	BACT/ALERT® PF Plus True Positives	BACT/ALERT® PF True Positives	Ratio of True Positives*
Significant	69	61	1.131
Contaminant	17	17	1.000
Unknown	19	16	1.188
Total	105	94	1.117

*Seventy-three (73) isolates were detected by both the BACT/ALERT® PF Plus and BACT/ALERT® PF, 32 isolates were detected only by BACT/ALERT® PF Plus, and 21 isolates were detected only by BACT/ALERT® PF. The ratio of true positive rates for overall single isolates was 1.117 (105/94) with a 95% CI (0.957, 1.277).⁷

Table 5: All Compliant Pairs with Multiple Isolates (Blood Cultures)

Clinical Determination	BACT/ALERT® PF Plus True Positives	BACT/ALERT® PF True Positives	Ratio of True Positives*
Significant	22	16	1.375
Contaminant	7	12	0.583
Unknown	6	6	1.000
Total	35	34	1.029

*Twenty-three (23) isolates were detected by both the BACT/ALERT® PF Plus and BACT/ALERT® PF, 12 isolates were detected only by BACT/ALERT® PF Plus, and 11 isolates were detected only by BACT/ALERT® PF. The ratio of true positive rates for overall multiple isolates was 1.029 (35/34) with a 95% CI (0.748, 1.310).⁷

In this clinical study, there were a total of 2041 pairs of BACT/ALERT® PF Plus and BACT/ALERT® PF culture bottles with negative instrument results for both bottles after 5 days of incubation. Among these pairs, terminal subcultures on both bottles were performed for three pairs, and no false negative results by both BACT/ALERT® PF Plus and BACT/ALERT® PF culture bottles were observed; subculture on BACT/ALERT® PF Plus culture bottles alone was performed for 2034 pairs, and one false negative result was observed; both subcultures were not performed for four pairs of bottles. Results are summarized in the following table.

Table 6: Summary of Percent False Negatives from Aerobic Blood Culture Pairs That Were Flagged Negative by Both Instruments

Subculture Performed BACT/ALERT® PF Plus	Subculture Performed BACT/ALERT® PF	% False Negative BACT/ALERT® PF Plus	% False Negative BACT/ALERT® PF
Yes	Yes	0.0 (0/3)	0.0 (0/3)
Yes	No	0.05 (1/2034)	-

Overall false negative rate for BACT/ALERT® PF Plus based on a subset of terminal subcultures was 0.05% (1/2037).

A comparative yield of microorganisms (number of isolates) recovered on subculture of BACT/ALERT® PF Plus and BACT/ALERT® PF cultures is presented in the following table.

Table 7: Comparative Yield of Microorganisms (Number of Isolates) – Blood Cultures

Microorganism Group	Pediatric Subgroup	BACT/ALERT® PF Plus	BACT/ALERT® PF Plus Fill Range (mL)	BACT/ALERT® PF	BACT/ALERT® PF Fill Range (mL)
Enterobacteriaceae	Newborn (< 1 mo)	6	0.1-1.4	7	0.1-1.6
	Infant (> 1 mo-2 yrs)	19	0.1-3.7	13	0.1-3.1
	Child (> 2 yrs-12 yrs)	9	0.6-3.9	7	0.3-3.2
	Adolescent (> 12 yrs-21 yrs)	0	1.4	1	1.6
Fastidious (<i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Neisseria sicca</i>)	Newborn (< 1 mo)	0	-	0	-
	Infant (> 1 mo-2 yrs)	1	0.2	1	0.5
	Child (> 2 yrs-12 yrs)	0	-	0	-
	Adolescent (> 12 yrs-21 yrs)	1	1.1	1	0.6
Yeast (<i>Candida albicans</i> , <i>C. guilliermondii</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. lusitanae</i>)	Newborn (< 1 mo)	0	-	0	-
	Infant (> 1 mo-2 yrs)	0	0.5	1	0.9
	Child (> 2 yrs-12 yrs)	5	0.9-3.7	6	1.0-3.4
	Adolescent (> 12 yrs-21 yrs)	1	0.2-3.0	2	2.1-2.5
Non-fermentative Gram-Negative Bacilli	Newborn (< 1 mo)	0	-	0	-
	Infant (> 1 mo-2 yrs)	5	1.7-3.5	6	1.5-2.5
	Child (> 2 yrs-12 yrs)	2	0.9-2.2	3	1.0-2.8
	Adolescent (> 12 yrs-21 yrs)	0	-	0	-

Microorganism Group	Pediatric Subgroup	BACT/ALERT® PF Plus	BACT/ALERT® PF Plus Fill Range (mL)	BACT/ALERT® PF	BACT/ALERT® PF Fill Range (mL)
Coagulase-Negative <i>Staphylococcus</i>	Newborn (< 1 mo)	5	0.1-0.5	5	0.1-0.9
	Infant (> 1 mo-2 yrs)	12	0.1-3.0	10	0.1-3.4
	Child (> 2 yrs-12 yrs)	15	0.1-3.8	12	0.5-3.6
	Adolescent (> 12 yrs-21 yrs)	6	0.5-3.5	7	0.5-3.2
<i>Staphylococcus aureus</i>	Newborn (< 1 mo)	0	0.3	1	0.1
	Infant (> 1 mo-2 yrs)	5	0.5-1.5	5	0.6-1.6
	Child (> 2 yrs-12 yrs)	7	0.8-4.0	3	0.1-3.6
	Adolescent (> 12 yrs-21 yrs)	2	1.5-1.7	2	1.3-1.4
<i>Enterococcus</i> spp.	Newborn (< 1 mo)	1	0.1	1	0.1
	Infant (> 1 mo-2 yrs)	9	0.2-2.9	10	0.1-3.2
	Child (> 2 yrs-12 yrs)	2	0.2-1.0	1	0.8-1.8
	Adolescent (> 12 yrs-21 yrs)	8	1.5-3.1	7	1.9-2.9
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Newborn (< 1 mo)	0	-	0	-
	Infant (> 1 mo-2 yrs)	2	1.0-2.7	1	1.1-1.6
	Child (> 2 yrs-12 yrs)	0	-	0	-
	Adolescent (> 12 yrs-21 yrs)	0	-	0	-
<i>Streptococcus</i> spp., Group A, B	Newborn (< 1 mo)	0	-	0	-
	Infant (> 1 mo-2 yrs)	1	0.5	0	1.0
	Child (> 2 yrs-12 yrs)	0	-	0	-
	Adolescent (> 12 yrs-21 yrs)	0	-	0	-
Other <i>Streptococcus</i> spp.	Newborn (< 1 mo)	0	-	0	-
	Infant (> 1 mo-2 yrs)	4	0.1-1.6	5	0.1-1.5
	Child (> 2 yrs-12 yrs)	3	0.7-2.3	2	0.6-2.6
	Adolescent (> 12 yrs-21 yrs)	1	0.7-2.4	2	1.1-2.4

