revogene®

GBS DS

For use with the Revogene®

FOR EXPORT USE ONLY; NOT FOR SALE IN THE USA

REF **410100**

IVD **For *in vitro* Diagnostic Use**

INTENDED USE

The Revogene® GBS DS assay performed on the Revogene® instrument is a qualitative *in vitro* diagnostic test designed to detect Group B *Streptococcus* (GBS) DNA from vaginal/rectal swabs obtained from pregnant women. The Revogene GBS DS assay utilizes automated sample processing and real-time polymerase chain reaction (PCR) to detect a *cfb* gene sequence specific to the *Streptococcus agalactiae* genome.

Revogene GBS DS assay is indicated for the identification of *intrapartum* GBS colonization and does not provide susceptibility results. It is not intended to diagnose or monitor treatment of GBS infection. Culture isolates are needed for performing susceptibility testing as recommended for penicillin-allergic women.

SUMMARY AND EXPLANATION

Group B *Streptococcus* is a Gram-positive bacterium commonly found in the gastrointestinal, genital, and urinary tract of healthy adults. Approximately 10-30% of all pregnant women are colonized with GBS in the vagina or rectum.[1]

GBS colonized mothers typically show no symptoms or health effects. However, this bacterium can be transmitted to the newborn mainly during labor and birth (*intrapartum*) [2] and can be associated with serious illnesses in newborns such as sepsis, pneumonia, and meningitis. The fatality rate for infants with early on-set Group B Streptococcal disease (during the first week of life) is currently estimated at 4% to 6%.[1] Surviving infants may experience long-term disabilities including hearing loss, vision loss or mental retardation.[2]

The current guidelines for preventing neonatal GBS disease is screening pregnant women at 35-37 weeks of gestation (*antepartum*) to determine their GBS colonization status. Most GBS testing is performed by culture and can take up to 48 hours for definitive identification of GBS following the initial 18 to 24 hours of incubation of vaginal/rectal swab in a selective broth medium.

If the colonization status is positive, an *intrapartum* antibiotic prophylaxis (IAP) is given to women in order to prevent perinatal Group B streptococcal disease. However, GBS colonization can be intermittent during pregnancy, resulting in an insufficient correlation between antenatal screening results and *intrapartum* GBS colonization.[6] Moreover, the *antepartum* screening excludes women who have preterm delivery or women arriving at hospital without known status. In consequence, some women may not be appropriately treated for GBS colonization while other may be unnecessarily treated with antibiotics.[7]

The GBS DS assay can provide results from one (1) up to eight (8) samples as early as 40 minutes for positive specimens and in approximately 70 minutes for negative specimens, by directly using the swab specimen collected from woman in labor (*intrapartum*). The assay minimizes operator intervention from the time the single-use disposable microfluidic cartridge (named PIE hereinafter) containing the sample is placed into the Revogene carousel until results are available.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

The Revogene GBS DS assay is performed using the Revogene instrument which automates sample homogenization and dilution, cell lysis, DNA amplification and detection of the amplified PCR products. User intervention is only required to discharge the patient specimen into the Sample Buffer Tube (SBT), transfer the sample from SBT into the PIE and insert the PIEs into the Revogene carousel.

Each PIE is a fully integrated and closed device in which a sample is dispensed and processed through different microfluidic chambers and channels which allow for the sample processing (i.e. sample homogenization and dilution, cell lysis and DNA extraction) and subsequent real-time PCR steps (**Figure 1**). The liquid from a single sample is transferred by centrifugation from one (1) chamber to the next in sequence and all reagents specific for the PCR reaction are incorporated and dried within the PCR well. A Process Control (PrC) is incorporated into each PIE to verify sample processing and amplification steps including the verification of potential inhibitor substances as well as microfluidic, instrument or reagent failure. The amplified products are detected in real time using target-specific TaqMan® chemistry-based probes. No operator intervention is necessary once a PIE is loaded into the Revogene.

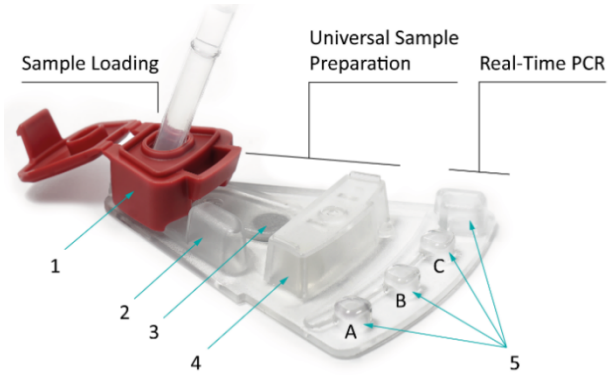

Figure 1. Top View of a PIE.
1: Sample Loading Chamber, 2: Homogenization Chamber containing PrC, 3: Overflow Chamber,
4: Dilution/Lysis Chamber, 5: Three (3) PCR Wells (A to C from left to right) and one (1) Waste Chamber (at the right end).

The Revogene can process from one (1) up to eight (8) samples simultaneously in the same run. The carousel must contain eight (8) PIEs to maintain thermodynamic balance within the run. During the run and at run completion, the results are computed by the system from measured fluorescent signals and embedded calculation algorithms. Results that are displayed on the touchscreen may be printed, transferred and stored by the user using the USB port or the connectivity option.

An Early Positive Result Outcome (E-PRO) feature provides positive result if the signal from the target DNA reaches a predetermined threshold before the full PCR cycles have been completed. With E-PRO, a positive result could be obtained in approximately 40 minutes for highly positive samples. For negative samples, the time to result is approximately 70 minutes.

REAGENTS AND MATERIALS

The Revogene GBS DS kit contains sufficient reagents and materials to process 24 samples. The kit contains the following materials:

1. 24 **GBS DS Sample Buffer Tubes** (SBT): Barcode-labeled tube containing TE 1X buffered solution (Tris-HCl pH 8.0/EDTA.Na_2) as a dilution and preservation buffer for sample.
2. 24 **Disposable Transfer Tools** (DTT): Plastic pipette with minimal and maximal volume marks for transferring the sample from the SBT to the PIE.
3. 24 individual pouches containing one (1) **GBS DS Microfluidic cartridge** (PIE): Barcode-labeled integrated device, composed of dried reagents allowing sample process and real-time PCR steps for PrC DNA and GBS *cfb* gene DNA simultaneous amplification and detection. Each PIE contains PrC, PrC-specific primers and TaqMan® chemistry-based probe, GBS *cfb* gene-specific primers and TaqMan® chemistry-based probe, dNTPs, buffer and DNA polymerase.

MATERIALS/EQUIPMENTS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Revogene® (cat# 610210)
2. Disposable powderless gloves
3. Vortex mixer with a maximal speed of ≥ 3000 rpm
4. Sample rack (cat# 132539; optional)
5. Copan Liquid Stuart (cat. # 141C)
6. MOCK PIE (cat# 610208; optional)
7. Clean scissors (optional)
8. Gauze (optional)

WARNING AND PRECAUTIONS

1. The Revogene GBS DS assay can only be used on the Revogene.
2. Do not use the kit if the label that seals the outer box is broken upon arrival.
3. Do not use GBS DS PIEs if the protective pouches are open or broken upon arrival.
4. Do not interchange DTT, SBT and PIE between kit lots.
5. Each single-use GBS DS PIE and DTT are used to process one (1) sample. Do not reuse PIE or DTT.
6. Always handle specimens as if they are infectious and in accordance with Good Laboratory Practices such as those described in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories[3] and in CLSI Document M29-A4[4].
7. Wear disposable powderless gloves while handling samples and thoroughly wash hands afterwards.
8. The GBS DS PIE contains dried reagents. The protective pouch should not be opened until ready to perform the test.
9. Dispose of unused materials, reagents and waste in accordance with country, federal, provincial, state and local regulations.
10. Do not open or break apart the PIE after use to avoid contamination with amplification products and/or infectious particles.
11. Do not use a PIE that has been dropped, shaken or inverted after the sample has been loaded, as this may cause invalid results.
12. The Revogene GBS DS assay does not provide susceptibility results. Additional time is required to culture isolates and perform susceptibility testing as recommended for penicillin-allergic women.
13. Do not use a kit that has passed its stated expiration date.
14. Do not refrigerate the loaded PIE.
15. Each run must be performed with eight (8) PIEs in the Revogene carousel to maintain thermodynamic and mechanical balance within the run.

HAZARD AND PRECAUTIONARY STATEMENTS

There are no known hazards associated with this product.

STORAGE AND STABILITY

1. Vaginal/rectal swab specimens should be stored at 25 C if they are processed within two (2) days of collection. Otherwise, they should be stored at 2-8 C for up to seven (7) days.
2. Store the Revogene GBS DS kit at 2-25 C. The expiration date is indicated on the kit box label.
3. Do not open a pouch until ready to perform testing. Use the PIE within one (1) hour after opening the pouch.
4. Inoculated SBT can be stored at 25 C for up to two (2) days, or at 2-8 C for up to three (3) days.

INSTRUCTION FOR USE

There are no known hazards associated with this product.

SPECIMEN COLLECTION AND TRANSPORT

Specimen type: Vaginal/rectal swab taken from woman in labor (*intrapartum*).

Vaginal/rectal specimen collection from the same patient should be performed in accordance with published guidelines for collection of clinical specimens for culture of GBS.[1]

1. Collect the vaginal/rectal swab according to European guidelines[7]:
   a. Swab the lower vagina (vaginal introitus), followed by the rectum (i.e. insert swab through the anal sphincter) using the same swab or two different swabs. Take care not to mix stool, water, urine or soap in the sample.
   b. Place the swab(s) into a non-nutritive transport medium (Liquid Stuart) right after sample collection.
2. Label the transport device with the specimen or patient identification (ID) and transport to the laboratory for testing (refer to **Storage and Stability** section).

SAMPLE PREPARATION AND HANDLING

NOTE 1: Start the test within one (1) hour after opening the pouch containing the PIE.

SBT PREPARATION

1. For each specimen to be tested, obtain one (1) SBT from the kit box.
2. Identify (or label) the SBT with the appropriate specimen identification without obscuring or writing over the barcode. Place the SBT on the Sample rack, if used.
3. Unscrew the SBT cap. Remove the swab from its transport sheath and transfer it in the SBT. Using a gauze, break the exceeding part of the swab stem by holding the swab by the stem near the rim of the tube. Lift the swab a few millimeters (mm) from the bottom of the tube and bend the stem against the edge of the tube to break it. Alternatively, use clean scissors to cut the stem. Make sure that only one (1) SBT is open at once.
4. Replace the SBT cap, close it tightly, and replace the SBT on the Sample rack (if used).
5. Prepare any additional specimens for testing by repeating steps 1 to 4 then proceed to step 6.
6. When all samples are prepared, proceed to GBS DS PIE preparation (next section).

PIE PREPARATION

NOTE 1: Process one (1) sample at a time.

7. Vortex the SBT for 30 seconds at maximal speed (≥ 3000 rpm) using a vortex mixer.
8. Unseal the PIE pouch and remove the PIE. Once the pouch is unsealed, the PIE must be used within one (1) hour.
9. Place the PIE on the Sample rack, if used or on a flat surface.
10. Obtain one DTT from the kit box. Unscrew the SBT cap, using the DTT, aspirate the inoculated Sample Buffer (SB) by squeezing the entire bulb. The liquid level into the DTT must be anywhere between the two (2) marks (**Figure 2**). If the liquid level is not between the two (2) marks, discharge completely the SB in the SBT and repeat this step.
11. Discharge completely the SB volume contained in the DTT into the Sample Loading Chamber of the PIE (**Figure 1**).
12. Close the cap of the PIE and the SBT cap tightly.
13. Repeat steps 7 to 12 for any additional prepared SBT then proceed to the Revogene operation section.

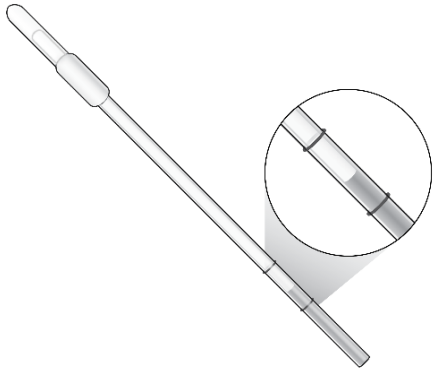

Figure 2. Representation of an Appropriate Sample Buffer (SB) Level using the Disposable Transfer Tool (DTT).

REVOGENE OPERATION

NOTE 1: Each run must be performed with eight (8) PIEs in the Revogene. When less than eight (8) samples are processed, fill the empty places with MOCK PIEs*.
NOTE 2: Refer to the Revogene Operator's Manual[5] for further information regarding instrument set-up and operation.

1. Power on the Revogene (if not already done). The software will launch automatically.
2. Log in by entering the <**Username**> and <**Password**> and tap <**Login**>. The main menu will appear automatically.
3. Tap **<Setup Run>**.
4. Enter the sample identification using either the barcode scanner or manual entry. Manual entry can be done by tapping the **pencil** icon of the **<Scan or Enter Sample ID>** line.
5. Enter the SBT and PIE barcodes using the Revogene barcode scanner by gently positioning the PIE vertically in front of the scanner. Alternatively, SBT and PIE barcodes may be entered manually (tap the **pencil** icon of their respective lines). Handle the PIE carefully without shaking or dropping it.
6. (Optional) Tap the **pencil** icon of the **<Add Comments>** line and type a comment.
7. Insert the PIE into the Revogene, at any position of the carousel. The software will automatically associate sample and SBT to the correct PIE.
8. Confirm that the PIE is inserted into instrument by tapping **<OK>** on the **<insert PIE into instrument>** line and repeat steps 4 to 8 for all samples. If less than eight (8) PIEs are being tested, load MOCK PIEs* in the carousel remaining positions. No scan is required when inserting MOCK PIEs into the Revogene.
9. When all PIEs are inserted into the carousel, tap **<Next>.**
10. If you have entered MOCK PIEs into the carousel, follow the instructions on the screen.
11. Scan the retention ring and place it on the carousel. Close the instrument lid.
12. Initiate the test run by tapping **<Start>**. A timer on the screen and lights on the Revogene lid will show the progression of the test.
13. Store inoculated SBT in appropriate conditions (refer to **Storage** and **Stability** section) for further repeat testing, if needed.

*If MOCK PIEs are not available, use unused assay PIEs filled with uninoculated SB (BLANK) or with External Controls.

VIEWING AND EXPORTING RESULTS
NOTE 1: Refer to the Revogene Operator's Manual[5] for further information regarding the acquisition of test results.

DURING THE RUN
1. If the lights on the Revogene lid start to blink, this is a notification for an Early Positive Result Outcome (E-PRO). An icon will also appear on the title bar of the screen.

   The **E-PRO** icon includes the "+" symbol and a number representing the quantity of positive results available at this time (**Figure 3**). The number will increase if additional positive results become available.

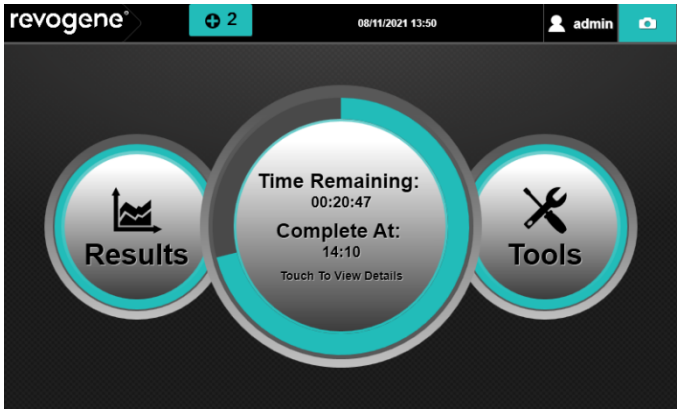

Figure 3. Main Menu Display showing E-PRO icon.

2. Enter <**Username**> and <**password**> and tap <**login**> if the user's session has logged-out.
3. Tap **E-PRO** icon.
4. Result from the current run are automatically listed on the screen (**Figure 4**). For each sample line, there will be either a Positive symbol or an In-progress symbol. The In-progress symbol, consisting of a rotating animation, is displayed until a positive result is obtained or the run is completed.
5. Tap on a Positive result symbol to open the interim report.
6. (Optional) Tap <**Export**> and save the interim report where appropriate (e.g. USB key or connectivity option).

   Once the results screen has been consulted, the E-PRO notifications will disappear. New E-PRO notifications will appear upon the detection of an additional Early Positive result.

   Any Sample result displayed in the interim report is final and will remain unchanged in the final assay result report.

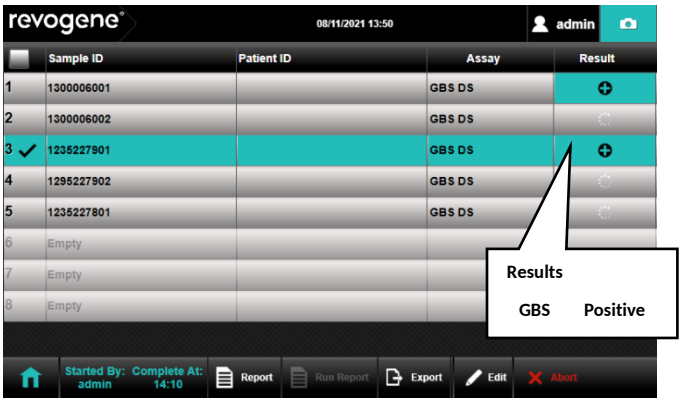

Figure 4. In Progress Results Display.

AT THE END OF THE RUN

7. Once the run is completed, the lid opens automatically.
8. If the Revogene has logged-out, re-enter **<Username>** and **<Password>** and tap **<Login>**. The main menu will appear automatically.
9. Tap **Results** icon to access test results. The **Results** window shows the reported result(s) for each sample (**Figure 5**).
10. Tap **<Last Run>** to see the latest test results.