Microorganism Group	Pediatric Subgroup	BACT/ALERT® PF Plus	BACT/ALERT® PF Plus Fill Range (mL)	BACT/ALERT® PF	BACT/ALERT® PF Fill Range (mL)
Other Gram-Negative*	Newborn (< 1 mo)	0	-	0	-
	Infant (> 1 mo-2 yrs)	1	0.6	0	0.4
	Child (> 2 yrs-12 yrs)	0	-	0	-
	Adolescent (> 12 yrs-21 yrs)	0	-	0	-
Other Gram Positive†	Newborn (< 1 mo)	1	0.1-0.7	2	0.1-0.4
	Infant (> 1 mo-2 yrs)	3	0.5-3.0	2	0.9-2.3
	Child (> 2 yrs-12 yrs)	3	0.1-3.4	1	0.1-3.2
	Adolescent (> 12 yrs-21 yrs)	0	3.3	1	3.2

* Other Gram-Negative Organisms recovered in clinical study: Unidentified Gram-Negative Rods (1)

† Other Gram-Positive Organisms recovered in clinical study: *Bacillus* spp. (6), *Corynebacterium* spp. (2), Diphtheroids (1), *Micrococcus* spp. (2), *Stomatococcus* spp. (1).

Organisms were recovered in the clinical studies at blood volumes greater than 0.1 mL. They are:

- ≥1.0 mL for *Streptococcus pneumoniae*
- ≥0.9 mL for non-fermenting Gram-Negative Rods; ≥0.6 for unidentified Gram-Negative Rods
- ≥0.5 mL for Group A, B *Streptococcus* spp.
- ≥0.3 mL for *S. aureus*
- ≥0.2 mL for fastidious organism (*N. meningitidis* and *N. sicca*)
- ≥0.2 mL for Yeast (*Candida albicans*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, and *C. lusitanae*)

Quality control was performed during the clinical study on each of the 13 organisms (*Candida albicans*, *Candida krusei*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Streptococcus pyogenes*), which were prepared using serial dilution and seeded into the BACT/ALERT® PF Plus culture bottle at a target inoculum of 100 CFU/bottle, with an acceptable range of 30-300 CFU/bottle. Overall quality control results were found to be acceptable. Instances where unacceptable quality control results were observed were found to be due to technical errors (i.e., colony counts out of range, site failure to change bottle status after positive instrument signal and positive subculture, and no supplement added). Repeat testing resulted in acceptable results.

Delayed Entry

The following table includes results from seeded studies using 11 species (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Haemophilus influenzae*, and *Neisseria meningitidis*), at target concentrations of 100 CFU/bottle (acceptable range of 30-300 CFU/bottle) were generated at three sites. Actual inoculum levels ranged from 35-290 CFU/bottle, although there was an instance of a colony count that was >300 CFU/bottle which was not included in the final data analysis. Bottles were tested with human blood from healthy volunteers and were held at specified temperatures and times prior to loading into the BACT/ALERT® 3D instrument. Percent recovery reflects bottles flagged positive by the instrument and subculture with colony morphology consistent with the seeded organism.

Table 8: Delayed Entry

Sample Input	Incubation Temperature (°C)	Hold Time (hours)	% Recovery	Time to Detection from Sample Inoculation (Hold Time + Instrument TTD in hours)		Inoculum Range (CFU/bottle)
				Mean	Range	
Inoculated Test Bottles	Control	No delay	100.0 (459/459)	14.3	8.5-84.0	35-288
	2-8	48	98.6 (292/296)	63.7	57.5-103.2	48-288
	20-25	24	98.0 (291/297)	31.8	26.2-74.4	50-288
	20-25	36	91.9 (272/296)	41.8	38.0-70.5	50-290
	35-37	8	98.9 (454/459)	16.1	10.2-53.8	35-288
	35-37	24	56.6 (259/458)	28.3	26.0-74.4	35-288
Negative Controls	All conditions		0.5 (1/221)*	-	-	-

* One false positive result observed during seeded study. Negative confirmation by Gram stain/subculture.

Important: Culture bottles held at 35-37°C for 24 hours or longer before loading may not detect microorganisms and should be subcultured.

Within-Laboratory Precision (Repeatability)

Data in the following table represent results from in-house seeded studies conducted on 12 days on multiple instruments by multiple operators. Organisms were grown in the presence of clinically relevant concentrations of antimicrobials to which they are susceptible. In this seeded study BACT/ALERT® PF Plus culture bottles were subcultured at least 24 hours after being flagged positive by the instrument. A minimum of 108 replicates were tested for each organism/antimicrobial combination.