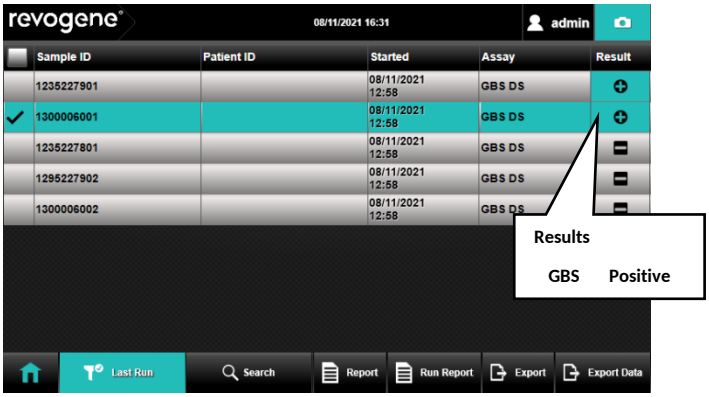

Figure 5. Results window showing the reported result(s) for each sample.

11. From the **<Last Run>,** select samples for which results report(s) has (have) to be exported. All samples can be selected in one time by checking the box on the upper left corner of the screen.
12. Tap **<Export>** and save where appropriate (e.g. USB key or connectivity option).
13. (Optional) Tap <**Search**> to find a specific sample and its result.
14. Remove the retention ring and PIEs from the Revogene. Used PIEs should be discarded in appropriate waste containers according to the institution's standard practices.

REPEAT TESTING PROCEDURE
UNRESOLVED OR INDETERMINATE RESULT FOR A SPECIMEN
NOTE 1: Because of the *intrapartum* setting, repeat testing may not be feasible and will depend on practices and policies within each facility. Coordination between clinicians and the testing laboratory is important to not delay administration of antibiotics while results are pending.

When an Unresolved (UNR) or an Indeterminate (IND) result is obtained for a specimen, a repeat test from the corresponding inoculated SBT must be performed within the specified timeframe described in the **Storage and Stability** section. Only one (1) repeat testing from the SBT is allowed.

Vortex the SBT for a minimum of 30 seconds at maximal speed. Using a new pouch, follow steps 8 to 13 of the **Sample Preparation and Handling / PIE Preparation** section, then follow the **Revogene Operation** section.

UNRESOLVED, INDETERMINATE, FALSE NEGATIVE OR FALSE POSITIVE RESULT FOR AN EXTERNAL CONTROL
When an Unresolved, an Indeterminate, a false negative or a false positive result is obtained for an External Control, the run is invalid. Samples included in the run should be repeated using the corresponding inoculated SBT, along with freshly prepared External Controls, within the specified timeframe described in the **Storage and Stability** section. Refer to the next **Quality Control** section for preparation of fresh External Controls.

For the repeat testing using the corresponding inoculated SBT, vortex the SBT for a minimum of 30 seconds at maximal speed. Using a new pouch, follow steps 8 to 13 of the **Sample Preparation and Handling / PIE Preparation** section, then follow the **Revogene Operation** section.

QUALITY CONTROL
Quality control procedures monitor the accuracy and precision of the analytical process. Each laboratory must establish the number, type and frequency of testing control materials per applicable regulations or accrediting agencies. The procedure described below may be employed, if appropriate, based on local policies and procedures.

PROCESS CONTROL
Each PIE contains a Process Control (PrC) that verifies the sample homogenization and dilution, cell lysis, inhibition of DNA amplification and assay reagents failure.

EXTERNAL CONTROLS
NOTE 1: Separate DTT, SBT and PIE must be used for each External Control preparation.

1. Good laboratory practice recommends the use of control materials. Users should follow the appropriate guidelines concerning the running of External Controls. It is recommended that one (1) Positive External Control and one (1) Negative External Control should be run at least on a daily basis until adequate process validation is achieved with the Revogene GBS DS assay on the Revogene in each laboratory setting.
2. External control materials are not provided by Meridian Bioscience, Inc. External Controls are not used by the Revogene software for the purpose of sample test result interpretation. External Controls are treated as if they are specimens.
3. Before reporting early positive sample results, ensure to have Valid Positive and Negative External Control results.
4. Commercially available control material, previously characterized positive sample or negative sample spiked with well characterized organisms can be used as External Positive Control. Positive External Control should be used in accordance with the applicable regulations or accrediting agencies.
5. Commercially available control material, previously characterized negative sample can be used as External Negative Control. Negative External Control should be used in accordance with the applicable regulations or accrediting agencies.

RESULTS INTERPRETATION
The results are computed by the Revogene from measured fluorescent signals and embedded calculation algorithms and are available on the "Results" window of the Revogene. Possible results are:

Sample	Symbol	Result	Interpretation
Patient specimen		Positive	GBS target DNA detected.
		Negative	GBS target DNA not detected.
		Unresolved	Amplification/detection failure of the Process Control as well as for the GBS target DNA. Could be caused by inhibitory specimens, microfluidic or reagent failure. Repeat testing must be performed (refer to the **Repeat Testing Procedure** section for further guidance).
		Indeterminate	No reportable result due to possible Revogene detection error during the assay processing, the data analysis, or if the run is interrupted by the user. Repeat testing must be performed (refer to the **Repeat Testing Procedure** section for further guidance).
		In progress	Results not available yet.
Positive External Control		Positive	Valid Positive External Control result.
		Negative	An External Positive Control that yields a negative result is indicative of a sample handling/preparation problem. **The run is invalid.** Review the specimen handling/preparation technique. Repeat testing must be performed (refer to the **Repeat Testing Procedure** section for further guidance).
		Unresolved	Incorrect Positive External Control result. **The run is invalid.** Repeat testing must be performed (refer to the **Repeat Testing Procedure** section for further guidance).
		Indeterminate	Incorrect Positive External Control result. **The run is invalid.** Repeat testing must be performed (refer to the **Repeat Testing Procedure** section for further guidance).
		In progress	Results not available yet.
Negative External Control		Positive	An External Negative Control that yields a positive test result is indicative of a sample handling and/or contamination event. **The run is invalid.** Review the specimen handling technique. Repeat testing must be performed (refer to the **Repeat Testing Procedure** section for further guidance).
		Negative	Valid Negative External Control result.
		Unresolved	Incorrect Negative External Control result. **The run is invalid.** Repeat testing must be performed (refer to the **Repeat Testing Procedure** section for further guidance).
		Indeterminate	Incorrect Negative External Control result. **The run is invalid.** Repeat testing must be performed (refer to the **Repeat Testing Procedure** section for further guidance).
		In progress	Results not available yet.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE
1. The Revogene GBS DS assay must only be used with the Revogene by trained personnel.
2. A positive test result does not necessarily indicate the presence of viable organisms. It is, however, indicative for the presence of GBS DNA.
3. Use of the Revogene GBS DS assay only for clinical specimen collected with Copan Liquid Stuart, cat. # 141C. Use of the Revogene GBS DS assay for clinical specimen types other than those specified, has not been evaluated and performance characteristics are not established.
4. Cervical, perianal, perirectal or perineal specimens are not acceptable, and a speculum should not be used for culture collection.
5. Erroneous test results may occur from improper specimen collection, handling or storage, technical error, or sample mix-up. Careful compliance with the instructions of this insert, the Revogene Operator's Manual[5] and to established guidelines is necessary to avoid erroneous results.
6. Contamination or false negative results may occur if a PIE cap is incorrectly closed.
7. While there are no known strains/isolates of GBS lacking the *cfb* gene, the occurrence of such a strain would lead to an erroneous result (false negative) using the Revogene GBS DS assay.
8. Mutations or polymorphisms in primer- or probe-binding regions may affect detection of GBS *cfb* gene variants, resulting in a false negative result with the Revogene GBS DS assay.
9. Results from the Revogene GBS DS assay should be used as an adjunct to clinical observations and other information available to the physician.
10. A negative result does not rule out the possibility of GBS colonization. False negative results may occur when the GBS concentration is below limit of detection of the assay.
11. The test is not intended to differentiate carriers of GBS from those with streptococcal disease.
12. Assay results may be affected by concurrent antimicrobial therapy as GBS DNA may continue to be detected.
13. Moisturizing lotion (e.g. Aveeno®), whole blood or meconium may potentially interfere with the Revogene GBS DS assay when either of these substances is present in Sample Buffer at a concentration of > 6.50E-3% (w/v or v/v).
14. Fungicide (e.g. Micatin®) or Amniotic fluid may potentially interfere with the Revogene GBS DS assay when either of these substances is present in sample buffer at a concentration of > 0.065% (w/v or v/v).
15. Gastritis medication (e.g. Tums®) at concentration > 3.48E-6% (w/v), anti-diarrheal medications (e.g. Imodium®) at concentration > 1.50E-6% (w/v), anti-diarrheal medication (e.g. Pepto Bismol™) at concentration > 1.95E-3% (w/v) or laxative (e.g. Senokot®) at concentration > 3.19E-7% (w/v) may potentially interfere with the Revogene GBS DS assay when either of these substances is present in Sample Buffer.
16. Body powder (Vagisil ® deodorant powder) at the lower concentration tested, 6.50E-05 % (w/v), presented an inhibitory effect on the detection of GBS strains.

EXPECTED VALUES
During clinical evaluation of the Revogene GBS DS assay, a total of 462 reportable results from specimens compliant at the reference method culture level were obtained. Overall, GBS prevalence rate was 26.4 % (112 of 462) with a 95%CI of 22.5 – 30.9 %.

CLINICAL PERFORMANCE CHARACTERISTICS
A study was conducted at the Revogene facility to evaluate Revogene GBS DS assay clinical performance. A total of 462 *intrapartum* vaginal/rectal swabs were prospectively collected from pregnant women in two (2) Canadian sites. Only specimens that met the study inclusion criteria and did not meet any of the exclusion criteria were enrolled. Two (2) swabs per patient were sampled and tested. The first was tested with reference culture method while the second was discharged in SB and frozen at -70 C before testing with Revogene GBS DS assay on the Revogene. Of these 462 specimens, 422 specimens were tested with Revogene GBS DS assay at the Meridian Bioscience Canada, Inc. facility, the remaining 40 specimens were not available for testing.

The reference culture method was performed by one (1) of the Canadian sites. The reference culture method consisted in the transfer of a vaginal/rectal swab in LIM broth enrichment culture followed by a subculture on a non-selective blood agar plate. Colonies morphologically resembling GBS from blood agar plate were confirmed for their identity by Group B streptococcal grouping antisera and/or CAMP test.

The sensitivity, specificity, Positive Predictive Value (PPV) and Negative Predictive Value (NPV) values were calculated by comparing Revogene GBS DS assay results with the reference culture method. Discrepant analysis was performed by the site that has performed the reference culture method. A portion of specimens with discordant results between the Revogene GBS DS assay and the culture method were tested with a second Nucleic Acid Amplification Test (NAAT) method.

Results
Overall performance characteristics of the Revogene GBS DS assay demonstrated 96.4 % sensitivity (107/111; 95%CI: 91.1 - 98.6 %) and 89.9 % specificity (277/308; 95%CI: 86.1 - 92.8 %). Performance results from this study are summarized in **Table 1**.

Of the 422 specimens tested with the Revogene GBS DS assay that were compliant at the specimen and PCR level, five (5) (1.2 %) were reported as Unresolved at initial testing. The unresolved rate after repeat testing was 0.7 % (3/422).

Out of the same 422 specimens tested with the Revogene GBS DS assay, one (1) (0.2 %) was initially reported as Indeterminate. No result remained Indeterminate upon repeat testing.

Table 1. Overall Performance Characteristics of the GBS DS Assay in Comparison to the Reference Method.

		Reference Method		
		Positive	**Negative**	**Total**
GBS DS assay	**Positive**	107	31[B]	138
	Negative	4[A]	277	281
	Total	111	308	419
Sensitivity		96.4% (107/111; 95%CI: 91.1 – 98.6 %)		
Specificity		89.9% (277/308; 95%CI: 86.1 – 92.8 %)		
Positive Predictive Value		77.5% (107/138; 95%CI: 69.9 – 83.7%)		
Negative Predictive Value		98.6% (277/281; 95%CI: 96.4 – 99.4%)		

[A] Two (2) specimens were tested using a second NAAT method; GBS DNA was detected in one (1) out of two (2) false negative specimens.
[B] Fifteen specimens were tested using a second NAAT method; GBS DNA was detected in 13 out 15 false positive specimens.

ANALYTICAL PERFORMANCE CHARACTERISTICS

ANALYTICAL SENSITIVITY
The analytical sensitivity (Limit of Detection or LoD) of the Revogene GBS DS assay was determined using simulated matrix, spiked with various concentrations of GBS bacterial suspensions. Three (3) strains of GBS (ATCC® 12403™, ATCC® 13813™ and ATCC® BAA-22™) were tested in 24 replicates per concentration. The LoD is defined as the lowest concentration at which 95% of all replicates tested positive.

In regard to the three (3) strains tested, the LoD of the GBS DS assay in simulated matrix ranged from 375 to 1 500 CFU/mL of sample buffer (SB). Results are summarized in **Table 2**. Equivalence of LoD was demonstrated between the clinical vaginal/rectal swab matrix previously tested negative for GBS and simulated matrix with strains ATCC® 12403™ and ATCC® 13813™.

Table 2. LoD of the Revogene GBS DS Assay

GBS strain (ATCC® number)	**LoD in Simulated Matrix (CFU/mL of SB)**
Serotype III (ATCC® 12403™)	750
Serotype III (ATCC® BAA-22™)	1 500
Non-hemolytic (ATCC® 13813™)	375

INCLUSIVITY
Inclusivity of the Revogene GBS DS assay was determined for 13 strains of GBS representing 11 known serotypes and one (1) non-hemolytic strain. Ten (10) strains were tested from a quantitated cell culture in presence of GBS-negative simulated matrix at a load of 1125 CFU/mL of SB, corresponding to three (3) times the LoD value of ATCC® 13813™ strain. Three (3) replicates per strain were tested using three (3) different GBS DS kit lots. Six (6) strains were detected with 100% positivity (in 3/3 replicates) by the Revogene GBD DS assay at a load of 1125 CFU/mL of SB. Two (2) strains (ATCC® 51487™ and ATCC® BAA-2669™) were detected with 100% positivity at a load of 1875 CFU/mL of SB. The strains ATCC® 27591™ and ATCC® 12973™ were detected with 100% positivity at a load of 2625 CFU/mL of SB and 15 000 CFU/mL of SB respectively. Strains tested are described in **Table 3**.

Table 3. GBS Strains Tested for Inclusivity with the Revogene GBS DS assay.

GBS strain	**Serotype**
ATCC® 12400™	Ia
ATCC® 51487™	Ib
ATCC® 27591™	Ic
ATCC® 12973™	II
ATCC® 12403™ [1]	III
ATCC® BAA-22™ [1]	III
ATCC® 49446™	IV
ATCC® BAA-611™	V
ATCC® BAA-2671™	VI
ATCC® BAA-2670™	VII
ATCC® BAA-2669™	VIII
ATCC® BAA-2668™	IX
ATCC® 13813™ [1]	Non-hemolytic

[1] Strains used for the LoD determination and therefore not retested

In addition, an *in silico* analysis was performed to assess inclusivity of the primers and probes of the Revogene GBS DS assay target regarding 36 additional GBS strains listed in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database of October 20th, 2016. The alignment results showed no mismatch with the selected sequences. The analysis predicted the detection of all these GBS strains.

CROSS-REACTIVITY

The cross-reactivity of the Revogene GBS DS assay was assessed with high loads of organisms that are not targeted by the assay, or phylogenetically related to GBS, or present in the normal urogenital flora and intestinal tract. The study included 64 bacteria, four (4) yeasts, four (4) viruses, two (2) parasites and human DNA (**Table 4**). Bacteria and yeasts were tested at a load of ≥10^6 CFU/mL of SB. Nucleic acids from viruses, parasites and human DNA were tested at a load of ≥ 10^5 DNA or RNA copies/mL of SB. These organisms were tested using a quantitated cell cultures or nucleic acid solutions in presence of GBS-negative simulated matrix. Three (3) replicates per organism were tested using three (3) different GBS DS kit lots.

Under the conditions of the study, none of the organisms or nucleic acids tested were detected by the Revogene GBS DS assay.

Table 4. List of Organisms Tested for Cross-Reactivity with the Revogene GBS DS Assay

Bacteria	
Acinetobacter baumannii	*Mycoplasma genitalium* (gDNA)
Aerococcus viridans	*Mycoplasma hominis* (gDNA)
Aeromonas hydrophila	*Neisseria gonorrhoeae*
Bacillus cereus	*Peptostreptococcus anaerobius*
Bacillus subtilis	*Porphyromonas asaccharolytica*
Bacteroides fragilis	*Prevotella melaninogenica*
Bifidobacterium adolescentis	*Propionibacterium acnes*
Bifidobacterium breve	*Proteus mirabilis*
Brevibacterium linens	*Pseudomonas aeruginosa*
Campylobacter jejuni	*Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin*
Chlamydia trachomatis (gDNA)	*Salmonella enterica subsp. enterica serovar Minneapolis*
Citrobacter freundii	*Salmonella enterica subsp. enterica serovar typhimurium*
Clostridium difficile	*Salmonella enterica subsp. enterica serovar Newport*
Clostridium perfringens	*Serratia marcescens*
Corynebacterium genitalium	*Shigella sonnei*
Enterobacter aerogenes	*Staphylococcus aureus*
Enterobacter cloacae	*Staphylococcus aureus (Cowan)*
Enterococcus avium	*Staphylococcus epidermidis*
Enterococcus dispar	*Staphylococcus saprophyticus*
Enterococcus durans	*Streptococcus anginosus*
Enterococcus faecalis	*Streptococcus bovis*
Enterococcus faecium	*Streptococcus dysgalactiae subsp. disgalactiae*
Escherichia coli	*Streptococcus dysgalactiae equisimilis*
Escherichia fergusonii	*Streptococcus intermedius*
Gardnerella vaginalis	*Streptococcus oralis*
Klebsiella oxytoca	*Streptococcus pneumoniae*
Klebsiella pneumoniae	*Streptococcus pyogenes*
Lactobacillus acidophilus	*Streptococcus salivarius*
Lactobacillus brevis	*Streptococcus sanguinis*
Lactobacillus casei	*Streptococcus uberis*
Lactobacillus delbreuckii	*Ureaplasma urealyticum* (gDNA)
Lactobacillus jensenii	*Yersinia enterocolitica*
Yeasts	
Candida albicans	*Candida parapsilosis*
Candida glabrata	*Candida tropicalis*
Viruses	
HerpesSimplexVirus-1 (gDNA)	*Norovirus* GII (synthetic RNA)
HerpesSimplexVirus-2 (gDNA)	Human Papillomavirus (gDNA)
Parasites	
Blastocystis hominis (gDNA)	*Trichomonas vaginalis* (gDNA)
Human DNA	
Human DNA (gDNA)	**-**

In addition, an *in silico* analysis was performed to assess the cross-reactivity of the primers and probes of the Revogene GBS DS assay towards 62 additional organisms potentially found in urogenital and intestinal tract (**Table 5**). The analysis was performed on all sequences of these 62 organisms contained in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database on January 24th, 2017. The analysis suggested that none of these organisms should be reactive with the Revogene GBS DS assay.

Table 5. List of Organisms Verified by *in silico* Analysis for Cross-Reactivity with the Primers and Probes of the Revogene GBS DS Assay

Bacteria	
Abiotrophia defectiva	*Listeria monocytogenes*
Achromobacter xylosoxidans	*Micrococcus luteus*
Alcaligenes faecalis	*Mobiluncus mulieris*
Campylobacter fetus	*Moraxella catarrhalis*
Chromobacterium violaceum	*Moraxella lacunata*
Clostridium bifermentans	*Moraxella osloensis*
Clostridium butyricum	*Morganella morganii*
Clostridium novyi	*Mycobacterium smegmatis*
Clostridium septicum	*Neisseria flava*
Clostridium sordelli	*Neisseria flavescens*
Clostridium sporogenes	*Neisseria lactamica*
Corynebacterium urealyticum	*Neisseria meningitidis*
Corynebacterium xerosis	*Neisseria perflava*
Deinococcus radiodurans	*Plesiomonas shigelloides*
Derxia gummosa	*Proteus vulgaris*
Eikenella corrodens	*Providencia stuartii*
Enterococcus gallinarum	*Pseudomonas fluorescens*
Gemella haemolysans	*Pseudomonas putida*
Haemophilus ducreyi	*Rhodospirillum rubrum*
Haemophilus influenzae	*Serratia liquefaciens*
Haemophilus influenzae type B	*Shigella boydii*
Helicobacter pylori	*Shigella flexneri*
Kingella denitrificans	*Staphylococcus simulans*
Kingella kingae	*Stenotrophomonas maltophilia*
Legionella pneumophila	*Streptococcus gordonii*
Streptococcus mitis	*Vibrio parahaemolyticus*
Streptococcus mutans	-
Mold/Yeast	
Cryptococcus neoformans	*Saccharomyces cerevisiae*
Viruses	
Adenovirus 40	*Echovirus*
Adenovirus 41	*Epstein-Barr Virus*
BK virus	*Rotavirus*
Coxsackievirus	-

INTERFERING ORGANISMS

The potentially inhibitory effect of 29 non-targeted organisms that may be present in urogenital flora and intestinal tract was assessed using organisms selected from the cross-reactivity study (**Table 4**). Selection of organisms was based on their prevalence in the vaginal/rectal flora. Groups of one (1) to five (5) organisms were tested in triplicate with either 1125 CFU/mL of SB containing ATCC® 13813™ GBS strain, 4500 CFU/mL of SB containing GBS ATCC® BAA-22™ strain or GBS-negative samples in presence of GBS-negative simulated matrix to assess their potential interference on detection of GBS or PrC. Each organism within a group was diluted to reach a load of ≥ 10^6 CFU/mL or copies/mL of SB for bacteria and yeast, and ≥ 10^5 copies/mL of SB for virus and parasite. The 29 organisms included in the study are presented in **Table 6**.

Table 6. List of Organisms Tested for Interference with the Revogene GBS DS assay.

Group 1	
Acinetobacter baumannii	*Enterococcus faecalis*
Bacillus subtilis	*Enterococcus faecium*
Bacteroides fragilis	
Group 2	
Campylobacter jejuni	*Escherichia coli*
Clostridium difficile	*Gardnerella vaginalis*
Corynebacterium genitalium	
Group 3	
Klebsiella oxytoca	*Peptostreptococcus anaerobius*
Lactobacillus acidophilus	*Propionibacterium acnes*
Neisseria gonorrhoeae	
Group 4	
Pseudomonas aeruginosa	*Shigella sonnei*
Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin	*Staphylococcus aureus*
Serratia marcescens	
Group 5	
Staphylococcus epidermidis	*Yersinia enterocolitica*
Streptococcus pyogenes	*Candida albicans*
Group 6	
Chlamydia trachomatis	Human Papillomavirus (gDNA)
Herpes Simplex Virus-1 (gDNA)	*Trichomonas vaginalis*
Group 7	
Mycoplasma genitalium (gDNA)	

None of the 29 organisms present at ≥ 10^6 CFU/mL or copies/mL of SB for bacteria and yeast and ≥ 10^5 copies/mL of SB for viruses and parasites interfered with detection of PrC and with the detection of the two (2) GBS strains (ATCC® 13813™ and ATCC® BAA-22™).

INTERFERING SUBSTANCES

The potentially inhibitory effect of 22 exogenous and eight (8) endogenous substances that may be present in urogenital flora and intestinal tract was assessed using GBS-negative samples and GBS strains ATCC® 13813™ and ATCC® BAA-22™ containing samples at three (3) times their respective LoD (1 125 CFU/mL of SB or 4 500 CFU/mL of SB respectively) in presence of GBS-negative simulated matrix. Substances were tested at a physiologically relevant concentration that could be found in a vaginal/rectal specimen or at a higher concentration. The results for the 30 substances are presented in **Table 7**.

Results demonstrated that fungicide (e.g. Micatin®), body powder (e.g. Vagisil ® deodorant powder), moisturizing lotion (e.g. Aveeno ® moisturizing lotion), gastritis medications (e.g. Tums®), anti-diarrheal medication (Imodium ®, Pepto Bismol™), laxatives (Senokot ®), whole blood, amniotic fluid and meconium showed a potentially inhibitory effect on the detection of PrC or GBS strains when any of these substances was present in SBT at the concentration above those presented in **Table 7**. When tested at concentration presented in **Table 7**, all these substances, except the body powder, showed no reportable interference with the Revogene GBS DS assay. The body powder at the lower concentration tested, 6.50E-05 % (w/v), presented an inhibitory effect on the detection of GBS strains.

Table 7. List of Exogenous and Endogenous Substances Tested with the Revogene GBS DS Assay.

Exogenous Substances	
Substance (commercial name)	**Concentration in SB without interference observed[1]**
Fungicide (Micatin®)	0.065 % w/v*
Hemorrhoid cooling gel (Preparation H ®)	6.50 % w/v
Lubricating gel (K-Y ® Personal lubricant)	0.65 % w/v
Body powder (Vagisil ® deodorant powder)	Concentration not determined*
Moisturizing lotion (Aveeno ® moisturizing lotion)	6.50E-03 % w/v*
Body oil (Neutrogena ® Body oil)	6.50 % v/v
Deodorant spray (Summer's Eve™ Spray)	6.50 % v/v
Enemas (Life BRAND™ Heavy Mineral Oil USP)	6.50 % v/v
Antimicrobials (Canesten ®)	6.50 % w/v
Enemas (Pentasa)	1.43E-03% w/v
Radiology Oral Compounds (Barium Sulfate)	7.50E-04 % w/v
Gastritis Medications (Nexium)	7.50E-04 % w/v
Antimicrobials (Flagyl)	4.64E-04 % w/v
Non-Steroidal Anti-Inflammatory (Aleve ®)	2.04E-03 % w/v
Antimicrobials (DIFLUCAN ® One)	5.57E-05 % w/v
Gastritis Medications (Tums ®)	3.48E-06 % w/v*
Anti-Diarrheal Medication (Imodium ®)	1.50E-06 % w/v*
Anti-Diarrheal Medication (Pepto Bismol™)	1.95E-03 % w/v*
Laxatives (Senokot ®)	3.19E-07 % w/v*
Spermicidal (Trojan ® with spermicidal Lubricant Condoms)	0.65 % v/v
Moist Towelettes (Equate™ Flushable Moist Wipes)	6.50 % v/v
Moist Towelettes (Wet Ones ®)	0.65 % v/v
Endogenous substances	
Substance	**Concentration in SB without interference observed[1]**
Whole blood	6.50E-03 % v/v*
Leukocytes	1.00E+06 cells/mL
Amniotic fluid	0.065 % v/v*
Seminal fluid	6.50 % v/v
Urine	6.50 % v/v
Feces	0.65 % v/v
Meconium	6.50E-03 % w/v*
Human DNA	1.55E+03 ng/mL

[1] % W/V: Weight/Volume (mg/mL); % V/V: Volume/Volume (µL/mL);
*Concentrations above these numbers may cause interference (see limitations above).

PRECISION/REPRODUCIBILITY

Between-laboratory reproducibility study was performed in three (3) laboratories at Meridian Bioscience Canada, Inc. facility, by two (2) operators per laboratory, over five (5) distinct days using one (1) GBS DS kit lot (see **Table 8**). Results from laboratory 1 over five (5) days were used for the precision study (see **Table 8**).

Between-lot reproducibility study was performed on one (1) laboratory by two (2) operators, over five (5) days using three (3) GBS DS kit lots (see **Table 9**).

For the reproducibility and precision studies, a total of 60 replicates of negative samples and 90 replicates of each category of positive samples, all prepared in a GBS-negative simulated matrix, were tested. GBS strain ATCC® 13813™ (non-hemolytic) was used for positive samples.

Samples categories were described as follow:

- Low positive (LP): 1.95 x LoD or 731 CFU/mL of SB
- Moderate positive (MP): 3 x LoD or 1125 CFU/mL of SB
- True negative (TN): samples without GBS target

For the between-laboratory reproducibility, the overall percent agreement was 100% for TN, 98.8% for MP and 96.7% for LP of GBS ATCC® 13813™ strain (**Table 8**). For the precision study, the overall percent agreement was 100% for TN, 96.7% for MP and 96.7% for LP of GBS ATCC® 13813™ strain (**Table 8, Laboratory 1**). For the between-lot reproducibility, the overall percent agreement was 100% for TN, 97.8% for MP and 92.2% for LP of GBS ATCC® 13813™ strain (**Table 9**). Overall mean Cycle threshold (Ct) values with variance component (%CV) are shown in **Tables 8** and **9**. Summary of the overall reproducibility study results (between-laboratory and between-lot combined) are shown in **Table 10**.

Table 8. Precision and Between-Laboratory Reproducibility Study Results Using One (1) GBS DS Assay Kit Lot

Laboratory 1, instrument 1, lot 1				
Panel ID	**Results/Total**	**% Agreement[1]**	**Ct Mean[2]**	**Ct %CV**
LP	29/30	96.7%	38.2	5.6
MP	29/30	96.7%	37.3	4.2
TN	20/20	100%	30.2	3.1
Laboratory 2, instrument 2, lot 1				
Panel ID	**Results/Total**	**% Agreement[1]**	**Ct Mean[2]**	**Ct %CV**
LP	28/30	93.3%	36.7	2.9
MP	30/30	100%	36.9	4.7
TN	20/20	100%	32.5	3.1
Laboratory 3, instrument 3, lot 1				
Panel ID	**Results/Total**	**% Agreement[1]**	**Ct Mean[2]**	**Ct %CV**
LP	30/30	100%	37.9	5.5
MP	30/30	100%	36.4	3.7
TN	20/20	100%	30.1	1.8
Overall				
Panel ID	**Results/Total**	**% Agreement[1]**	**Ct Mean[2]**	**Ct %CV**
LP	87/90	96.7%	37.6	5.1
MP	89/90	98.8%	36.9	4.3
TN	60/60	100%	30.9	4.6

[1] For the TN category, percent agreement was calculated for negative results.
[2] For the LP and MP categories, Ct values reported are for the GBS target. For the TN category, Ct values reported are for the PrC.

Table 9. Between-Lot Reproducibility Study Results Using Three (3) GBS DS Assay Kit Lots

Laboratory 1, instrument 1, lot 1				
Panel ID	**Results/Total**	**% Agreement[1]**	**Ct Mean[2]**	**Ct %CV**
LP	29/30	96.7%	38.2	5.6
MP	29/30	96.7%	37.3	4.2
TN	20/20	100%	30.2	3.1
Laboratory 1, instrument 1, lot 2				
Panel ID	**Results/Total**	**% Agreement[1]**	**Ct Mean[2]**	**Ct %CV**
LP	26/30	86.7%	38.6	6.1
MP	29/30	96.7%	37.0	4.8
TN	20/20	100%	29.9	2.6
Laboratory 1, instrument 1, lot 3				
Panel ID	**Results/Total**	**% Agreement[1]**	**Ct Mean[2]**	**Ct %CV**
LP	28/30	93.3%	37.1	3.5
MP	30/30	100%	38.0	5.7
TN	20/20	100%	29.9	2.6
Overall (all lot)				
Panel ID	**Results/Total**	**% Agreement[1]**	**Ct Mean[2]**	**Ct %CV**
LP	83/90	92.2%	37.9	5.4
MP	88/90	97.8%	37.4	5.0
TN	60/60	100%	30.0	2.8

[1] For the TN category, percent agreement was calculated for negative results.
[2] For the LP and MP categories, Ct values reported are for the GBS target. For the TN category, Ct values reported are for the PrC.

Table 10. Summary of the Reproducibility Study Results (Between-Laboratory and Between-Lot combined)

All laboratories and lots combined				
Panel ID	**Results/Total**	**% Agreement[1]**	**Ct Mean[2]**	**Ct %CV**
LP	141/150	94.0%	37.7	5.2
MP	148/150	98.7%	37.1	4.8
TN	100/100	100%	30.5	4.2

[1] For the TN category, percent agreement was calculated for negative results.
[2] For the LP and MP categories, Ct values reported are for the GBS target. For the TN category, Ct values reported are for the PrC.

E-LABELING

Documentation related to this product can be accessed online at www.meridianbioscience.com/pi. Additionally, paper copies are available upon request by contacting your local distributor or via the phone number listed on the kit box.

ITALIANO

revogene®

GBS DS

Per l'uso con Revogene®

REF **410100**

IVD **Per uso diagnostico *in vitro***

FINALITÀ D'USO
Il test Revogene® GBS DS eseguito sullo strumento Revogene® è un test diagnostico qualitativo *in vitro* elaborato per rilevare il DNA dello *streptococco* di gruppo B (GBS) da tamponi vaginali/rettali ottenuti da donne in gravidanza. Il test Revogene GBS DS utilizza l'elaborazione automatizzata dei campioni e la reazione a catena della polimerasi (PCR) in tempo reale per rilevare una sequenza genica *cfb* specifica del genoma dello *Streptococcus agalactiae*.

Il test Revogene GBS DS è indicato per l'identificazione della colonizzazione GBS *intra partum* e non fornisce risultati di sensibilità. Non è destinato alla diagnosi o al monitoraggio del trattamento dell'infezione da GBS. Per condurre un test di sensibilità, raccomandato per le donne allergiche alla penicillina, sono necessari degli isolati in coltura.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST
Lo *streptococco* di gruppo B è un batterio gram-positivo che si trova comunemente nel tratto gastrointestinale, genitale e urinario degli adulti sani. Circa il 10-30% di tutte le donne incinte sono colonizzate da GBS nella vagina o nel retto.[1]

Le madri colonizzate da GBS in genere non mostrano sintomi o effetti sulla salute. Tuttavia, questo batterio può essere trasmesso al neonato principalmente durante il travaglio e la nascita (*intra partum*)[2] e può essere associato a gravi malattie nei neonati come sepsi, polmonite e meningite. Il tasso di mortalità per i bambini con insorgenza precoce (durante la prima settimana di vita) della malattia da streptococco di gruppo B è attualmente stimato dal 4% al 6%.[1] I bambini sopravvissuti possono sperimentare disabilità a lungo termine tra cui perdita dell'udito, perdita della vista o ritardo mentale.[2]

Le attuali linee guida per la prevenzione delle infezioni neonatali da GBS prevedono lo screening delle donne in gravidanza a 35-37 settimane di gestazione (*ante partum*) per determinare il loro stato di colonizzazione da GBS. La maggior parte dei test GBS viene eseguita per coltura e può richiedere fino a 48 ore per l'identificazione definitiva di GBS dopo le 18-24 ore iniziali di incubazione del tampone vaginale/rettale in un brodo selettivo.

Se lo stato di colonizzazione è positivo, alle donne viene somministrata una profilassi antibiotica *intra partum* (IAP) al fine di prevenire l'infezione perinatale da streptococco di gruppo B. Tuttavia, la colonizzazione da GBS può essere intermittente durante la gravidanza, determinando una correlazione insufficiente tra i risultati dello screening prenatale e la colonizzazione da GBS *intra partum*.[6] Inoltre, lo screening *ante partum* esclude le donne che hanno un parto prematuro o che arrivano in ospedale in uno stato non noto. Pertanto, in alcune donne la colonizzazione da GBS potrebbe non essere adeguatamente trattata mentre in altre potrebbe essere inutilmente trattata con antibiotici.[7]

Il test GBS DS può fornire risultati da uno (1) fino a otto (8) campioni già dopo 40 minuti per i campioni positivi e in circa 70 minuti per i campioni negativi, utilizzando direttamente il campione del tampone raccolto dalla donna in travaglio (*intra partum*). Il test riduce al minimo l'intervento dell'operatore dal momento in cui la cartuccia microfluidica monouso (di seguito denominata cartuccia PIE) contenente il campione viene inserita nel carosello di Revogene fino a quando i risultati non sono disponibili.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA
Il test Revogene GBS DS viene eseguito utilizzando lo strumento Revogene che automatizza l'omogeneizzazione e la diluizione dei campioni, la lisi cellulare, l'amplificazione del DNA e il rilevamento dei prodotti PCR amplificati. L'intervento dell'utente è richiesto solo per scaricare il campione del paziente nella provetta tampone per campioni (SBT), trasferire il campione da questa provetta alla cartuccia PIE e inserire quest'ultima nel carosello di Revogene.