Table 9: Within-Laboratory Precision (Repeatability)

Sample Input		Range (CFU/ bottle)	% Recovery				Time to Detection (hours)	
Microorganism	Antimicrobial		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Overall	Mean	Range
<i>C. albicans</i>	Fluconazole	140-364	100.0	100.0	100.0	100.0	26.0	22.8-31.3
<i>E. coli</i>	Amikacin	26-156	100.0	100.0	100.0	100.0	12.0	11.2-13.0
<i>K. pneumoniae</i>	Levofloxacin	108-170	100.0	100.0	100.0	100.0	13.4	11.7-15.2
<i>P. aeruginosa</i>	Piperacillin	80-148	100.0	97.2	100.0	99.1	19.2	17.4-24.1
<i>S. pneumoniae</i>	Penicillin G	9-505	100.0	100.0	100.0	100.0	13.2	11.6-15.5
<i>S. aureus</i>	Vancomycin	94-158	100.0	100.0	100.0	100.0	16.9	14.6-20.3

Reproducibility

Data in the following table represent results from seeded studies conducted at three sites using a target of 162 replicates per site on 3 days with a minimum of two operators per site. Reproducibility was evaluated on each of nine organisms. Two organisms (*C. albicans* and *S. pneumoniae*) were prepared using serial dilution and the other seven organisms were prepared using BIOBALL® products. *C. albicans* and *S. pneumoniae* were seeded into the BACT/ALERT® PF Plus culture bottle, at a target inoculum of 100 CFU/bottle, with an acceptable range of 30-300 CFU/bottle and the other seven organisms at a target range of 1-17 CFU/bottle. The actual inoculum ranged from 6-700 CFU/bottle for the 30-300 CFU/bottle range, and from 1-270 CFU/bottle for the 1-17 CFU/bottle range. Percent recovery reflects positive flag by the instrument and Gram-stain/subculture consistent with the seeded organism.

Table 10: Reproducibility

Sample Input	% Recovery				Time to Detection (hours)		Inoculum Ranges (CFU/Bottle)
	Site 1	Site 2	Site 3	Overall	Mean	Range	
<i>S. aureus</i>	100.0% (18/18)	87.5% (21/24)	100.0% (30/30)	95.8% (69/72)	15.6	14.6-16.7	2-11
<i>C. albicans</i>	100.0% (18/18)	83.3% (30/36)	100.0% (33/33)	93.1% (81/87)	36.6	24.6-76.8	14-700
<i>E. coli</i>	100.0% (27/27)	77.8% (21/27)	100.0% (30/30)	92.9% (78/84)	12.8	11.8-14.1	1-38
<i>P. aeruginosa</i>	100.0% (24/24)	75.0% (18/24)	97.0% (32/33)	91.4% (74/81)	18.4	17.1-21.1	1-11
<i>E. faecalis</i>	100.0% (18/18)	79.2% (19/24)	96.7% (29/30)	91.7% (66/72)	13.9	12.6-15.3	1-15
<i>E. aerogenes</i>	74.4% (29/39)	72.2% (26/36)	85.4% (41/48)	78.1% (96/123)	14.9	11.7-20.8	<1-270*
<i>L. monocytogenes</i>	100.0% (18/18)	100.0% (24/24)	100.0% (30/30)	100.0% (72/72)	24.1	20.4-36.4	1-14
<i>S. enterica</i>	100.0% (24/24)	75.0% (18/24)	100.0% (33/33)	92.6% (75/81)	13.5	2.3-14.8	1-13
<i>S. pneumoniae</i>	100.0% (30/30)	100.0% (36/36)	100.0% (21/21)	100.0% (87/87)	14.2	11.6-18.9	6-500
Overall	95.4% (206/216)	83.5% (213/255)	96.9% (279/288)	92.0% (698/759)	-		
	95% CI: 91.7%, 97.8%	95% CI: 78.4%, 87.9%	95% CI: 94.2%, 98.6%	95% CI: 89.8%, 93.8%			

* Plate count of 270 CFU/bottle was arrived at by serial dilution.

These data include repeat testing performed as a result of laboratory errors at a single site (i.e., contaminated subculture). Data excluding the laboratory errors demonstrated 100% recovery with the exception of *E. aerogenes*, which exhibited 85% recovery for all sites combined.

BACT/ALERT® VIRTUO® Microbial Detection Systems

Potentially Interfering Substances

In-house seeded studies were conducted with plasma, blood, and blood clots. Aliquots of each of these fluids also received white blood cells at concentrations relevant to bacteremia in blood. Testing was conducted with and without microorganisms. These substances neither interfered with recovery and detection of organisms, nor did they generate false positive results in the absence of organisms.

Analytical Sensitivity: Limit of Detection (LoD)

Data in the following table represent results from in-house seeded studies. A minimum of 60 BACT/ALERT® PF Plus culture bottles were tested per species. At least 95% detection was achieved at LoD. Bottles inoculated with *H. influenzae* received 1 mL of human blood obtained from a healthy adult population.

Table 11: Analytical Sensitivity: Limit of Detection (LoD)

Microorganism	Strain ID	BACT/ALERT® VIRTUO® (CFU/bottle)
<i>Candida albicans</i>	ATCC® 14053™	7
<i>Enterococcus faecalis</i>	NCTC 12697	4
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 12923	4
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC® 10211™	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 9027™	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC 10788	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC® 6305™	3

Delayed Entry

The following table includes results from seeded studies using 9 species (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, and *Enterococcus faecium*) at target concentrations of ≤ 100 CFU/bottle. Actual inoculum levels ranged from 5-84 CFU/bottle. Bottles were tested without and with 4 mL and 10 mL human blood from healthy volunteers and were held at specified temperatures and times prior to loading into the BACT/ALERT® VIRTUO® instrument. Percent recovery reflects bottles flagged positive by the instrument and subculture with colony morphology consistent with the seeded organism. Negative controls were tested with 10 mL human blood as a more stringent test to evaluate the risk of false positives.

Table 12: Delayed Entry

Sample Input	Incubation Temperature (°C)	Hold Time (hours)	% Recovery	Time to Detection from Sample Inoculation (Hold Time + Instrument TTD in hours)	
				Mean	Range
Inoculated Test Bottles	Control	No delay	100.0 (259/259)	14.0	8.5-30.0
	35-37	8	100.0 (261/261)	16.5	10.9-31.1
	20-25	24	100.0 (261/261)	32.1	27.6-46.6
	20-25	36	99.6 (260/261)	42.0	37.7-65.1
	2-8	48	96.5 (247/256)*	61.3	57.2-77.9
Negative Controls	All conditions		0.0 (0/64)†	-	-

* 8/9 negative bottles were observed when tested with *N. meningitidis*.

† Negative controls tested with 10 mL human blood.

Caution: Culture bottles held at room temperature for longer than 24 hours before loading may not detect microorganisms and should be subcultured.

Within-Laboratory Precision (Repeatability)

Data in the following table represent results from in-house seeded studies conducted for 20 days using multiple instruments and tested by multiple operators. A minimum of 60 replicates were tested for each organism and lot tested.

Table 13: Within-Laboratory Precision (Repeatability)

Microorganism	Range (CFU/ bottle)	% Recovery				Time to Detection (hours)	
		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Overall	Mean	Range
<i>Candida albicans</i>	3-30	100.0 (141/141)	100.0 (144/144)	100.0 (60/60)	100.0 (345/345)	27.1	21.4-40.0
<i>Enterococcus faecalis</i>	3-16	100.0 (162/162)	100.0 (162/162)	100.0 (60/60)	100.0 (384/384)	10.9	9.6-12.4
<i>Escherichia coli</i>	8-20	100.0 (153/153)	100.0 (153/153)	100.0 (60/60)	100.0 (366/366)	9.6	8.7-10.8
<i>Haemophilus influenzae</i> *	1-24	100.0 (162/162)	100.0 (162/162)	100.0 (60/60)	100.0 (384/384)	13.6	11.0-21.6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5-17	100.0 (162/162)	100.0 (162/162)	100.0 (60/60)	100.0 (384/384)	14.7	12.8-17.6
<i>Staphylococcus aureus</i>	5-16	100.0 (171/171)	100.0 (171/171)	100.0 (60/60)	100.0 (402/402)	12.7	11.5-15.0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1-29	100.0 (162/162)	100.0 (162/162)	100.0 (60/60)	100.0 (384/384)	12.0	9.6-15.6

* Tested with 4 mL blood.

BACT/ALERT® 3D and BACT/ALERT® VIRTUO® Systems Comparative Data**Analytical Sensitivity: Growth Performance**

Data in the following table represent results from in-house seeded studies with blood (4 mL) obtained from healthy human donors. A single strain was tested for each species at target inoculum levels of ≤ 30 CFU/bottle. The actual inoculum levels ranged from 7-30 CFU/bottle for both BACT/ALERT® 3D and BACT/ALERT® VIRTUO®. Two positive bottles were subcultured per organism to assess purity. The species listed are representatives of clinically prevalent organisms in blood cultures.

Table 14: Analytical Sensitivity: Growth Performance

Microorganism	BACT/ALERT® PF Plus BACT/ALERT® VIRTUO® - 4 mL Blood				BACT/ALERT® PF Plus BACT/ALERT® 3D - 4 mL Blood			
	% Recovery (n)	Average CFU/Bottle	Time to Detection		% Recovery (n)	Average CFU/Bottle	Time to Detection	
			Mean	Range			Mean	Range
<i>Abiotrophia defectiva</i>	100.0 (9/9)	23	14.8	14.2-16.1	100.0 (4/4)	15	23.1	19.0-28.6
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	100.0 (9/9)	21	29.8	27.2-32.2	100.0 (9/9)	21	32.6	28.1-34.8
<i>Campylobacter jejuni</i>	100.0 (9/9)	7	38.2	34.2-41.5	100.0 (9/9)	7	40.6	37.7-43.2
<i>Candida albicans</i>	100.0 (9/9)	11	26.9	23.4-29.8	100.0 (9/9)	11	28.3	26.6-31.0
<i>Candida glabrata</i>	100.0 (9/9)	7	41.7	38.4-44.5	100.0 (9/9)	7	49.4	45.6-55.9
<i>Candida krusei</i>	100.0 (9/9)	20	16.8	16.1-17.8	100.0 (9/9)	20	19.1	18.7-19.7
<i>Cardiobacterium hominis</i>	100.0 (9/9)	12	41.6	39.7-44.5	100.0 (9/9)	12	52.9	50.9-55.0
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	100.0 (9/9)	8	39.5	29.9-50.7	100.0 (9/9)	8	84.4	52.1-112.8
<i>Cryptococcus neoformans</i>	100.0 (7/7)	30	56.6	49.5-65.8	100.0 (9/9)	30	57.8	56.4-59.0
<i>Eikenella corrodens</i>	100.0 (9/9)	24	21.2	20.1-22.5	100.0 (9/9)	24	24.7	24.0-25.4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	100.0 (9/9)	10	10.7	10.3-11.1	100.0 (9/9)	10	12.4	12.0-12.7
<i>Enterococcus faecalis</i>	100.0 (9/9)	11	10.1	9.4-10.8	100.0 (9/9)	11	12.2	12.0-12.7
<i>Escherichia coli</i>	100.0 (9/9)	9	9.0	8.6-9.6	100.0 (9/9)	9	10.9	9.1-11.3
<i>Haemophilus influenzae</i>	100.0 (9/9)	18	14.8	13.5-16.3	100.0 (9/9)	18	17.8	17.0-18.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100.0 (9/9)	9	9.3	8.8-9.9	100.0 (9/9)	9	11.8	11.8-12.0
<i>Listeria monocytogenes</i>	100.0 (9/9)	19	18.9	18.2-20.0	100.0 (9/9)	19	20.5	20.2-20.9
<i>Micrococcus luteus</i>	100.0 (9/9)	24	31.2	30.0-32.4	100.0 (9/9)	24	33.2	32.4-33.8
<i>Neisseria meningitidis</i>	100.0 (9/9)	8	22.2	21.1-23.8	100.0 (9/9)	8	23.8	22.1-25.0
<i>Proteus vulgaris</i>	100.0 (9/9)	22	11.4	11.0-12.1	100.0 (9/9)	22	13.4	13.2-13.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100.0 (9/9)	12	14.1	13.8-14.6	100.0 (9/9)	12	16.8	16.6-17.0
<i>Salmonella enterica</i>	100.0 (9/9)	9	11.0	10.6-11.4	100.0 (9/9)	9	13.1	12.5-13.9
<i>Serratia marcescens</i>	100.0 (9/9)	10	11.2	10.7-12.2	100.0 (9/9)	10	13.0	12.5-13.2
<i>Staphylococcus aureus</i>	100.0 (9/9)	14	10.4	10.1-10.8	100.0 (9/9)	15	13.3	12.7-13.9
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100.0 (9/9)	11	14.6	14.1-15.8	100.0 (9/9)	11	17.2	16.6-17.8
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	100.0 (7/7)	22	65.1	24.8-83.9	100.0 (9/9)	22	33.5	31.4-37.0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	100.0 (9/9)	13	11.0	10.5-12.2	100.0 (9/9)	13	14.3	13.9-14.6
<i>Streptococcus mitis</i>	100.0 (9/9)	17	8.8	8.6-9.0	100.0 (9/9)	17	11.9	11.5-12.0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100.0 (9/9)	22	11.2	10.6-12.1	100.0 (9/9)	22	13.8	13.4-14.2
<i>Streptococcus pyogenes</i>	100.0 (9/9)	16	10.4	9.8-10.9	100.0 (9/9)	16	12.7	12.5-13.0