La cartuccia PIE è un dispositivo completamente integrato e chiuso in cui erogare ed elaborare un campione attraverso diverse camere e canali microfluidici che ne consentono l'elaborazione (ovvero omogeneizzazione e diluizione del campione, lisi cellulare ed estrazione del DNA) e la successiva esecuzione della PCR in tempo reale **(Figura 1)**. Il liquido di un singolo campione viene trasferito mediante centrifugazione da una (1) camera alla successiva in sequenza e tutti i reagenti specifici per la reazione PCR vengono incorporati ed essiccati all'interno del pozzetto PCR. Un controllo di processo (PrC) è incorporato in ogni cartuccia PIE per verificare le fasi di elaborazione e amplificazione del campione, compresa la verifica di potenziali sostanze inibitrici, nonché eventuali malfunzionamenti relativi alla cartuccia microfluidica, allo strumento o ai reagenti. I prodotti amplificati vengono rilevati in tempo reale utilizzando sonde a base chimica TaqMan® specifiche per target. Una volta caricata una cartuccia PIE in Revogene, non è necessario alcun intervento da parte dell'operatore.

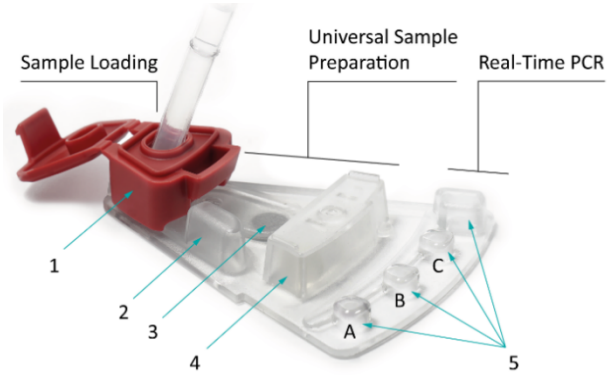

Figura 1. Vista dall'alto di una cartuccia PIE
1: Camera di caricamento del campione, 2: Camera di troppo pieno, 3: Camera di omogeneizzazione contenente PrC, 4: Camera di diluizione/lisi, 5: Tre (3) pozzetti per PCR (da A a C da sinistra a destra) e una (1) camera di scarico (all'estremità destra).

Revogene è in grado di elaborare da uno (1) a otto (8) campioni contemporaneamente nella stessa serie. Il carosello deve contenere otto (8) cartucce PIE per mantenere l'equilibrio termodinamico all'interno della serie. Durante l'elaborazione e al completamento della serie, i risultati vengono calcolati dal sistema in base ai segnali fluorescenti misurati e agli algoritmi di calcolo integrati. I risultati visualizzati sul touchscreen possono essere stampati, trasferiti e archiviati dall'utente mediante la porta USB o l'opzione di connettività.

La funzione di risultato positivo precoce (E-PRO) fornisce risultati positivi se il segnale del DNA target raggiunge una soglia predeterminata prima che siano stati completati i cicli PCR completi. Con E-PRO, è possibile ottenere un risultato positivo in circa 40 minuti per i campioni altamente positivi. Per i campioni negativi, il tempo necessario per il risultato è di circa 70 minuti.

REAGENTI E MATERIALI
Il kit Revogene GBS DS contiene reagenti e materiali sufficienti per elaborare 24 campioni. Il kit contiene i seguenti materiali:
1. 24 **provetta tampone per campioni (SBT) GBS DS**: provetta con codice a barre contenente soluzione tamponata TE 1X (Tris-HCl pH 8,0/EDTA.Na_2) come tampone di diluizione e conservazione per campioni.
2. 24 **strumento di trasferimento monouso** (DTT): pipetta in plastica con segni di volume minimo e massimo per il trasferimento dei campioni dalla provetta SBT alla cartuccia PIE.
3. 24 pochettes individuelles contenant une (1) **cartouche microfluidique (PIE) GBS DS**: dispositivo integrato con codice a barre, composto da reagenti essiccati che consentono l'elaborazione dei campioni e l'esecuzione della PCR in tempo reale per l'amplificazione e il rilevamento simultanei del DNA PrC e del DNA del gene cfb di GBS. Ogni cartuccia PIE contiene PrC, primer specifici per PrC e sonda a base chimica TaqMan®, primer specifici per gene *cfb* di GBS e sonda a base chimica TaqMan®, dNTP, tampone e DNA polimerasi.

MATERIALI/APPARECCHIATURE NECESSARI MA NON FORNITI
1. Revogene® (n. cat. 610210)
2. Guanti monouso senza talco
3. Miscelatore Vortex con una velocità massima ≥ 3000 rpm
4. Rack per campioni (n. cat. 132539; opzionale)
5. Copan Liquid Stuart (n. cat. 141C)
6. Cartuccia MOCK PIE (n. cat. 610208; opzionale)
7. Forbici pulite (opzionali)
8. Garza (opzionale)

AVVERTENZE E PRECAUZIONI
1. Il test Revogene GBS DS può essere utilizzato solo su Revogene.
2. Non utilizzare il kit se l'etichetta che sigilla la scatola esterna non è integra alla consegna.
3. Non utilizzare le cartucce PIE del kit GBS DS se le buste protettive sono aperte o non sono integre alla consegna.
4. Non scambiare lo strumento DTT, la provetta SBT e la cartuccia PIE con i corrispondenti elementi di altri lotti di kit.
5. Ogni cartuccia PIE e strumento DTT del kit GBS DS può essere utilizzato per elaborare solo un (1) campione. Non riutilizzare la cartuccia PIE o lo strumento DTT.
6. Manipolare sempre i campioni come se fossero infettivi e in conformità alle buone pratiche di laboratorio, ad esempio quelle descritte in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Biosicurezza nei laboratori microbiologici e biomedici)[3] e nel documento M29-A4 del CLSI[4].
7. Durante la manipolazione dei campioni indossare guanti monouso senza talco e subito dopo lavarsi accuratamente le mani.
8. La cartuccia PIE del kit GBS DS contiene reagenti essiccati. La busta protettiva non deve essere aperta fino a quando non si è pronti a eseguire il test.
9. Smaltire materiali, reagenti e rifiuti non utilizzati in conformità alle normative nazionali, federali, provinciali, statali e locali.
10. Non aprire o spezzare la cartuccia PIE dopo l'uso per evitare la contaminazione con prodotti di amplificazione e/o particelle infettive.
11. Non utilizzare una cartuccia PIE in caso di caduta o se è stata agitata o capovolta dopo aver caricato il campione, poiché ciò potrebbe causare risultati non validi.
12. Il test Revogene GBS DS non fornisce risultati di sensibilità. È necessario ulteriore tempo per la coltura di isolati e per eseguire i test di sensibilità raccomandati per le donne allergiche alla penicillina.
13. Non utilizzare kit scaduti.
14. Non refrigerare la cartuccia PIE dopo averla caricata.
15. Ogni serie deve essere eseguita con otto (8) cartucce PIE nel carosello di Revogene per mantenere l'equilibrio termodinamico e meccanico all'interno della serie.

DICHIARAZIONI DI PERICOLO E PRUDENZA
Per le nostre attuali conoscenze, non ci sono rischi associati a questo prodotto.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ
1. I campioni di tampone vaginale/rettale devono essere conservati a 25 C se vengono elaborati entro due (2) giorni dalla raccolta. In alternativa, possono essere conservati a 2-8 C per un massimo di sette (7) giorni.
2. Conservare il kit Revogene GBS DS a 2-25 C. La data di scadenza è riportanta sull'etichetta del kit.
3. Non aprire alcuna busta finché non si è pronti per eseguire i test. Utilizzare la cartuccia PIE entro 1 ora dall'apertura della busta.
4. La provetta SBT inoculata può essere conservata a 25 C per un massimo di due (2) giorni o a 2-8 C per un massimo di tre (3) giorni.

ISTRUZIONI PER L'USO
Per le nostre attuali conoscenze, non ci sono rischi associati a questo prodotto.

RACCOLTA E TRASPORTO DEI CAMPIONI
Tipo di campione: tampone vaginale/rettale prelevato dalla donna in travaglio (*intra partum*).

La raccolta di campioni vaginali/rettali dalla stessa paziente deve essere eseguita in conformità con le linee guida pubblicate per la raccolta di campioni clinici per la coltura di GBS.[1]

1. Raccogliere il tampone vaginale/rettale secondo le linee guida europee[7]:
   a. Inserire il tampone nella vagina inferiore (introito vaginale), quindi nel retto (attraverso lo sfintere anale); è possibile utilizzare lo stesso tampone o due tamponi diversi. Fare attenzione a non mescolare feci, acqua, urina o sapone nel campione.
   b. Collocare il tampone/i tamponi in un terreno di trasporto non nutritivo (Liquid Stuart) subito dopo la raccolta del campione.
2. Etichettare il dispositivo di trasporto con l'identificazione (ID) del campione o del paziente e trasportarlo in laboratorio per l'analisi (consultare la sezione **Conservazione e stabilità**).

PREPARAZIONE E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI
NOTA 1: iniziare l'analisi entro 1 ora dall'apertura della busta contenente la cartuccia PIE.

PREPARAZIONE DELLA PROVETTA SBT
1. Per ogni campione da analizzare, prelevare una SBT dalla confezione del kit
2. Identificare (o etichettare) la provetta SBT con l'ID del campione avendo cura di non coprire o scrivere sul codice a barre. Posizionare la provetta SBT sul rack per campioni, se utilizzato.
3. Svitare il tappo della provetta SBT. Rimuovere il tampone dalla guaina di trasporto e trasferirlo nella provetta SBT. Utilizzando una garza, rompere la parte eccedente dello stelo del tampone tenendo quest'ultimo dallo stelo vicino al bordo della provetta. Sollevare il tampone di alcuni millimetri (mm) dal fondo della provetta e piegare lo stelo contro il bordo della provetta per romperlo. In alternativa, utilizzare delle forbici pulite per tagliare lo stelo. Aprire una (1) provetta SBT alla volta.
4. Reinstallare il tappo della provetta tampone SBT, chiuderlo ermeticamente e ricollocare la provetta SBT sul rack per campioni (se utilizzato).
5. Preparare eventuali campioni aggiuntivi per il test ripetendo i passaggi da 1 a 4, quindi procedere al passaggio 6.
6. Una volta preparati tutti i campioni, procedere con la preparazione della cartuccia PIE del kit GBS DS (sezione successiva).

PREPARAZIONE DELLA CARTUCCIA PIE
NOTA 1: elaborare un (1) campione alla volta.
7. Agitare la provetta SBT su un miscelatore Vortex per 30 secondi alla massima velocità (≥ 3000 giri/min).
8. Aprire la busta della PIE ed estrarre la PIE. Una volta aperta la busta, la cartuccia PIE deve essere utilizzata entro 1 ora.
9. Posizionare la cartuccia PIE sul rack per campioni, se utilizzato, oppure su una superficie piana.
10. Estrarre un DTT dalla confezione del kit. Svitare il tappo della SBT utilizzando il DTT, aspirare l'SB (Sample Buffer) inoculato comprimendo l'intero bulbo. Il livello del liquido nello strumento DTT deve trovarsi in un punto qualsiasi tra i due (2) segni (**Figura 2**). Se il livello del liquido non è tra i due (2) segni, scaricare completamente il tampone per campioni (SB) nella provetta SBT e ripetere questo passaggio.
11. Scaricare completamente il volume del tampone per campioni (SB) contenuto nello strumento DTT nella camera di caricamento del campione della cartuccia PIE (**Figura 1**).
12. Chiudere saldamente il tappo della cartuccia PIE e il tappo della provetta SBT.
13. Ripetere i passaggi da 7 a 12 per ogni ulteriore provetta SBT preparata, quindi passare alla sezione Funzionamento di Revogene.

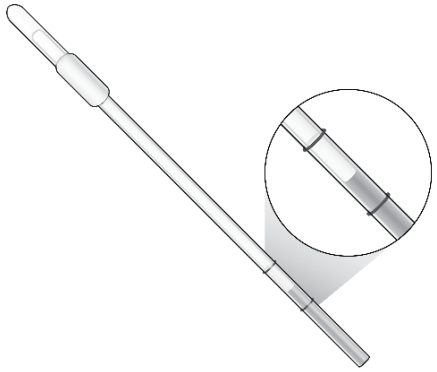

Figura 2. Rappresentazione di un livello adeguato di tampone per campioni (SB) utilizzando lo strumento DTT

FUNZIONAMENTO DI REVOGENE

NOTA 1: eseguire ogni serie con otto (8) cartucce PIE nello strumento Revogene. Quando vengono elaborati meno di otto (8) campioni, riempire i posti vuoti con cartucce MOCK PIE*.
NOTA 2: per ulteriori informazioni sulla configurazione e il funzionamento dello strumento, consultare il Manuale d'uso[5] di Revogene.

1. Accendere Revogene (se non è già acceso). Il software si avvierà automaticamente.
2. Accedere inserendo <**Nome Utente**> e <**Password**>, quindi toccare <**Login**> (Accedi). Il menu principale apparirà automaticamente.
3. Toccare **<Setup Run>** (Imposta serie).
4. Immettere l'ID del campione utilizzando lo scanner di codici a barre o mediante inserimento manuale. Per eseguire l'inserimento manuale, toccare l'icona a forma di **matita** della riga **<Scan or Enter Sample ID>** (Scansioneo immissione ID campione).
5. Immettere i codici a barre della provetta SBT e della cartuccia PIE utilizzando lo scanner di codici a barre di Revogene, posizionando la cartuccia PIE in verticale davanti allo scanner. In alternativa, è possibile immettere manualmente (toccare l'icona a forma di **matita** delle rispettive righe) i codici a barre della provetta SBT e della cartuccia PIE. Maneggiare la cartuccia PIE con cura, senza scuoterla e facendo attenzione a non farla cadere.
6. (Facoltativo) Toccare l'icona a forma di **matita** della riga **<Add Comments>** (Aggiungi commenti) e digitare un commento.
7. Inserire la cartuccia PIE nello strumento Revogene, in qualsiasi posizione del carosello. Il software assocerà automaticamente il campione e la provetta SBT alla cartuccia PIE corretta.
8. Confermare che la cartuccia PIE è stata inserita nello strumento toccando **<OK>** sulla riga **<insert PIE into instrument>** (Inserire PIE nello strumento) e ripetere i passaggi da 4 a 8 per tutti i campioni. Se vengono analizzate meno di otto (8) cartucce PIE, caricare delle cartucce MOCK PIE* nelle posizioni rimanenti del carosello. Quando si inseriscono cartucce MOCK PIE nello strumento Revogene non è richiesta alcuna scansione.
9. Una volta inserite tutte le cartucce PIE nel carosello, toccare **<Next>** (Avanti).
10. Se sono state caricate cartucce MOCK PIE sul carosello, seguire le istruzioni sullo schermo.
11. Eseguire la scansione dell'anello di ritenzione e posizionarlo sul carosello. Chiudere il coperchio dello strumento.
12. Avviare l'esecuzione del test toccando **<Start>** (Avvia). Un timer sullo schermo e le spie sul coperchio di Revogene mostreranno l'avanzamento del test.
13. Conservare la provetta SBT inoculata in condizioni appropriate (consultare la sezione **Conservazione e stabilità**) per ulteriori test ripetuti, se necessario.

* Se le cartucce MOCK PIE non sono disponibili, utilizzare le cartucce PIE inutilizzate del test riempite con tampone per campioni (SB) non inoculato (BLANK) o con controlli esterni.

VISUALIZZAZIONE ED ESPORTAZIONE DEI RISULTATI
NOTA 1: per ulteriori informazioni sull'acquisizione dei risultati del test, consultare il Manuale d'uso[5] di Revogene.

DURANTE L'ESECUZIONE
1. Se le spie sul coperchio di Revogene iniziano a lampeggiare, rappresentano una notifica per un risultato positivo precoce (E-PRO). Inoltre apparirà un'icona sulla barra del titolo della schermata.

   L'icona **E-PRO** include il simbolo "+" e un numero che rappresenta la quantità di risultati positivi disponibili in questo momento (**Figura 3**). Il numero aumenterà se saranno disponibili ulteriori risultati positivi.

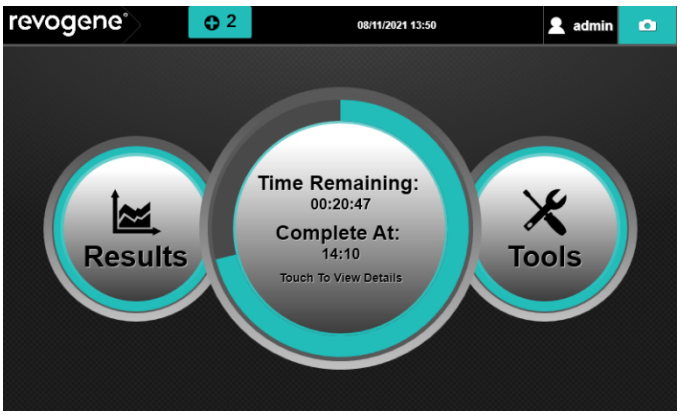

Figura 3. Display del menu principale che mostra l'icona E-PRO

2. Immettere <**Nome Utente**> e <**password**> e toccare <**login**> (Accedi) se l'utente è stato disconnesso dalla sessione corrente.
3. Toccare l'icona **E-PRO**.
4. I risultati della serie corrente vengono automaticamente elencati sullo schermo (**Figura 4**). Per ogni riga di campione ci sarà un simbolo di risultato positivo o un simbolo di operazione in corso. Il simbolo di operazione in corso, costituito da un'animazione circolare, viene visualizzato fino a quando non si ottiene un risultato positivo o non si completa la serie.
5. Toccare un simbolo di risultato positivo per aprire il rapporto provvisorio.
6. (Facoltativo) Toccare <**Export**> (Esporta) e salvare il rapporto provvisorio nella posizione appropriata (ad esempio, chiavetta USB o opzione di connettività).