Clinical Study Results (Blood Cultures)

Results compare BACT/ALERT® VIRTUO® to BACT/ALERT® 3D with BACT/ALERT® PF Plus bottles for blood cultures (for all compliant pairs).

A multi-center clinical study was conducted at three different geographic sites in the U.S. comparing the performance of the BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D for aerobic culture pairs in which each bottle was filled with up to 4 mL of blood and [1) if the total volume of blood collected was >5 mL, the blood volume of the bottle with the smallest volume was within 20% of that of the bottle with the largest volume or 2) if the total volume of blood collected was ≤5 mL, the blood volume of the bottle with the smallest volume was within 50% of that of the bottle with the largest volume] (compliant pairs). A total of 161 bottle pairs were obtained from 62 pediatric patients suspected of blood stream bacterial/yeast infections. Subcultures of both bottles were performed when either bottle in the set was determined to be positive by the BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D System. A pair of bottles was determined to have a positive status if the subculture of either the BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D PF Plus culture bottle was positive. A culture bottle was determined to be a "True Positive" if the culture was flagged positive by the BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D System and resulted in growth of the isolate upon subculture of this bottle. True positive rates were calculated for the BACT/ALERT® VIRTUO® PF Plus and BACT/ALERT® 3D PF Plus culture bottles, and the ratio of BACT/ALERT® VIRTUO® PF Plus true positives to BACT/ALERT® 3D PF Plus true positives was calculated to compare performance. Clinical isolates recovered were classified as significant, contaminant, or unknown based on determination by the clinical trial sites.

A total of 2 isolates were recovered from all compliant aerobic blood culture pairs with a positive status. There were a total of 2 bottle pairs that recovered a single isolate by subculture of BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D PF Plus culture bottles. The total population reported in the following table comprises the 2 isolates recovered from positive bottle pairs and 159 negative bottle pairs for a total of 161 results. The BACT/ALERT® VIRTUO® PF Plus culture bottle detected a total of 1 isolate compared to the BACT/ALERT® 3D PF Plus culture bottle that detected 1 isolate. Of the significant isolates, the BACT/ALERT® VIRTUO® PF Plus culture bottle detected a total of 1 isolate compared to the BACT/ALERT® 3D PF Plus culture bottle that detected 1 isolate. One false positive was identified by subculture of positive BACT/ALERT® VIRTUO® PF Plus culture bottles in the study population 0.62% (1/161). No false positives were identified by subculture of positive BACT/ALERT® 3D PF Plus culture bottles in the study population (0/161).

The following table compares results of the BACT/ALERT® VIRTUO® to BACT/ALERT® 3D blood cultures for all compliant BACT/ALERT® PF Plus blood culture bottles that yielded a single isolate on subculture (Table 15). No compliant aerobic blood culture pairs with a positive status yielded multiple isolates on subculture.

Table 15: Compliant – Single Isolates

Clinical Determination	BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives	% of BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives in Population	BACT/ALERT® 3D True Positives	% of BACT/ALERT® 3D True Positives in Population	Ratio of True Positives*	95% CI (LCL, UCL)
Significant	1	0.6 (1/161)	1	0.6 (1/161)	1.000	-1.772, 3.772*
Contaminant	0	0.0 (0/161)	0	0.0 (0/161)	-	-
Unknown	0	0.0 (0/161)	0	0.0 (0/161)	-	-
Total	1	0.6 (1/161)	1	0.6 (1/161)	1.000	-1.772, 3.772*

*Since the confidence interval contains a negative value and the ratio cannot be negative, the interval does not provide a meaningful interpretation.

A comparative yield of microorganisms (number of isolates) from BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D recovered on subculture of BACT/ALERT® PF Plus culture bottles is presented in the following table.

Table 16: Comparative Yield of Microorganisms (Number of Isolates) – Blood Cultures

Group	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
Enterobacteriaceae	1	0
<i>Enterococcus</i> spp.	-	-
Yeasts	-	-
Non-fermentative Gram-Negative Bacilli	-	-
Other Gram-Positive	-	-

Group	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
Coagulase-Negative <i>Staphylococcus</i>	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	1
<i>Streptococcus</i> spp.	-	-
Other	-	-

In this clinical study, there were 196 pairs of BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D culture bottles with negative instrument results for both systems after 5 days of incubation. Among these pairs, terminal subcultures were performed for 50 pairs, and no false negative result by either BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D was observed; subculture on BACT/ALERT® 3D bottles alone was performed for 1 pair, and no false negative result was observed; both subcultures were not performed for 145 pairs of bottles. A culture bottle was determined to be false negative if the bottle result was negative by the instrument and resulted in growth upon subculture of the bottle.