   Una volta consultata la schermata dei risultati, le notifiche E-PRO scompariranno. Al rilevamento di un ulteriore risultato positivo precoce appariranno nuove notifiche E-PRO.

   Qualsiasi risultato visualizzato nel rapporto provvisorio è definitivo e rimarrà invariato nel rapporto finale del risultato del test.

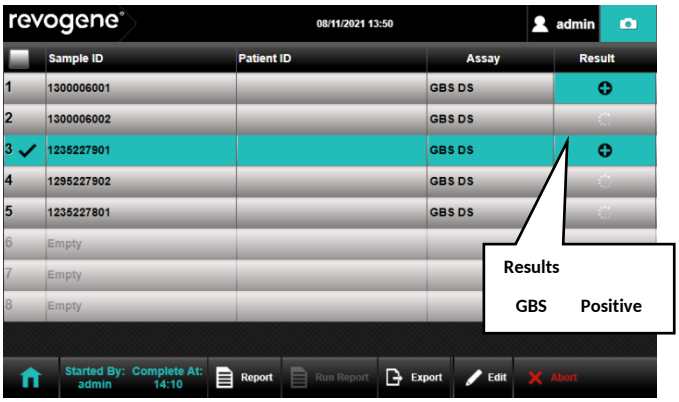

Figura 4. Visualizzazione dei risultati in corso

AL TERMINE DELLA SERIE

7. Una volta completata la serie, il coperchio si apre automaticamente.
8. Se Revogene si è disconnesso, immettere nuovamente **<Nome Utente>** e **<assword>** e toccare **<Login>** (Accedi). Il menu principale apparirà automaticamente.
9. Toccare l'icona **Results** (Risultati) per accedere ai risultati dei test. La finestra **Results** (Risultati) mostra i risultati refertati per ciascun campione (**Figura 5**).
10. Toccare **<Last Run>** (Ultima serie) per visualizzare gli ultimi risultati dei test.

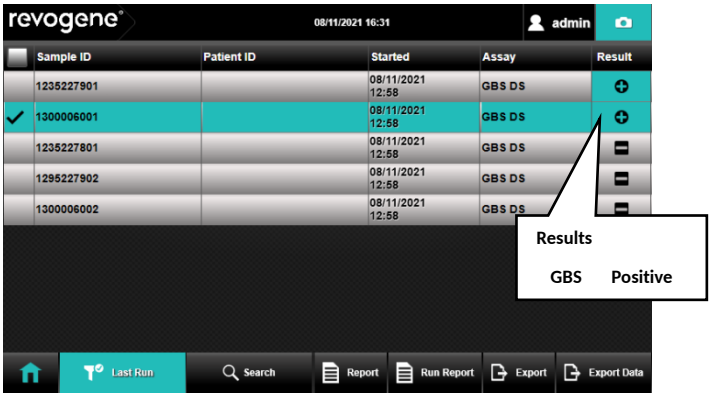

Figura 5. Finestra Results (Risultati) con i risultati refertati per ciascun campione

11. Da **<Last Run>** (Ultima serie), selezionare i campioni per i quali esportare i rapporti sui risultati. È possibile selezionare tutti i campioni in una volta selezionando la casella nell'angolo in alto a sinistra della schermata.
12. Toccare <**Export**> (Esporta) e salvare nella posizione appropriata (ad esempio, chiavetta USB o opzione di connettività).
13. (Facoltativo) Toccare <**Search**> (Cerca) per trovare un campione specifico e il relativo risultato.
14. Rimuovere l'anello di ritenzione e le cartucce PIE dallo strumento Revogene. Le cartucce PIE usate devono essere gettate negli appositi contenitori per rifiuti secondo le prassi standard dell'istituto.

PROCEDURA DI RIPETIZIONE DELL'ANALISI
RISULTATO IRRISOLTO O INDETERMINATO PER UN CAMPIONE
NOTA 1: con l'impostazione *intra partum*, potrebbe non essere possibile ripetere l'analisi; ciò dipenderà dalle pratiche e dalle politiche specifiche di ciascuna struttura. Il coordinamento tra i medici e il laboratorio di analisi è importante per non ritardare la somministrazione di antibiotici mentre i risultati sono in sospeso.

Quando si ottiene un risultato irrisolto (UNR) o indeterminato (IND) per un campione, è necessario ripetere il test dalla corrispondente provetta SBT inoculata entro il periodo di tempo specificato descritto nella sezione **Conservazione e stabilità**. È consentito eseguire solo una (1) ripetizione dell'analisi dalla provetta SBT.

Agitare su Vortex la provetta SBT per un minimo di 30 secondi. Utilizzando una nuova busta, seguire i passaggi da 8 a 13 riportati nella sezione **Preparazione e manipolazione dei campioni / Preparazione della cartuccia PIE**, quindi seguire le istruzioni riportate nella sezione **Funzionamento di Revogene**.

RISULTATO IRRISOLTO, INDETERMINATO, FALSO NEGATIVO O FALSO POSITIVO PER UN CONTROLLO ESTERNO
Quando si ottiene un risultato irrisolto, indeterminato, falso negativo o falso positivo per un controllo esterno, la serie non è valida. È necessario ripetere il test dei campioni inclusi nella serie utilizzando la corrispondente provetta SBT inoculata, insieme a controlli esterni appena preparati, entro il periodo di tempo specificato descritto nella sezione **Conservazione e stabilità**. Per la preparazione di nuovi controlli esterni, fare riferimento alla successiva sezione **Controllo qualità**.

Per la ripetizione dell'analisi utilizzando la corrispondente provetta SBT inoculata, agitarla su Vortex per almeno 30 secondi alla massima velocità. Utilizzando una nuova busta, seguire i passaggi da 8 a 13 riportati nella sezione **Preparazione e manipolazione dei campioni / Preparazione della cartuccia PIE**, quindi seguire le istruzioni riportate nella sezione **Funzionamento di Revogene**.

CONTROLLO QUALITÀ
Le procedure di controllo qualità monitorano l'accuratezza e la precisione del processo analitico. Ciascun laboratorio deve stabilire il numero, il tipo e la frequenza dei materiali di controllo del test secondo le normative applicabili o le agenzie di accreditamento. La procedura descritta di seguito può essere utilizzata eventualmente sulla base di politiche e procedure locali.

CONTROLLO DI PROCESSO
Ogni cartuccia PIE contiene un controllo di processo (PrC) che verifica l'omogeneizzazione e la diluizione del campione, la lisi cellulare, l'inibizione dell'amplificazione del DNA ed eventuali anomalie dei reagenti di analisi.

CONTROLLI ESTERNI
NOTA 1: per la preparazione di ciascun controllo esterno è necessario utilizzare uno strumento DTT, una provetta SBT e una cartuccia PIE diversi.

1. La buona pratica di laboratorio raccomanda l'uso di materiali di controllo. Gli utenti devono attenersi alle linee guida federali, statali e locali pertinenti riguardanti l'esecuzione dei controlli esterni. Si consiglia di eseguire un (1) controllo esterno positivo e un (1) controllo esterno negativo almeno su base giornaliera fino a quando non si ottiene un'adeguata convalida del processo con il test Revogene GBS DS sullo strumento Revogene in ogni ambiente di laboratorio.
2. I materiali di controllo esterno non sono forniti da Meridian Bioscience, Inc. I controlli esterni non vengono utilizzati dal software Revogene ai fini dell'interpretazione dei risultati dei test dei campioni. I controlli esterni vengono trattati come se fossero campioni.
3. Prima di segnalare risultati positivi precoci dei campioni, assicurarsi di avere risultati validi per i controlli esterni positivi e negativi.
4. Come controllo esterno positivo è possibile utilizzare materiale di controllo disponibile in commercio, campione positivo precedentemente caratterizzato o campione negativo addizionato con organismi ben caratterizzati. Il controllo esterno positivo deve essere utilizzato in conformità alle normative applicabili o alle agenzie di accreditamento.
5. Come controllo esterno negativo è possibile utilizzare materiale di controllo disponibile in commercio o un campione negativo precedentemente caratterizzato. Il controllo esterno negativo deve essere utilizzato in conformità alle normative applicabili o alle agenzie di accreditamento.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI
I risultati vengono calcolati da Revogene sulla base di segnali fluorescenti misurati e algoritmi di calcolo integrati e sono disponibili nella finestra “Results” (Risultati) di Revogene. I risultati possibili sono:

Campione	Simbolo	Risultato	Interpretazione
Campione paziente		Positivo	DNA target di GBS rilevato.
		Negativo	DNA target di GBS non rilevato.
		Irrisolto	Errore di amplificazione/rilevamento del controllo di processo e del DNA target di GBS. Potrebbe essere causato da campioni inibitori o da errori relativi alla cartuccia microfluidica o ai reagenti. È necessario ripetere l'analisi (consultare la sezione **Procedura di ripetizione dell'analisi** per ulteriori indicazioni).
		Indeterminato	Nessun risultato refertabile a causa di un possibile errore di rilevamento di Revogene durante l'elaborazione del campione o l'analisi dei dati oppure in caso di interruzione dell'esecuzione da parte dell'utente. È necessario ripetere l'analisi (consultare la sezione **Procedura di ripetizione dell'analisi** per ulteriori indicazioni).
		In corso	Risultati non ancora disponibili.
Controllo esterno positivo		Positivo	Risultato di controllo esterno positivo valido.
		Negativo	Un controllo esterno positivo che produce un risultato negativo è indicativo di un problema di manipolazione/preparazione del campione. **La serie non è valida.** Verificare la tecnica di manipolazione/preparazione dei campioni. È necessario ripetere l'analisi (consultare la sezione **Procedura di ripetizione dell'analisi** per ulteriori indicazioni).
		Irrisolto	Risultato di controllo esterno positivo errato. **La serie non è valida.** È necessario ripetere l'analisi (consultare la sezione **Procedura di ripetizione dell'analisi** per ulteriori indicazioni).
		Indeterminato	Risultato di controllo esterno positivo errato. **La serie non è valida.** È necessario ripetere l'analisi (consultare la sezione **Procedura di ripetizione dell'analisi** per ulteriori indicazioni).
		In corso	Risultati non ancora disponibili.
Controllo esterno negativo		Positivo	Un controllo esterno negativo che produce un risultato positivo è indicativo di un problema di manipolazione del campione e/o di un evento di contaminazione. **La serie non è valida.** Verificare la tecnica di manipolazione dei campioni. È necessario ripetere l'analisi (consultare la sezione **Procedura di ripetizione dell'analisi** per ulteriori indicazioni).
		Negativo	Risultato di controllo esterno negativo valido.
		Irrisolto	Risultato di controllo esterno negativo errato. **La serie non è valida.** È necessario ripetere l'analisi (consultare la sezione **Procedura di ripetizione dell'analisi** per ulteriori indicazioni).
		Indeterminato	Risultato di controllo esterno negativo errato. **La serie non è valida.** È necessario ripetere l'analisi (consultare la sezione **Procedura di ripetizione dell'analisi** per ulteriori indicazioni).
		In corso	Risultati non ancora disponibili.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA
1. Il test Revogene GBS DS deve essere utilizzato solo su Revogene da personale qualificato.
2. Un risultato positivo del test non indica necessariamente la presenza di organismi vitali. Tuttavia, è indicativo per la presenza di DNA di GBS.
3. Utilizzare il test Revogene GBS DS solo per campioni clinici raccolti con Copan Liquid Stuart, n. cat. 141C. L'uso del test Revogene GBS DS per tipi di campioni clinici diversi da quelli specificati non è stato valutato e le caratteristiche di prestazione non sono state accertate.
4. I campioni cervicali, perianali, perirettali o perineali non sono accettabili e per la raccolta di colture non deve essere utilizzato uno speculum.
5. A seguito di errate procedure di raccolta, manipolazione o conservazione dei campioni, errori tecnici o commistione dei campioni possono verificarsi risultati errati del test. Per evitare risultati errati è necessario attenersi scrupolosamente alle istruzioni contenute nel presente inserto, al Manuale d'uso di Revogene[5] e alle linee guida approvate.
6. Se il tappo di una cartuccia PIE viene chiuso in modo errato, possono verificarsi contaminazione o risultati falsi negativi.
7. Sebbene non vi siano ceppi/isolati noti di GBS privi del gene *cfb*, il verificarsi di un tale ceppo porterebbe a un risultato errato (falso negativo) del test Revogene GBS DS.
8. Mutazioni o polimorfismi nelle regioni di legame con primer o sonda possono influire sul rilevamento delle varianti del gene *cfb* di GBS, determinando un risultato falso negativo con il test Revogene GBS DS.
9. I risultati del test Revogene GBS DS devono essere utilizzati in aggiunta alle osservazioni cliniche e ad altre informazioni a disposizione del medico.
10. Un risultato negativo non esclude la possibilità di colonizzazione da GBS. Quando la concentrazione di GBS è inferiore al limite di rilevazione del test, possono verificarsi risultati falsi negativi.
11. Il test non ha lo scopo di differenziare i portatori di GBS da quelli con malattia da streptococco.
12. I risultati del test possono essere influenzati dalla terapia antimicrobica concomitante poiché il DNA di GBS potrebbe continuare ad essere rilevato.
13. Lozioni idratanti (ad esempio Aveeno®), sangue intero o meconio possono potenzialmente interferire con il test Revogene GBS DS qualora una di queste sostanze fosse presente nel tampone di campionamentoa una concentrazione > 6,50E-3% (p/v o v/v).
14. Le sostanze fungicide (ad esempio Micatin®) o il liquido amniotico possono potenzialmente interferire con il test Revogene GBS DS qualora una di queste sostanze fosse presente nel tampone di campionamento a una concentrazione > 0,065% (p/v o v/v).
15. Farmaci per la gastrite (ad esempio Tums®) a una concentrazione > 3,48E-6% (p/v), farmaci antidiarroici (ad esempio Imodium®) a una concentrazione > 1,50E-6% (p/v), farmaci antidiarroici (ad esempio Pepto Bismol™) a una concentrazione > 1,95E-3% (p/v) o lassativi (ad esempio Senokot®) a una concentrazione > 3,19E-7% (p/v), possono potenzialmente interferire con il test Revogene GBS DS qualora una di queste sostanze fosse presente nel tampone di campionamento.
16. Prodotti in polvere per il corpo (polvere deodorante Vagisil®) alla concentrazione più bassa testata, 6,50E-05% (p/v), hanno presentato un effetto inibitorio sulla rilevazione dei ceppi di GBS.

VALORI ATTESI
Durante la valutazione clinica del test Revogene GBS DS, sono stati ottenuti un totale di 462 risultati refertabili da campioni conformi al livello di coltura del metodo di riferimento. Nel complesso, il tasso di prevalenza di GBS è stato del 26,4% (112 su 462) con un IC al 95% del 22,5-30,9%.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI CLINICHE
Per valutare le prestazioni cliniche del test Revogene GBS DS è stato condotto uno studio presso la sede di Meridian Bioscience Canada, Inc. Sono stati raccolti prospetticamente un totale di 462 tamponi vaginali/rettali *intra partum* da donne in gravidanza in due (2) siti canadesi. Sono stati utilizzati solo i campioni che soddisfacevano i criteri di inclusione dello studio e che non soddisfacevano nessuno dei criteri di esclusione. Sono stati campionati e analizzati due (2) tamponi per paziente. Il primo è stato analizzato con il metodo di coltura di riferimento mentre il secondo è stato scaricato in un tampone per campioni (SB) e congelato a -70 C prima di eseguire il test Revogene GBS DS su Revogene. Di questi 462 campioni, 422 sono stati analizzati con il test Revogene GBS DS presso la sede di Meridian Bioscience Canada, Inc., mentre i restanti 40 campioni non erano disponibili per il test.

Il metodo di coltura di riferimento è stato eseguito da uno (1) dei siti canadesi. Il metodo di coltura di riferimento consisteva nel trasferimento di un tampone vaginale/rettale nella coltura di arricchimento del brodo LIM seguito da una sottocultura su una piastra di agar sangue non selettiva. L'identità delle colonie morfologicamente simili al GBS della piastra di agar sangue è stata confermata mediante gli antisieri del gruppo streptococcico di gruppo B e/o il test CAMP.

I valori di sensibilità, specificità, valore predittivo positivo (VPP) e valore predittivo negativo (VPN) sono stati calcolati confrontando i risultati del test Revogene GBS DS con il metodo di coltura di riferimento. L'analisi discrepante è stata eseguita dal sito che ha eseguito il metodo di coltura di riferimento. Una parte dei campioni con risultati discordanti tra il test Revogene GBS DS e il metodo di coltura è stata analizzata con un secondo metodo NAAT (Nucleic Acid Amplification Test).

Risultati
Le caratteristiche di prestazione generali del test Revogene GBS DS hanno dimostrato una sensibilità del 96,4% (107/111; IC al 95%: 91,1-98,6%) e una specificità dell'89,9% (277/308; IC al 95%: 86,1-92,8%). I risultati delle prestazioni di questo studio sono riassunti nella **Tabella 1**.

Dei 422 campioni analizzati con il test Revogene GBS DS e risultati conformi a livello di campione e PCR, cinque (5) (1,2%) sono stati refertati come irrisolti al test iniziale. La percentuale di campioni irrisolti dopo la ripetizione dell'analisi era dello 0,7% (3/422).

Degli stessi 422 campioni analizzati con il test Revogene GBS DS, uno (1) (0,2%) è stato inizialmente refertato come indeterminato. Nessun risultato è rimasto indeterminato dopo la ripetizione dell'analisi.

Tabella 1. Caratteristiche di prestazione generali del test GBS DS rispetto al metodo di riferimento

		Metodo di riferimento		
		Positivo	**Negativo**	**Totale**
Test GBS DS	**Positivo**	107	31[B]	138
	Negativo	4[A]	277	281
	Totale	111	308	419
Sensibilità		96,4% (107/111; IC al 95%: 91,1-98,6%)		
Specificità		89,9% (277/308; IC al 95%: 86,1-92,8%)		
Valore predittivo positivo		77,5% (107/138; IC al 95%: 69,9-83,7%)		
Valore predittivo negativo		98,6% (277/281; IC al 95%: 96,4-99,4%)		

[A] Due (2) campioni sono stati analizzati utilizzando un secondo metodo NAAT; il DNA di GBS è stato rilevato in uno (1) su due (2) campioni falsi negativi.
[B] Quindici campioni sono stati analizzati utilizzando un secondo metodo NAAT; il DNA di GBS è stato rilevato in 13 su 15 campioni falsi positivi.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI ANALITICHE

SENSIBILITÀ ANALITICA
La sensibilità analitica (limite di rilevazione o LoD) del test Revogene GBS DS è stata determinata utilizzando una matrice simulata, arricchita con varie concentrazioni di sospensioni batteriche di GBS. Tre (3) ceppi di GBS (ATCC® 12403™, ATCC® 13813™ e ATCC® BAA-22™) sono stati analizzati in 24 replicati per concentrazione. Il LoD è la concentrazione più bassa alla quale il 95% di tutti i replicati è risultato positivo.

Per quanto riguarda i tre (3) ceppi analizzati, il LoD del test GBS DS in matrice simulata variava da 375 a 1500 CFU/mL di tampone per campioni (SB). I risultati sono riassunti nella **Tabella 2**. L'equivalenza del LoD è stata dimostrata tra la matrice clinica del tampone vaginale/rettale precedentemente analizzata e negativa al GBS e la matrice simulata con i ceppi ATCC® 12403™ e ATCC® 13813™.

Tabella 2. LoD del test Revogene GBS DS

Ceppo GBS (numero ATCC®)	**LoD in matrice simulata (CFU/mL di SB)**
Serotipo III (ATCC® 12403™)	750
Serotipo III (ATCC® BAA-22™)	1500
Non emolitico (ATCC® 13813™)	375

INCLUSIVITÀ
L'inclusività del test Revogene GBS DS è stata determinata per 13 ceppi di GBS che rappresentano 11 sierotipi noti e un (1) ceppo non emolitico. Dieci (10) ceppi sono stati analizzati da una coltura cellulare quantificata in presenza di matrice simulata negativa per GBS con un carico di 1125 CFU/mL di SB, corrispondente a tre (3) volte il valore LoD del ceppo ATCC® 13813™. Sono stati analizzati tre (3) replicati per ceppo utilizzando tre (3) lotti di kit GBS DS diversi. Sono stati rilevati sei (6) ceppi con positività al 100% (in 3/3 replicati) mediante il test Revogene GBD DS a un carico di 1125 CFU/mL di SB. Sono stati rilevati due (2) ceppi (ATCC® 51487™ e ATCC® BAA-2669™) con positività al 100% a un carico di 1875 CFU/mL di SB. I ceppi ATCC® 27591™ e ATCC® 12973™ sono stati rilevati con positività al 100% a un carico rispettivamente di 2625 CFU/mL di SB e 15000 CFU/mL di SB. I ceppi analizzati sono descritti nella **Tabella 3**.

Tabella 3. Ceppi GBS analizzati per l'inclusività con il test Revogene GBS DS

Ceppo GBS	**Sierotipo**
ATCC® 12400™	Ia
ATCC® 51487™	Ib
ATCC® 27591™	Ic
ATCC® 12973™	II
ATCC® 12403™ [1]	III
ATCC® BAA-22™ [1]	III
ATCC® 49446™	IV
ATCC® BAA-611™	V
ATCC® BAA-2671™	VI
ATCC® BAA-2670™	VII
ATCC® BAA-2669™	VIII
ATCC® BAA-2668™	IX
ATCC® 13813™ [1]	Non emolitico

[1] Ceppi utilizzati per la determinazione del LoD e quindi non rianalizzati

Inoltre, è stata eseguita un'analisi *in silico* per valutare l'inclusività dei primer e delle sonde del target del test Revogene GBS DS relativo a 36 ulteriori ceppi GBS elencati nel database del National Center for Biotechnology Information (NCBI) del 20 ottobre 2016. I risultati dell'allineamento non hanno mostrato alcuna discrepanza con le sequenze selezionate. L'analisi ha previsto il rilevamento di tutti questi ceppi di GBS.

REATTIVITÀ CROCIATA

La reattività crociata del test Revogene GBS DS è stata valutata con elevati carichi di organismi non bersaglio del test, filogeneticamente correlati al GBS o presenti nella normale flora urogenitale e nel tratto intestinale. Lo studio includeva 64 batteri, quattro (4) lieviti, quattro (4) virus, due (2) parassiti e DNA umano (**Tabella 4**). Batteri e lieviti sono stati analizzati con un carico ≥ 10^6 CFU/mL di SB. Gli acidi nucleici da virus, parassiti e DNA umano sono stati analizzati con un carico ≥ 10^5 copie di DNA o RNA/mL di SB. Questi organismi sono stati analizzati utilizzando colture cellulari quantitative o soluzioni di acido nucleico in presenza di matrice simulata negativa per GBS. Sono stati analizzati tre (3) replicati per organismo utilizzando tre (3) lotti di kit GBS DS diversi.

Nelle condizioni dello studio, nessuno degli organismi o acidi nucleici analizzati è stato rilevato dal test Revogene GBS DS.

Tabella 4. Elenco di organismi analizzati per reattività crociata con il test Revogene GBS DS

Batteri	
Acinetobacter baumannii	*Mycoplasma genitalium* (gDNA)
Aerococcus viridans	*Mycoplasma hominis* (gDNA)
Aeromonas hydrophila	*Neisseria gonorrhoeae*
Bacillus cereus	*Peptostreptococcus anaerobius*
Bacillus subtilis	*Porphyromonas asaccharolytica*
Bacteroides fragilis	*Prevotella melaninogenica*
Bifidobacterium adolescentis	*Propionibacterium acnes*
Bifidobacterium breve	*Proteus mirabilis*
Brevibacterium linens	*Pseudomonas aeruginosa*
Campylobacter jejuni	*Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin*
Chlamydia trachomatis (gDNA)	*Salmonella enterica subsp. enterica serovar Minneapolis*
Citrobacter freundii	*Salmonella enterica subsp. enterica serovar typhimurium*
Clostridium difficile	*Salmonella enterica subsp. enterica serovar Newport*
Clostridium perfringens	*Serratia marcescens*
Corynebacterium genitalium	*Shigella sonnei*
Enterobacter aerogenes	*Staphylococcus aureus*
Enterobacter cloacae	*Staphylococcus aureus (Cowan)*
Enterococcus avium	*Staphylococcus epidermidis*
Enterococcus dispar	*Staphylococcus saprophyticus*
Enterococcus durans	*Streptococcus anginosus*
Enterococcus faecalis	*Streptococcus bovis*
Enterococcus faecium	*Streptococcus dysgalactiae subsp. disgalactiae*
Escherichia coli	*Streptococcus dysgalactiae equisimilis*
Escherichia fergusonii	*Streptococcus intermedius*
Gardnerella vaginalis	*Streptococcus oralis*
Klebsiella oxytoca	*Streptococcus pneumoniae*
Klebsiella pneumoniae	*Streptococcus pyogenes*
Lactobacillus acidophilus	*Streptococcus salivarius*
Lactobacillus brevis	*Streptococcus sanguinis*
Lactobacillus casei	*Streptococcus uberis*
Lactobacillus delbreuckii	*Ureaplasma urealyticum* (gDNA)
Lactobacillus jensenii	*Yersinia enterocolitica*
Lieviti	
Candida albicans	*Candida parapsilosis*
Candida glabrata	*Candida tropicalis*
Virus	
HerpesSimplexVirus-1 (gDNA)	*Norovirus* GII (synthetic RNA)
HerpesSimplexVirus-2 (gDNA)	Papillomavirus umano (gDNA)
Parassiti	
Blastocystis hominis (gDNA)	*Trichomonas vaginalis* (gDNA)
DNA umano	
DNA umano (gDNA)	-

Inoltre, è stata eseguita un'analisi *in silico* per valutare la reattività crociata dei primer e delle sonde del test Revogene GBS DS verso 62 organismi aggiuntivi potenzialmente presenti nel tratto urogenitale e intestinale (**Tabella 5**). L'analisi è stata eseguita su tutte le sequenze di questi 62 organismi contenute nel database del National Center for Biotechnology Information (NCBI) il 24 gennaio 2017. L'analisi ha suggerito che nessuno di questi organismi dovrebbe essere reattivo con il test Revogene GBS DS.

Tabella 5. Elenco di organismi verificati mediante analisi di reattività crociata *in silico* con primer e sonde del test Revogene GBS DS

Batteri	
Abiotrophia defectiva	*Listeria monocytogenes*
Achromobacter xylosoxidans	*Micrococcus luteus*
Alcaligenes faecalis	*Mobiluncus mulieris*
Campylobacter fetus	*Moraxella catarrhalis*
Chromobacterium violaceum	*Moraxella lacunata*
Clostridium bifermentans	*Moraxella osloensis*
Clostridium butyricum	*Morganella morganii*
Clostridium novyi	*Mycobacterium smegmatis*
Clostridium septicum	*Neisseria flava*
Clostridium sordelli	*Neisseria flavescens*
Clostridium sporogenes	*Neisseria lactamica*
Corynebacterium urealyticum	*Neisseria meningitidis*
Corynebacterium xerosis	*Neisseria perflava*
Deinococcus radiodurans	*Plesiomonas shigelloides*
Derxia gummosa	*Proteus vulgaris*
Eikenella corrodens	*Providencia stuartii*
Enterococcus gallinarum	*Pseudomonas fluorescens*
Gemella haemolysans	*Pseudomonas putida*
Haemophilus ducreyi	*Rhodospirillum rubrum*
Hemophilus influenzae	*Serratia liquefaciens*
Haemophilus influenzae tipo B	*Shigella boydii*
Helicobacter pylori	*Shigella flexneri*
Kingella denitrificans	*Staphylococcus simulans*
Kingella kingae	*Stenotrophomonas maltophilia*
Legionella pneumophila	*Streptococcus gordonii*
Streptococcus mitis	*Vibrio parahaemolyticus*
Streptococcus mutans	-
Muffa/lievito	
Cryptococcus neoformans	*Saccharomyces cerevisiae*
Virus	
Adenovirus 40	*Echovirus*
Adenovirus 41	*Virus di Epstein-Barr*
Virus BK	*Rotavirus*
Coxsackievirus	-

ORGANISMI DI INTERFERENZA

L'effetto potenzialmente inibitorio di 29 organismi non bersaglio che possono essere presenti nella flora urogenitale e nel tratto intestinale è stato valutato utilizzando organismi selezionati dallo studio di cross-reattività (**Tabella 4**). La selezione degli organismi si basava sulla loro prevalenza nella flora vaginale/rettale. Sono stati analizzati in triplicato gruppi da uno (1) a cinque (5) organismi con 1125 CFU/mL di SB contenenti il ceppo GBS ATCC® 13813™, 4500 CFU/mL di SB contenenti il ceppo GBS ATCC® BAA-22™ o campioni negativi per GBS in presenza di matrice simulata negativa per GBS per valutare la loro potenziale interferenza sul rilevamento di GBS o PrC. Ogni organismo all'interno di un gruppo è stato diluito in modo da raggiungere un carico ≥ 10^6 CFU/mL o copie/mL di SB per batteri e lieviti, e ≥ 10^5 copie/mL di SB per virus e parassiti. I 29 organismi inclusi nello studio sono riportati nella **Tabella 6**.

Tabella 6. Elenco di organismi analizzati per interferenze con il test Revogene GBS DS

Gruppo 1	
Acinetobacter baumannii	*Enterococcus faecalis*
Bacillus subtilis	*Enterococcus faecium*
Bacteroides fragilis	
Gruppo 2	
Campylobacter jejuni	*Escherichia coli*
Clostridium difficile	*Gardnerella vaginalis*
Corynebacterium genitalium	
Gruppo 3	
Klebsiella oxytoca	*Peptostreptococcus anaerobius*
Lactobacillus acidophilus	*Propionibacterium acnes*
Neisseria gonorrhoeae	
Gruppo 4	
Pseudomonas aeruginosa	*Shigella sonnei*
Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin	*Staphylococcus aureus*
Serratia marcescens	
Gruppo 5	
Staphylococcus epidermidis	*Yersinia enterocolitica*
Streptococcus pyogenes	*Candida albicans*
Gruppo 6	
Chlamydia trachomatis	Papillomavirus umano (gDNA)
Herpes Simplex Virus-1 (gDNA)	*Trichomonas vaginalis*
Gruppo 7	
Mycoplasma genitalium (gDNA)	

Nessuno dei 29 organismi presenti a ≥ 10^6 CFU/mL o copie/mL di SB per batteri e lieviti e ≥ 10^5 copie/mL di SB per virus e parassiti ha interferito con il rilevamento di PrC e con il rilevamento dei due (2) ceppi di GBS (ATCC® 13813™ e ATCC® BAA-22™).

SOSTANZE INTERFERENTI

L'effetto potenzialmente inibitorio di 22 sostanze esogene e otto (8) endogene che possono essere presenti nella flora urogenitale e nel tratto intestinale è stato valutato utilizzando campioni negativi per GBS e i ceppi GBS ATCC® 13813™ e ATCC® BAA-22™ contenenti campioni con tre (3) volte il rispettivo LoD (rispettivamente 1125 CFU/mL di SB o 4500 CFU/mL di SB) in presenza di matrice simulata negativa per GBS. Le sostanze sono state analizzate a una concentrazione fisiologicamente rilevante pari a quella che potrebbe essere trovata in un campione vaginale/rettale o a una concentrazione più elevata. I risultati per le 30 sostanze sono riportati nella **Tabella 7**.

I risultati hanno dimostrato che sostanze fungicide (ad esempio Micatin®), prodotti in polvere per il corpo (ad esempio polvere deodorante Vagisil®), lozioni idratanti (ad esempio Lozione idratante Aveeno®), farmaci per la gastrite (ad esempio Tums®), farmaci antidiarroici (Imodium®, Pepto Bismol™), lassativi (Senokot®), sangue intero, liquido amniotico e meconio hanno mostrato un effetto potenzialmente inibitorio sulla rilevazione di ceppi di PrC o GBS quando una di queste sostanze era presente nella provetta SBT a concentrazioni superiori a quelle presentate nella **Tabella 7**. Se analizzate alla concentrazione riportata nella **Tabella 7**, tutte queste sostanze, ad eccezione della polvere per il corpo, non hanno mostrato interferenze refertabili con il test Revogene GBS DS. La polvere per il corpo alla concentrazione più bassa analizzata, 6,50E-05% (p/v), ha presentato un effetto inibitorio sulla rilevazione dei ceppi di GBS.

Tabella 7. Elenco di sostanze esogene ed endogene analizzate con il test Revogene GBS DS

Sostanze esogene	
Sostanza (nome commerciale)	**Concentrazione in SB senza interferenze osservate[1]**
Fungicida (Micatin®)	0,065% p/v*
Gel lenitivo per emorroidi (Preparazione H®)	6,50% p/v
Gel lubrificante (K-Y® lubrificante personale)	0,65% p/v
Polvere per il corpo (Vagisil® polvere deodorante)	Concentrazione non determinata*
Lozione idratante (Aveeno® lozione idratante)	6,50E-03% p/v*
Olio per il corpo (Neutrogena® olio per il corpo)	6,50% v/v
Deodorante spray (Summer's Eve™ Spray)	6,50% v/v
Clisteri (Life BRAND™ Heavy Mineral Oil USP)	6,50% v/v
Antimicrobici (Canesten®)	6,50% p/v
Clisteri (Pentasa)	1,43E-03% p/v
Composti orali per radiologia (Solfato di bario)	7,50E-04% p/v
Farmaci per la gastrite (Nexium)	7,50E-04% p/v
Antimicrobici (Flagyl)	4,64E-04% p/v
Antinfiammatorio non steroideo (Aleve®)	2,04E-03% p/v
Antimicrobici (DIFLUCAN® One)	5,57E-05% p/v
Farmaci per la gastrite (Tums®)	3,48E-06% p/v*
Farmaci antidiarroici (Imodium®)	1,50E-06% p/v*
Farmaci antidiarroici (Pepto Bismol™)	1,95E-03% p/v*
Lassativi (Senokot®)	3,19E-07% p/v*
Spermicida (Trojan® preservativi lubrificati con spermicida)	0,65% v/v
Salviette inumidite (Equate™ Salviette umide lavabili)	6,50% v/v
Salviette inumidite (Wet Ones®)	0,65% v/v
Sostanze endogene	
Sostanza	**Concentrazione in SB senza interferenze osservate[1]**
Sangue intero	6,50E-03% v/v*
Leucociti	1,00E+06 cellule/mL
Liquido amniotico	0,065% v/v*
Fluido seminale	6,50% v/v
Urina	6,50% v/v
Feci	0,65% v/v
Meconio	6,50E-03% p/v*
DNA umano	1,55E+03 ng/mL

[1] % P/V: Peso/Volume (mg/mL); % V/V: Volume/Volume (µL/mL);
* Concentrazioni superiori ai valori qui indicati possono causare interferenze (vedere le limitazioni riportate in precedenza).

PRECISIONE/RIPRODUCIBILITÀ

Lo studio di riproducibilità tra laboratori è stato condotto in tre (3) laboratori presso la sede di Revogene da due (2) operatori per laboratorio, per cinque (5) giorni distinti, utilizzando un (1) lotto di kit GBS DS (vedere la **Tabella 8**). I risultati del laboratorio 1 per cinque (5) giorni sono stati utilizzati per lo studio di precisione (vedere la **Tabella 8**).

Lo studio di riproducibilità tra lotti è stato condotto su un (1) laboratorio da due (2) operatori, per cinque (5) giorni, utilizzando tre (3) lotti di kit GBS DS (vedere la **Tabella 9**).

Per gli studi di riproducibilità e precisione, sono stati analizzati in totale 60 replicati di campioni negativi e 90 replicati di ciascuna categoria di campioni positivi, tutti preparati in una matrice simulata negativa per GBS. Il ceppo GBS ATCC® 13813™ (non emolitico) è stato utilizzato per i campioni positivi.