Table 17: Summary of Percent False Negatives from Aerobic Blood Culture Pairs That Were Flagged Negative by Both Instruments

Subculture Performed BACT/ALERT® VIRTUO®	Subculture Performed BACT/ALERT® 3D	% False Negative BACT/ALERT® VIRTUO®	% False Negative BACT/ALERT® 3D
Yes	Yes	0.0 (0/50)	0.0 (0/50)
No	Yes	-	0.0 (0/1)

Clinical Study Results (Blood Cultures) - Low Fill BACT/ALERT® FA Plus Culture Bottles

Results compare BACT/ALERT® VIRTUO® to BACT/ALERT® 3D with low fill BACT/ALERT® FA Plus bottles for blood cultures (for all compliant pairs).

Due to the low numbers of positive BACT/ALERT® PF Plus bottles observed in the clinical study, low fill volume BACT/ALERT® FA Plus bottles were evaluated as a surrogate for BACT/ALERT® PF Plus as both are equal in terms of the medium composition. Note that the bottle labeling for BACT/ALERT® PF Plus and BACT/ALERT® FA Plus bottles provide the recommended blood volumes for each bottle type and differentiate their respective use in a clinical setting. A multi-center clinical study was conducted at three different geographic sites in the U.S. and Canada comparing the performance of the BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D for aerobic culture pairs in which each bottle was filled with up to 4 mL of blood and in which the blood volume of the bottle with the smallest volume was within 30% of that of the bottle with the largest volume (compliant pairs). A total of 379 bottle pairs were obtained from 292 adult patients suspected of blood stream bacterial/yeast infections. Subcultures of both bottles were performed when either bottle in the set was determined to be positive by the BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D System. A pair of bottles was determined to have a positive status if the subculture of either the BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D PF Plus culture bottle was positive. A culture bottle was determined to be a "True Positive" if the culture was flagged positive by the BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D System and resulted in growth of the isolate upon subculture of this bottle. True positive rates were calculated for the BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus and BACT/ALERT® 3D FA Plus culture bottles, and the ratio of BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus true positives to BACT/ALERT® 3D FA Plus true positives was calculated to compare performance. Clinical isolates recovered were classified as significant, contaminant, or unknown based on determination by the clinical trial sites.

A total of 40 isolates were recovered from all compliant aerobic blood culture pairs with a positive status. There were a total of 40 bottle pairs that recovered a single isolate by subculture of BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D FA Plus culture bottles. The total population reported in Table 18 comprises the 40 isolates recovered from positive bottle pairs and 339 negative bottle pairs for a total of 379 results. The BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus culture bottle detected a total of 33 isolates compared to the BACT/ALERT® 3D FA Plus culture bottle that detected 32 isolates. Of the significant isolates, the BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus culture bottle detected a total of 28 isolates compared to the BACT/ALERT® 3D FA Plus culture bottle that detected 29 isolates. No false positives were identified by subculture of positive BACT/ALERT® VIRTUO® FA Plus culture bottles in the study population (0/379). No false positives were identified by subculture of positive BACT/ALERT® 3D FA Plus culture bottles in the study population (0/379).

The following table compares results of the BACT/ALERT® VIRTUO® to BACT/ALERT® 3D blood cultures for all compliant low fill BACT/ALERT® FA Plus blood culture bottles that yielded a single isolate on subculture (Table 18). No compliant aerobic blood culture pairs with a positive status yielded multiple isolates on subculture.

Table 18: Low Fill BACT/ALERT® FA Plus – Blood – Compliant – Single Isolates

Clinical Determination	BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives	% of BACT/ALERT® VIRTUO® True Positives in Population	BACT/ALERT® 3D True Positives	% of BACT/ALERT® 3D True Positives in Population	Ratio of True Positives	95% CI (LCL, UCL)
Significant	28	7.4 (28/379)	29	7.7 (29/379)	0.966	0.790, 1.142
Contaminant	4	1.1 (4/379)	3	0.8 (3/379)	1.333	-
Unknown	1	0.3 (1/379)	0	0.0 (0/379)	-	-
Total	33	8.7 (33/379)	32	8.4 (32/379)	1.031	0.790, 1.272

A comparative yield of microorganisms (number of isolates) from BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D recovered on subculture of compliant low fill BACT/ALERT® FA Plus culture bottles is presented in the following table.

Table 19: Comparative Yield Of Microorganisms (Number of Isolates) – Low Fill BACT/ALERT® FA Plus Blood Cultures

Group	BACT/ALERT® VIRTUO®	BACT/ALERT® 3D
Enterobacteriaceae	8	9
<i>Enterococcus</i> spp.	3	2
Yeasts	2	1
Non-fermentative Gram-Negative Bacilli	2	1
Other Gram-Positive	0	1
Coagulase-Negative <i>Staphylococcus</i>	5	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	7
<i>Streptococcus</i> spp.	6	5
Other	1	1

In this clinical study, there were 492 pairs of BACT/ALERT® VIRTUO® and BACT/ALERT® 3D culture bottles with negative instrument results for both systems after 5 days of incubation. Among these pairs, terminal subcultures were performed for 242 pairs, and no false negative result by either BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D was observed; subculture on BACT/ALERT® VIRTUO® bottles alone was performed for 4 pairs, and no false negative result was observed; subculture on BACT/ALERT® 3D bottles alone was performed for 3 pairs, and no false negative result was observed; both subcultures were not performed for 243 pairs of bottles. A culture bottle was determined to be false negative if the bottle result was negative by the instrument and resulted in growth upon subculture of the bottle.

Table 20: Summary of Percent False Negatives From Low Fill BACT/ALERT® FA Plus Aerobic Blood Culture Pairs That Were Flagged Negative By Both Instruments

Subculture Performed BACT/ALERT® VIRTUO®	Subculture Performed BACT/ALERT® 3D	% False Negative BACT/ALERT® VIRTUO®	% False Negative BACT/ALERT® 3D
Yes	Yes	0.0 (0/242)	0.0 (0/242)
Yes	No	0.0 (0/4)	-
No	Yes	-	0.0 (0/3)

Summary of False Positive Results

A culture bottle was determined to be a false positive if the culture was flagged positive by the BACT/ALERT® VIRTUO® or BACT/ALERT® 3D System and was negative upon subculture of the bottle. The study population consisted of culture pairs that received blood volumes of ≤4 mL (BACT/ALERT® PF Plus and low fill BACT/ALERT® FA Plus bottles). The false positive results were identified by subculture of positive BACT/ALERT® VIRTUO® bottles and positive BACT/ALERT® 3D bottles, comprising proportions of the study populations based on the total numbers of corresponding blood cultures.