Le categorie di campioni erano descritte nel modo seguente:
- Basso positivo (LP): 1,95 x LoD o 731 CFU/mL di SB
- Positivo moderato (MP): 3 x LoD o 1125 CFU/mL di SB
- Vero negativo (TN): campioni senza target di GBS

Per la riproducibilità tra laboratori, l'accordo percentuale complessivo era del 100% per TN, 98,8% per MP e 96,7% per LP di ceppo GBS ATCC® 13813™ (**Tabella 8**). Per lo studio di precisione, l'accordo percentuale complessivo era del 100% per TN, 96,7% per MP e 96,7% per LP di ceppo GBS ATCC® 13813™ (**Tabella 8, Laboratorio 1**). Per la riproducibilità tra lotti, l'accordo percentuale complessivo era del 100% per TN, 97,8% per MP e 92,2% per LP di ceppo GBS ATCC® 13813™ (**Tabella 9**). I valori medi globali della soglia del ciclo (Ct) con componente di varianza (%CV) sono riportati nella **Tabella 8** e nella **Tabella 9**. Il riepilogo dei risultati globali dello studio di riproducibilità (risultati combinati tra laboratori e tra lotti) è mostrato nella **Tabella 10**.

Tabella 8. Risultati dello studio di riproducibilità tra laboratori e di precisione utilizzando un (1) lotto di kit di test GBS DS

Laboratorio 1, strumento 1, lotto 1				
ID panello	**Risultati/Totale**	**% accordo[1]**	**Media Ct[2]**	**%CV Ct**
LP	29/30	96,7%	38,2	5,6
MP	29/30	96,7%	37,3	4,2
TN	20/20	100%	30,2	3,1
Laboratorio 2, strumento 2, lotto 1				
ID panello	**Risultati/Totale**	**% accordo[1]**	**Media Ct[2]**	**%CV Ct**
LP	28/30	93,3%	36,7	2,9
MP	30/30	100%	36,9	4,7
TN	20/20	100%	32,5	3,1
Laboratorio 3, strumento 3, lotto 1				
ID panello	**Risultati/Totale**	**% accordo[1]**	**Media Ct[2]**	**%CV Ct**
LP	30/30	100%	37,9	5,5
MP	30/30	100%	36,4	3,7
TN	20/20	100%	30,1	1,8
Globale				
ID panello	**Risultati/Totale**	**% accordo[1]**	**Media Ct[2]**	**%CV Ct**
LP	87/90	96,7%	37,6	5,1
MP	89/90	98,8%	36,9	4,3
TN	60/60	100%	30,9	4,6

[1] Per la categoria TN, l'accordo percentuale è stato calcolato per i risultati negativi.
[2] Per le categorie LP e MP, i valori Ct refertati sono per il target di GBS. Per la categoria TN, i valori Ct refertati sono per il PrC.

Tabella 9. Risultati dello studio di riproducibilità tra lotti utilizzando tre (3) lotti di kit del test GBS DS

Laboratorio 1, strumento 1, lotto 1				
ID panello	**Risultati/Totale**	**% accordo[1]**	**Media Ct[2]**	**%CV Ct**
LP	29/30	96,7%	38,2	5,6
MP	29/30	96,7%	37,3	4,2
TN	20/20	100%	30,2	3,1
Laboratorio 1, strumento 1, lotto 2				
ID panello	**Risultati/Totale**	**% accordo[1]**	**Media Ct[2]**	**%CV Ct**
LP	26/30	86,7%	38,6	6,1
MP	29/30	96,7%	37,0	4,8
TN	20/20	100%	29,9	2,6
Laboratorio 1, strumento 1, lotto 3				
ID panello	**Risultati/Totale**	**% accordo[1]**	**Media Ct[2]**	**%CV Ct**
LP	28/30	93,3%	37,1	3,5
MP	30/30	100%	38,0	5,7
TN	20/20	100%	29,9	2,6
Globale (tutti i lotti)				
ID panello	**Risultati/Totale**	**% accordo[1]**	**Media Ct[2]**	**%CV Ct**
LP	83/90	92,2%	37,9	5,4
MP	88/90	97,8%	37,4	5,0
TN	60/60	100%	30,0	2,8

[1] Per la categoria TN, l'accordo percentuale è stato calcolato per i risultati negativi.
[2] Per le categorie LP e MP, i valori Ct refertati sono per il target di GBS. Per la categoria TN, i valori Ct refertati sono per il PrC.

Tabella 10. Riepilogo dei risultati dello studio di riproducibilità (risultati combinati tra laboratori e tra lotti)

Risultati combinati di tutti i laboratori e lotti				
ID panello	**Risultati/Totale**	**% accordo[1]**	**Media Ct[2]**	**%CV Ct**
LP	141/150	94,0%	37,7	5,2
MP	148/150	98,7%	37,1	4,8
TN	100/100	100%	30,5	4,2

[1] Per la categoria TN, l'accordo percentuale è stato calcolato per i risultati negativi.
[2] Per le categorie LP e MP, i valori Ct refertati sono per il target di GBS. Per la categoria TN, i valori Ct refertati sono per il PrC.

DOCUMENTAZIONE ONLINE

La documentazione relativa a questo prodotto è accessibile online all'indirizzo www.meridianbioscience.com/pi. Inoltre, sono disponibili su richiesta le copie cartacee, contattando il distributore locale o tramite i numeri di telefono elencati sulla confezione del kit.

FRANÇAIS

revogene®

GBS DS

Pour utilisation avec le Revogene®

REF **410100**

IVD **Utilisation diagnostique *in vitro***

BUT DE LA MÉTHODE

Le test Revogene® GBS DS réalisé avec l'instrument Revogene® est un test de diagnostic *in vitro* qualitatif conçu pour détecter l'ADN du *Streptocoque* du groupe B (SGB) dans des frottis vaginaux/rectaux prélevés sur des femmes enceintes. Le test Revogene GBS DS utilise le traitement automatisé d'échantillon et la réaction en chaîne par polymérase (PCR) en temps réel pour détecter une séquence du gène *cfb* spécifique au génome du *Streptococcus agalactiae*.

Le test Revogene GBS DS est indiqué pour l'identification d'une colonisation *intrapartum* du SGB et ne fournit pas de résultats de sensibilité. Il n'est pas prévu pour diagnostiquer ni surveiller le traitement d'une infection par SGB. Des isolats de culture sont nécessaires pour effectuer les tests de sensibilité tels que recommandés chez les femmes allergiques à la pénicilline.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Le *streptocoque* de groupe B est une bactérie à Gram positif que l'on trouve fréquemment dans les voies gastro-intestinales, génitales et urinaires d'adultes en bonne santé. 10 à 30 % environ de toutes les femmes enceintes sont porteuses de colonies de SGB dans le vagin ou le rectum.[1]

Les mères colonisées par le SGB ne présentent typiquement aucun symptôme ni effet sur leur santé. Toutefois, cette bactérie peut être transmise au nouveau-né principalement pendant l'accouchement et la naissance (*intrapartum*) [2] et peut être associée à de graves maladies pour les nouveau-nés telles que la septicémie, la pneumonie et la méningite. Le taux de mortalité évalué pour les nourrissons atteints d'une maladie streptococcique de groupe B précoce (pendant la première semaine de vie) est actuellement compris entre 4 % et 6 %.[1] Les nourrissons qui y survivent peuvent être affectés d'incapacités à long terme tels qu'une perte de l'audition, une perte de vision ou un retard mental.[2]

La directive actuelle visant à éviter les maladies du SGB néonatales consiste à dépister les femmes enceintes à 35-37 semaines de gestation (*antepartum*) afin de déterminer leur état de colonisation par SGB. La plupart des tests du SGB se réalisent par culture et peuvent prendre jusqu'à 48 heures pour une identification définitive du SGB après les 18 à 24 heures initiales d'incubation du frottis vaginal/rectal dans un milieu liquide sélectif.

Si l'état de colonisation est positif, une prophylaxie antibiotique *intrapartum* (PAI) est donnée aux femmes afin d'éviter la maladie périnatale causée par le streptocoque de groupe B. Toutefois, la colonisation par SGB peut être intermittente pendant la grossesse, ce qui entraîne une corrélation insuffisante entre les résultats du dépistage anténatal et la colonisation par SGB *intrapartum*.[6] De plus, le dépistage *antepartum* exclut les femmes qui accouchent avant terme ou celles qui arrivent à l'hôpital sans état connu. Par conséquent, il est possible que la colonisation par SGB de certaines femmes ne soit pas traitée de manière appropriée tandis que d'autres femmes peuvent être traitées inutilement avec des antibiotiques.[7]

Le test GBS DS peut fournir des résultats pour un (1) à huit (8) échantillons dès 40 minutes pour les échantillons positifs et en 70 minutes environ pour les échantillons négatifs, en utilisant directement les échantillons des frottis recueillis sur les femmes en train d'accoucher (*intrapartum*). Ce test permet de réduire l'intervention de l'opérateur entre le moment où la cartouche microfluidique jetable à usage unique (que nous appellerons PIE à partir de maintenant) contenant l'échantillon est placée dans le carrousel du Revogene jusqu'au moment où les résultats sont disponibles.

PRINCIPES DE LA PROCÉDURE

Le test Revogene GBS DS s'effectue à l'aide de l'instrument Revogene qui automatise l'homogénéisation et la dilution de l'échantillon, la lyse cellulaire, l'amplification de l'ADN et la détection des produits amplifiés par PCR. L'intervention de l'utilisateur n'est requise que pour placer l'échantillon de la patiente dans le tube de tampon pour échantillon (TTE), transférer l'échantillon du TTE au PIE et insérer les PIEs dans le carrousel du Revogene.

Chaque PIE est un dispositif entièrement intégré et fermé où un échantillon est placé et traité par le biais de différentes chambres et canaux microfluidiques qui permettent le traitement de l'échantillon (c'est-à-dire l'homogénéisation et la dilution de l'échantillon, la lyse cellulaire et l'extraction de l'ADN) et les étapes de PCR en temps réel qui s'ensuivent (**Figure 1**). Le liquide d'un échantillon unique est transféré par centrifugation d'une (1) chambre à la suivante en suivant une séquence déterminée et tous les réactifs spécifiques à la réaction PCR sont incorporés et séchés à l'intérieur du puits de PCR. Un contrôle de procédé (PrC) est incorporé dans chaque PIE pour vérifier les étapes de traitement et d'amplification de l'échantillon, y compris la vérification de substances inhibitrices potentielles, ainsi que les défaillances microfluidiques, de l'instrument ou du réactif. Les produits amplifiés se détectent en temps réel à l'aide de sondes basées sur la chimie TaqMan® spécifiques à la cible. Aucune intervention n'est nécessaire de la part de l'opérateur dès qu'un PIE est chargé dans le Revogene.

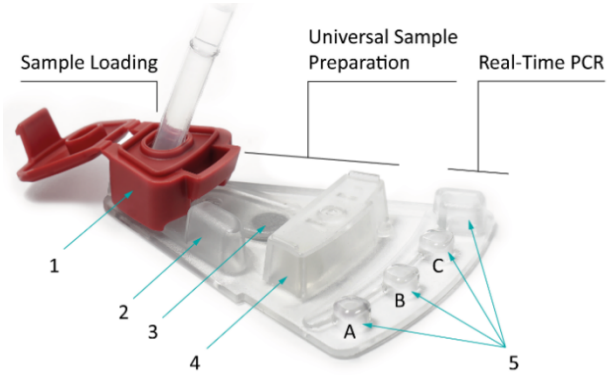

Figure 1. Vue du dessus d'un PIE.
1 : Chambre de chargement de l'échantillon, 2 : Chambre de trop-plein,
3 : Chambre d'homogénéisation contenant le PrC,
4 : Chambre de dilution/lyse, 5 : Trois (3) puits de PCR (A à C de gauche à droite) et une (1) chambre à déchets (à l'extrême droite).

Le Revogene peut traiter de un (1) à huit (8) échantillons simultanément dans la même série d'analyse. Le carrousel doit contenir huit (8) PIEs pour préserver l'équilibre thermodynamique dans la série. Pendant la série et une fois la série terminée, les résultats sont calculés par le système à partir de signaux fluorescents et d'algorithmes de calcul intégrés. Les résultats affichés sur l'écran tactile peuvent être imprimés, transférés et enregistrés par l'utilisateur grâce au port USB ou à l'option de connectivité.

Une fonction de résultat positif précoce (E-PRO) permet d'offrir un résultat positif si le signal de l'ADN cible atteint un seuil prédéterminé avant que les cycles de PCR n'aient été réalisés en entier. Avec E-PRO, un résultat positif peut être obtenu en environ 40 minutes pour les échantillons fortement positifs. Pour les échantillons négatifs, il faut environ 70 minutes pour obtenir les résultats.

RÉACTIFS ET MATÉRIEL

Le kit Revogene GBS DS contient une quantité suffisante de réactifs et de matériel pour traiter 24 échantillons. Le kit contient les éléments suivants :

1. 24 **tubes de tampon pour échantillon (TTE) GBS DS** : Tube avec étiquette à code-barres contenant une solution tamponnée TE 1X (Tris-HCl pH 8,0/EDTA.Na_2) comme tampon de dilution et de conservation pour l'échantillon.
2. 24 **pipettes de transfert jetable** (PTJ) : Pipette en plastique avec marques de volume minimal et maximal pour transférer l'échantillon du TTE au PIE.
3. 24 pochettes individuelles contenant une (1) **cartouche microfluidique (PIE) GBS DS**: Dispositif intégré avec étiquette à code-barres composé de réactifs desséchés permettant le traitement de l'échantillon et le déroulement des étapes de PCR en temps réel pour l'amplification et la détection simultanée de l'ADN du PrC et de l'ADN du gène cfb du SGB. Chaque PIE contient le PrC, des amorces spécifiques au PrC et une sonde basée sur la chimie TaqMan®, des amorces spécifiques au gène *cfb* du SGB et une sonde TaqMan® à base chimique, des dNTP, un tampon et une ADN polymérase.

MATÉRIEL/ÉQUIPEMENT NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

1. Revogene® (réf. cat. 610210)
2. Gants jetables sans poudre
3. Agitateur-mélangeur Vortex à vitesse maximale ≥3 000 tr/min
4. Portoir d'échantillons (réf. cat. 132539 ; option)
5. Milieu Stuart liquide Copan (réf. cat. 141C)
6. MOCK PIE (réf. cat. 610208 ; option)
7. Ciseaux propres (option)
8. Gaze (option)

AVERTISSEMENT ET PRÉCAUTIONS

1. Le test Revogene GBS DS ne peut être utilisé que sur le Revogene.
2. Ne pas utiliser le kit si l'étiquette qui scelle la boîte extérieure est déchirée à la livraison.
3. Ne pas utiliser les PIEs GBS DS si les pochettes protectrices sont ouvertes ou déchirées à la livraison.
4. Ne pas échanger les PTJ, les TTE et les PIEs entre lots de kits.
5. Chaque PIE et PTJ GBS DS s'utilise pour traiter un (1) échantillon. Ne pas réutiliser le PIE ni la PTJ.
6. Toujours manipuler les échantillons comme s'ils étaient infectieux et conformément aux bonnes pratiques de laboratoire telles que celles décrites dans le document Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories[3] et dans le document M29-A4 du CLSI[4].
7. Porter des gants jetables sans poudre lors de la manipulation des échantillons et se laver minutieusement les mains après la manipulation.
8. Le PIE GBS DS contient des réactifs desséchés. Ne pas ouvrir la pochette de protection avant d'être prêt à effectuer le test.
9. Jeter le matériel non utilisé, les réactifs et les déchets conformément aux réglementations fédérales, provinciales, locales, du pays et de l'état.
10. Ne pas ouvrir ni casser le PIE après son utilisation pour éviter toute contamination due à des produits d'amplification et/ou à des particules infectieuses.
11. Ne pas utiliser un PIE qui est tombé, qui a été secoué ou renversé après avoir chargé l'échantillon, car cela pourrait provoquer des résultats non valides.
12. Le test Revogene GBS DS ne fournit pas de résultats de sensibilité. Il faut plus de temps pour cultiver des isolats et réaliser des tests de sensibilité tels que recommandé pour les femmes allergiques à la pénicilline.
13. Ne pas utiliser un kit qui a dépassé sa date d'expiration.
14. Ne pas réfrigérer le PIE chargé.
15. Chaque série de test doit être réalisée avec huit (8) PIEs dans le carrousel Revogene afin de préserver l'équilibre thermodynamique dans la série.

DANGER ET MISES EN GARDE

A notre connaissance, il n y pas de risque connu associè à ce produit.

STOCKAGE ET STABILITÉ

1. Les échantillons de frottis vaginaux/rectaux doivent être stockés à 25 C s'ils vont être traités dans les deux (2) jours suivant leur prélèvement. Sinon, ils doivent être stockés entre 2 et 8 C pendant une durée maximale de sept (7) jours.
2. Stocker le kit Revogene GBS DS entre 2 et 25 C. La date d'expiration est indiquée sur l'étiquette du kit.
3. Ne pas ouvrir une pochette tant que l'on n'est pas prêt à réaliser le test. Utiliser le PIE dans l'heure [(1) heure] qui suit l'ouverture de la pochette.
4. Le TTE inoculé peut être stocké à 25 C pendant deux (2) jours maximum, ou entre 2 et 8 C pendant trois (3) jours.

MODE D'EMPLOI

A notre connaissance, il n y pas de risque connu associè à ce produit.

PRÉLÈVEMENT ET TRANSPORT DES ÉCHANTILLONS

Type d'échantillon : Frottis vaginal/rectal prélevé sur une femme en travail (*intrapartum*).