Table 21: Summary of False Positive Results

Bottle Type - Specimen Type	% False Positive BACT/ALERT® VIRTUO®	% False Positive BACT/ALERT® 3D
BACT/ALERT® PF Plus - Blood	0.50 (1/202)	0.0 (0/202)
Low Fill BACT/ALERT® FA Plus - Blood	0.0 (0/550)	0.0 (0/550)

Limited Warranty

bioMérieux warrants the performance of the product for its stated intended use provided that all procedures for usage, storage and handling, shelf life (when applicable), and precautions are strictly followed as detailed in the instructions for use (IFU).

Except as expressly set forth above, bioMérieux hereby disclaims all warranties, including any implied warranties of merchantability and fitness for a particular purpose or use, and disclaims all liability, whether direct, indirect or consequential, for any use of the reagent, software, instrument and disposables (the "System") other than as set forth in the IFU.

Availability

BIOMÉRIEUX BACT/ALERT® PF Plus	100/case	REF 410853
-----------------------------------	----------	-------------------

For technical assistance in the USA, contact bioMérieux Customer Service at 1-800-682-2666. Outside the USA, contact your local bioMérieux representative.

Index of Symbols

Symbol	Meaning
REF	Catalogue number
	Manufacturer
	Date of manufacture
	Temperature limit
	Use by date
LOT	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
EC REP	Authorized Representative in the European Community
	This way up

Symbol	Meaning
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Do not reuse
	Does not contain latex
	For US Only: Caution: US Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner

Instructions for use provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib

Revision History

Change type categories

N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user

Note: *Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.*

Release Date	Part Number	Change Type	Change Summary
2020-07	056200-01	Technical change	<p>Reagents - Expanded description of potential formulation adjustments.</p> <p>Specimen Collection and Preparation - Direct Draw Procedure - Added step regarding proper mixing after inoculation</p> <p>BACT/ALERT PF Plus Culture Bottle Test Procedure - Added precaution regarding personal protective equipment (PPE)</p> <p>Neutralization of Antimicrobials and Performance Characteristics - Added information regarding equivalency testing after formulation adjustment</p>
2017-04	9313400 E	Technical change	Addition of VIRTUO® information throughout, including Expected Values, Neutralization of Antimicrobials, and Performance Characteristics of the Test (Tables 11-21) sections.

Release Date	Part Number	Change Type	Change Summary
2016-04	9309505 D	Technical change	Reagents <ul style="list-style-type: none"> • Update to composition information • Clarification of expiration date
			Specimen Collection and Preparation - Addition of Caution regarding bottle pressure
			Quality Control - Addition of Caution regarding LIS and bottle type abbreviations
			Addition of Rx - only caution and symbol for US customers
		Administrative	Limited Warranty - Addition of statement
			Index of Symbols - Update to reflect new symbols on product
2013-04	9305130 C	Technical Change	Intended Use, Specimen Collection and Preparation, Expected Values, Neutralization of Antimicrobials, Performance Characteristics of the Test - Revised text to include additional information on product performance based on clinical studies
			Limitations of the Test - Added Limitations 2, 8, and 9 following FDA review
		Administrative	Reagents: Moved Cautions to Limitations of the Test section

BIOMERIEUX, the BIOMERIEUX logo, BACT/ALERT, BIOBALL, FAN, and VIRTUO are used, pending, and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.

This product may be protected by one or more patents, see: <http://www.biomerieux-usa.com/patents>.

The ATCC trademark and trade name and any and all ATCC catalog numbers are trademarks of the American Type Culture Collection.

CLSI is a registered trademark of Clinical and Laboratory Standards Institute.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.

©BIOMÉRIEUX 2011, 2013, 2016, 2017, 2019, 2020

SAFETY Blood Collection/Infusion Set Instructions for use

Intended Use

The SAFETY Blood Collection/Infusion Set is a single-use, sterile, winged blood collection needle bonded to a flexible tubing with a luer connector. The SAFETY Blood Collection/Infusion Set is used for blood collection and/or the short-term infusion of intravenous fluids. The winged needle is designed with a safety shield, which can be activated to cover the needle immediately following venipuncture to aid in the protection against accidental needlestick injury.

Product Description

The SAFETY Blood Collection/Infusion Set is a single-use, sterile, winged needle bonded to a flexible tubing with a luer connector. It is available in various combinations. The SAFETY Blood Collection/Infusion Set is individually wrapped, sterile and can be used with a luer system (e.g. HOLDEX®). The product is to be used by appropriately trained healthcare professionals only in accordance with these instructions.

SAFETY Blood Collection/Infusion Set	Individually wrapped and sterile allowing set to be used with a luer system.
SAFETY Blood Collection Set with Luer Adapter	Individually wrapped and sterile with Luer Adapter (for use with e.g. Standard Tube Holder).
SAFETY Blood Collection Set with Luer Adapter + Holder	Individually wrapped and sterile ready to be used for blood collection.

The SAFETY Blood Collection/Infusion Set does not contain any components made of dry natural rubber. Accessories containing latex will be marked as such on the packaging.

Precautions/Cautions

- The device will perform as intended when the instructions are followed accordingly.
- Examine individual package for integrity of packaging prior to use. If packaging has been torn, do not use.
- Do not use SAFETY Blood Collection/Infusion Sets after their expiration date.
- Refrain from carelessly releasing the lock, or forcefully pulling the wing, as such actions may damage the integrity of the device
- Do not recap the needle of SAFETY Blood Collection/Infusion Sets. Recapping of needles increases the risk of needlestick injury and harmful infections.
- Examine individual package for integrity prior to use. If packaging has been damaged, do not use.
- Any used needle is considered contaminated. Discard all used sets together with the holder in biohazard containers approved for their disposal.
- Do not forcefully release or re-activate the safety mechanism after it has been activated.
- Keep hands behind needle at all times during use and disposal.
- Do not bend the needle. Bending the needle can cause pain to the patient, can cause needlestick injuries, can lead to contamination of the needle causing infections, can lead to haemolysis of the sample, or can cause damage of the steel tubing and needle tip.
- Do not use for subcutaneous infusion or injection.
- Handle all biological samples and blood collection "sharps" (lancets, needles, Luer adapters, and blood collection sets) according to the policies and procedures of your facility.
- Obtain appropriate medical attention in the case of any exposure to biological samples (for example, through a puncture injury), since they may transmit HIV (AIDS), viral hepatitis, or other infectious disease.
- Do not reuse. A reuse of the product may cause harmful infections, injury or death.
- Gloves should be worn at all times during venipuncture to minimize exposure hazard.
- Avoid blood leakage and any air in the tubing during infusion procedure.
- Caution must be taken when collecting blood samples from immobilized, haemophilic or epileptic patients, for example.
- Due to the risk of surface contamination from residual blood that may be on the needle tip, it is recommended to dispose of the needle with the tip directed upwards.
- Never cover the safety mechanism with adhesive tape.
- IV infusion procedures should be done according to the policies and procedures of your facility.
- Make sure all air is removed by priming prior to use as short-term IV infusion device.
- Please use each device for either blood collection or infusion but not for both.

Storage of SAFETY Blood Collection/Infusion set before use

Store the SAFETY Blood Collection/Infusion Set at 4-36°C (40-97°F).

NOTE: Avoid exposure to direct sunlight. Exceeding the maximum recommended storage temperature may lead to impairment of the SAFETY Blood Collection/Infusion Set quality.

Handling

1. Remove SAFETY Blood Collection/Infusion Set from packaging.
2. Check to make sure that the wing protector is securely locked into its safety mechanism. **NOTE:** If individual packaging has been opened or tampered with, please choose another device.
3. Select site for venipuncture. Apply tourniquet and prepare site with appropriate antiseptic. DO NOT PALPATE site after cleansing.

For Blood Collection

1. Select appropriate tube(s) and SAFETY Blood Collection/Infusion Set and, if necessary, connect it to the desired collection system.
2. Carefully remove needle cap from safety-winged needle.
3. Perform venipuncture with patient's arm in downward position. Flashback will confirm successful venipuncture.
4. Immobilize the winged needle with tape when necessary.
5. Collect blood according to your facility's procedure. Remove Tourniquet as soon as blood appears in the tube. Always hold in place by pressing the tube with the thumb to prevent kick-back and to ensure complete vacuum draw. **NOTE: The first tube in the series will be under-filled due to the dead volume of the flexible tubing. A discard tube (no-additive) is recommended to be drawn prior to ensure the proper anticoagulant to blood ratio.**
6. After completion, gently place gauze over collection site without applying pressure.
7. With one hand, activate the safety mechanism by pressing in the light part on both sides of the hub to engage the lock.
8. Slide the safety mechanism backward until an audible click is heard. The click is a sign that the safety mechanism has been correctly activated.
9. Apply gentle pressure to the puncture site using the gauze pad according to facility protocol.
10. Promptly dispose of SAFETY Blood Collection/Infusion Set in an approved disposal container in accordance with the procedures of your facility.

For short-term IV Infusion

For infusion purposes, aseptically remove any male device (Luer Adapter or Luer Adapter + Holder) from the set prior to connection to the female luer port.

Carefully remove needle protective cap from safety-winged needle and prime set in accordance with recommended procedure. Make sure that there is no air in the system during infusion.

*Maximum Priming Volume (ml)			
Tubing	21G	23G	25G
10 cm / 4 inch	0.3	0.3	-
19 cm / 7.5 inch	0.4	0.4	0.4
30 cm / 12 inch	0.6	0.6	0.6

*Maximum Flow Rate (ml/min)			
Tubing	21G	23G	25G
10 cm / 4 inch	20.8	9.6	-
19 cm / 7.5 inch	20.4	9.4	5.5
30 cm / 12 inch	20.8	9.6	5.2

* values established with water

1. Perform venipuncture with patient's arm in downward position and assure that the infusion set is securely attached to the patient.
2. Begin short term IV infusion. **NOTE: Please follow your facility's procedures, however, it is recommended that the device be used for single infusion purposes for a maximum of 5 hours.**
3. After completion of infusion, terminate the procedure (see point 6-10 under blood collection above).

Blood Collection/ Infusion	In Vein Activation of Safety Mechanism	
	<p>When the blood collection/ infusion has been completed, it is recommended to activate the safety mechanism while the SAFETY Blood Collection/Infusion Set is still in the patient's vein.</p>	
	<p>1 Place gauze over site and hold wing down with a thumb or finger. Activate the safety mechanism by pressing in both sides of the hub with one hand to release the lock. Pull the hub backwards.</p> <p>OR</p> <p>OR</p>	<p>2 An audible click is heard when the safety mechanism has been correctly activated. The needle will be completely retracted into the body of the device. Apply pressure to the site until bleeding stops. Verify that the safety mechanism is securely locked.</p>
	<p>3 Dispose in sharps container.</p>	<p>Example 1</p> <p>Example 2</p> <p>Example 3</p>

Label information

	Manufacturer		Temperature limit
	Use-by date		Do not re-use
	Batch code		Sterilized using ethylene oxide
	Catalogue number		Consult instructions for use
	Date of manufacture		

Caution: U.S. Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a physician.

Literature:

CLSI. *Collection of Diagnostic Venous Blood Specimens*. 7th ed. CLSI standard GP41. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.

Production location:

Nipro (Thailand) Corporation Ltd.,
10/2 Moo 8 Bangnomko, Sena,
Phra Nakhon Si Ayutthaya 13110, Thailand
Made in Thailand
Distributed by Greiner Bio-One GmbH, Austria



Greiner Bio-One GmbH
Bad Haller Str. 32
4550 Kremsmünster
Austria

www.gbo.com/preanalytics
office@at.gbo.com
Phone +43 7583 6791