Le prélèvement d'échantillons vaginaux/rectaux de la même patiente doit être réalisé conformément aux directives publiées relatives au prélèvement d'échantillons cliniques pour la culture du SGB.[1]

1. Prélever les frottis vaginaux/rectaux conformément aux directives européennes[7] :
   a. Écouvillonner le vagin inférieur (introitus vaginal), puis le rectum (insérer l'écouvillon dans le sphincter anal) en utilisant le même écouvillon ou deux écouvillons différents. Attention de ne pas mélanger de selles, d'eau, d'urine ou de savon dans l'échantillon.
   b. Placer le ou les échantillons dans un milieu de transport non nutritif (Stuart liquide) tout de suite après le prélèvement de l'échantillon.
2. Étiqueter le dispositif de transport avec l'identifiant (ID) de l'échantillon ou de la patiente et le transporter au laboratoire pour réaliser le test (voir la section **Stockage et stabilité**).

PRÉPARATION ET MANIPULATION DE L'ÉCHANTILLON

NOTE 1 : Utiliser le test dans l'heure [(1) heure] qui suit l'ouverture de la pochette contenant le PIE.

PRÉPARATION DU TTE

1. Pour chaque échantillon à tester, prendre un TTE dans la boîte du kit.
2. Identifier (ou étiqueter) le TTE avec l'identifiant d'échantillon adéquat sans masquer le code-barres ni écrire dessus. Placer le TTE dans le portoir d'échantillons, si utilisé.
3. Dévisser le capuchon du TTE. Enlever l'écouvillon de sa gaine de transport et le transférer dans le TTE. À l'aide de gaze, casser la partie superflue de la tige de l'écouvillon en tenant l'écouvillon par la tige près du bord du tube. Soulever l'écouvillon de quelques millimètres (mm) du bas du tube et plier la tige contre le bord du tube pour la casser. Ou alors, utiliser des ciseaux propres pour couper la tige. Veiller à n'ouvrir qu'un (1) seul TTE à la fois.
4. Remettre le capuchon du TTE en place, bien le serrer, et remettre le TTE sur le portoir d'échantillons (si utilisé).
5. Préparer tout échantillon supplémentaire pour le test en répétant les étapes 1 à 4, puis passer à l'étape 6.
6. Une fois que tous les échantillons sont prêts, passer à la préparation du PIE GBS DS (section suivante).

PRÉPARATION DU PIE

REMARQUE 1 : Traiter un (1) échantillon à la fois.

7. Passer le TTE au Vortex pendant 30 secondes à vitesse maximale (≥ 3 000 tr/min) à l'aide d'un agitateur-mélangeur Vortex.
8. Ouvrir la pochette de la cartouche PIE et en extraire la cartouche PIE. Une fois la pochette ouverte, le PIE doit être utilisé dans l'heure [(1) heure maximum].
9. Placer le PIE dans le portoir d'échantillons, si utilisé, ou sur une surface plane.
10. Prendre une PTJ dans la boîte du kit. Dévisser le capuchon du TTE et à l'aide de la PTJ, aspirer le tampon pour échantillon (TE) inoculé en pressant l'ensemble de la poire. Le niveau de liquide dans le TTE doit être compris entre les deux (2) marques (**Figure 2**). Si le niveau de liquide n'est pas compris entre les deux (2) marques, décharger complètement le tampon d'échantillon dans le TTE et répéter cette étape.
11. Décharger complètement le volume de tampon d'échantillon contenu dans la PTJ dans la chambre de chargement d'échantillon du PIE (**Figure 1**).
12. Fermer le capuchon du PIE et le capuchon du TTE en serrant bien.
13. Répéter les étapes 7 à 12 pour tout TTE supplémentaire préparé, puis passer à la section d'utilisation du Revogene.

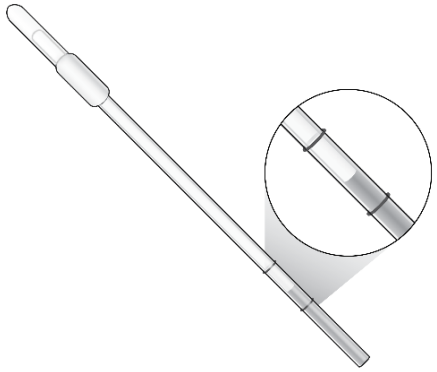

Figure 2. Représentation d'un niveau de tampon d'échantillon approprié à l'aide de la pipette de transfert jetable (PTJ).

UTILISATION DU REVOGENE

NOTE 1 : Chaque série doit être réalisée avec huit (8) PIEs dans le Revogene. Quand une quantité d'échantillons inférieure à huit (8) est traitée, remplir les emplacements vides avec des MOCK PIEs*.
NOTE 2 : Consulter le manuel de l'utilisateur de Revogene[5] pour obtenir de plus amples renseignements sur l'installation et le fonctionnement de l'instrument.

1. Mettre le Revogene sous tension (si cela n'est pas déjà fait). Le logiciel se lance automatiquement.
2. Se connecter en saisissant le <**nom d'utilisateur**> et le <**mot de passe**> et toucher <**Connexion**>. Le menu principal apparaît automatiquement.
3. Toucher **<Configurer série>**.
4. Saisir l'identifiant d'échantillon soit à l'aide du scanner de code-barres, soit par saisie manuelle. La saisie manuelle peut être réalisée en touchant l'icône du **crayon** de la ligne **<Scanner ou saisir l'ID d'échantillon>**.
5. Saisir les codes-barres du TTE et du PIE à l'aide du scanner de code-barres Revogene en positionnant doucement le PIE verticalement devant le scanner. Comme alternative, il est possible de saisir les codes-barres du TTE et du PIE manuellement (toucher l'icône du **crayon** sur leurs lignes respectives). Manipuler le PIE avec soin sans le secouer, ni le faire tomber.
6. (Option) Toucher l'icône du **crayon** de la ligne **<Ajouter des commentaires>** et saisir un commentaire.
7. Insérer le PIE dans le Revogene, quelle que soit sa position sur le carrousel. Le logiciel associe automatiquement l'échantillon et le TTE au PIE correct.
8. Confirmer que le PIE est inséré dans l'instrument en touchant **<OK>** sur la ligne **<Insérer PIE dans l'instrument>** et répéter les étapes 4 à 8 pour tous les échantillons. Si une quantité de PIE inférieure à huit (8) va être testée, charger des MOCK PIEs* dans les positions restantes du carrousel. Aucun scannage n'est nécessaire lors de l'insertion des MOCK PIEs dans le Revogene.
9. Quand tous les PIEs sont insérés dans le carrousel, toucher **<Suivant>**.
10. Si des MOCK PIEs ont été introduits dans le carrousel, suivre les instructions à l'écran.
11. Scanner l'anneau de retenue et le placer sur le carrousel. Fermer le couvercle de l'instrument.
12. Initialiser la série de test en touchant **<Démarrer>**. La progression du test est indiquée par une minuterie à l'écran et des voyants sur le couvercle du Revogene.
13. Stocker des TTE inoculés dans les conditions appropriées (voir la section **Stockage et stabilité**) pour réaliser d'autres répétitions de test, si nécessaire.

* Si aucun MOCK PIE n'est disponible, utiliser des PIEs de test inutilisés remplis de tampon d'échantillon non inoculé (CONTRÔLE) ou de contrôles externes.

VISUALISATION ET EXPORTATION DES RÉSULTATS
REMARQUE 1 : Consulter le manuel de l'opérateur de Revogene[5] pour obtenir de plus amples renseignements sur l'acquisition des résultats de test.

PENDANT LA SÉRIE DE TEST
1. Si les voyants du couvercle du Revogene commencent à clignoter, cela indique un résultat positif précoce (E-PRO). Une icône apparaît également sur la barre de titre de l'écran.

   L'icône **E-PRO** comporte le symbole « + » et un chiffre représentant la quantité de résultats positifs disponibles à ce stade (**Figure 3**). Le chiffre augmente si des résultats positifs supplémentaires deviennent disponibles.

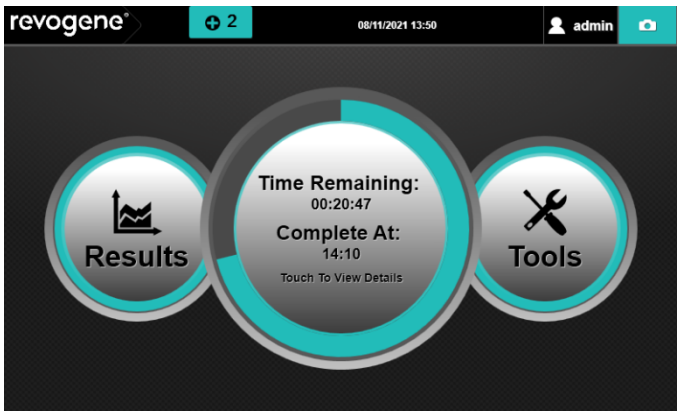

Figure 3. Affichage du menu principal montrant l'icône E-PRO.

2. Saisir le <**nom d'utilisateur**> et le <**mot de passe**> et toucher <**Connexion**> si la session de l'utilisateur s'est déconnectée.
3. Toucher l'icône **E-PRO**.
4. Les résultats de la série de test actuelle apparaissent automatiquement à l'écran (**Figure 4**). Pour chaque ligne d'échantillon, il y aura soit un symbole positif, soit un symbole En cours. Le symbole En cours, une animation en rotation, s'affiche jusqu'à ce qu'un résultat positif soit obtenu ou que la série soit terminée.
5. Toucher le symbole de résultat positif pour ouvrir le rapport provisoire.
6. (Option) Toucher <**Exporter**> et enregistrer le rapport provisoire à l'endroit approprié (ex. clé USB ou option de connectivité).

   Une fois que l'écran des résultats a été consulté, les notifications E-PRO disparaissent. De nouvelles notifications E-PRO apparaissent lorsqu'un autre résultat positif précoce est détecté.

   nTout résultat d'échantillon affiché dans le rapport provisoire est final et restera inchangé dans le rapport de résultat final du test.

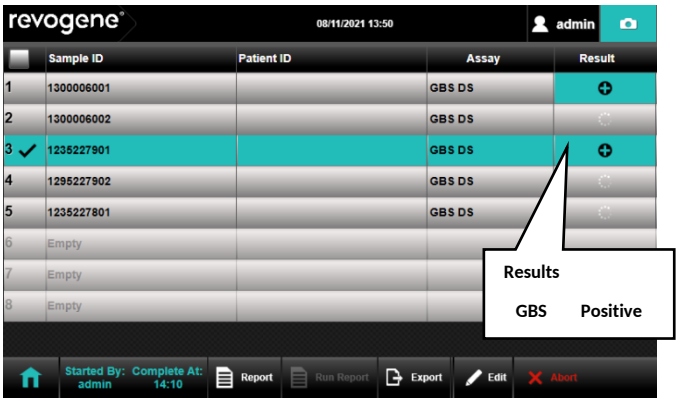

Figure 4. Affichage des résultats en cours.

À LA FIN DE LA SÉRIE

7. Une fois la série terminée, le couvercle s'ouvre automatiquement.
8. Si la connexion du Revogene a expiré, saisir de nouveau le **<nom d'utilisateur>** et le **<mot de passe>** et toucher **<Connexion>**. Le menu principal apparaît automatiquement.
9. Toucher l'icône **Résultats** pour accéder aux résultats de test. La fenêtre **Résultats** montre le ou les résultats rapportés pour chaque échantillon (**Figure 5**).
10. Toucher **<Dernière série>** pour voir les résultats de test les plus récents.

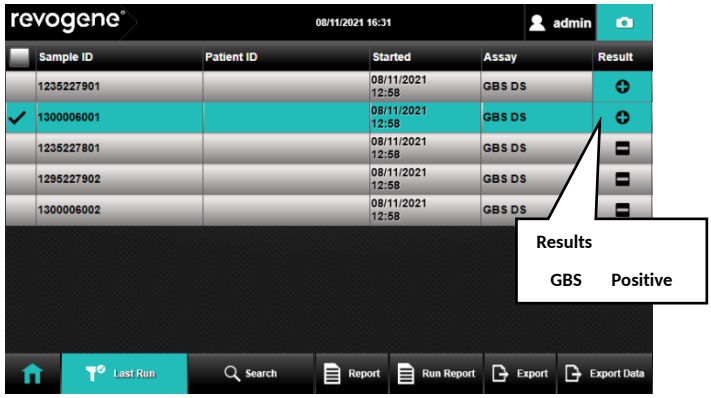

Figure 5. Fenêtre des résultats montrant le ou les résultats rapportés pour chaque échantillon.

11. Dans **<Dernière série>,** sélectionner les échantillons pour lesquels le ou les rapports de résultat doivent être exportés. Tous les échantillons peuvent être sélectionnés d'un coup en cochant la case qui se trouve dans le coin supérieur droit de l'écran.
12. Toucher <**Exporter**> et enregistrer à l'endroit approprié (ex. clé USB ou option de connectivité).
13. (Option) Toucher <**Rechercher**> pour trouver un échantillon spécifique et son résultat.
14. Enlever l'anneau de retenue et les PIEs du Revogene. Les PIEs usagés doivent être mis au rebut dans les récipients à déchets appropriés conformément aux pratiques standard de l'établissement.

PROCÉDURE DE RÉPÉTITION DE TEST
RÉSULTAT NON RÉSOLU OU INDÉTERMINÉ POUR UN ÉCHANTILLON
NOTE 1 : Étant donné le contexte *intrapartum*, il peut ne pas être possible de répéter le test et cela dépendra des pratiques et des politiques de chaque établissement. Une bonne coordination est importante entre les cliniciens et le laboratoire de test afin de ne pas retarder l'administration d'antibiotiques en attendant les résultats.

Si un résultat Non résolu (NR) ou Indéterminé (IND) est obtenu pour un échantillon, le test du TTE inoculé correspondant doit être répété dans l'intervalle de temps spécifié décrit dans la section **Stockage et stabilité**. Une (1) seule répétition de test à partir du TTE est permise.

Passer le TTE au Vortex pendant au moins 30 secondes à vitesse maximale. Prendre une nouvelle pochette et suivre les étapes 8 à 13 de la section **Préparation et manipulation de l'échantillon / Préparation du PIE**, puis suivre la section **Utilisation du Revogene**.

RÉSULTAT NON RÉSOLU, INDÉTERMINÉ, FAUX NÉGATIF OU FAUX POSITIF
POUR UN CONTRÔLE EXTERNE
Quand un résultat non résolu, indéterminé, faussement négatif ou faussement positif est obtenu pour un contrôle externe, la série n'est pas valide. Les échantillons inclus dans la série doivent être répétés en utilisant le TTE inoculé correspondant, ainsi que des contrôles externes fraîchement préparés, dans l'intervalle de temps décrit dans la section **Stockage et stabilité**. Voir la section **Contrôle de qualité** suivante pour la préparation de contrôles externes frais.

Pour la répétition du test à l'aide du TTE inoculé correspondant, passer le TTE au Vortex pendant au moins 30 secondes à vitesse maximale. Prendre une nouvelle pochette et suivre les étapes 8 à 13 de la section **Préparation et manipulation de l'échantillon / Préparation du PIE**, puis suivre la section **Utilisation du Revogene**.

CONTRÔLE DE QUALITÉ
Les procédures de contrôle de qualité permettent de surveiller l'exactitude et la précision du processus analytique. Chaque laboratoire doit établir le nombre, le type et la fréquence des matériaux de contrôle de test conformément aux réglementations applicables ou aux exigences des agences accréditées. La procédure décrite ci-dessous peut être employée, si appropriée, en se basant sur les politiques et procédures locales.

CONTRÔLE DE PROCÉDÉ
Chaque PIE contient un contrôle de procédé (PrC) qui vérifie l'homogénéisation et la dilution de l'échantillon, la lyse cellulaire, l'inhibition de l'amplification de l'ADN et l'échec des réactifs du test.

CONTRÔLES EXTERNES
REMARQUE 1 : Une PTJ, un TTE et un PIE différents doivent être utilisés pour chaque préparation de contrôle externe.

1. Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l'emploi de matériels de contrôle. Les utilisateurs doivent suivre les directives appropriées concernant l'usage de contrôles externes. Il est recommandé d'analyser un (1) contrôle externe positif et un (1) contrôle externe négatif une fois par jour au moins jusqu'à obtenir une validation adéquate du procédé avec le test Revogene GBS DS sur le Revogene dans chaque environnement de laboratoire.
2. Les matériels de contrôle externe ne sont pas fournis par Meridian Bioscience, Inc. Les contrôles externes ne sont pas utilisés par le logiciel Revogene dans un objectif d'interprétation des résultats de test des échantillons. Les contrôles externes sont traités comme s'ils étaient des échantillons.
3. Avant de rapporter des résultats positifs précoces des échantillons, veiller à bien avoir des résultats valides pour les contrôles externes positifs et négatifs.
4. Du matériel de contrôle du commerce, des échantillons positifs qui ont été caractérisés antérieurement ou des échantillons négatifs enrichis avec des organismes bien caractérisés peuvent être utilisés comme contrôle externe positif. Les contrôles externes positifs doivent être utilisés conformément aux réglementations applicables ou aux exigences des organismes d'accréditation.
5. Du matériel de contrôle du commerce, des échantillons négatifs caractérisés antérieurement peuvent être utilisés comme contrôle externe négatif. Les contrôles externes négatifs doivent être utilisés conformément aux réglementations applicables ou aux exigences des organismes d'accréditation.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS
Les résultats sont calculés par le Revogene à partir de signaux fluorescents mesurés et d'algorithmes de calcul intégrés et sont disponibles dans la fenêtre « Résultats » du Revogene.
Les résultats possibles sont les suivants :

Échantillon	Symbole	Résultat	Interprétation
Échantillon du patient		Positif	ADN du SGB cible détecté.
		Négatif	ADN du SGB cible non détecté.
		Non résolu	Échec de l'amplification/détection pour le contrôle de procédé ainsi que pour l'ADN du SGB cible. Peut être provoqué par des échantillons inhibiteurs, ou des défaillances microfluidiques ou de réactifs. Le test doit être répété (se reporter à la section **Procédure de répétition de test** pour des instructions plus poussées).
		Indéterminé	Aucun résultat exploitable pour cause d'erreur de détection possible du Revogene pendant le traitement du test, l'analyse des données ou si la série a été interrompue par l'utilisateur. Le test doit être répété (se reporter à la section **Procédure de répétition de test** pour des instructions plus poussées).
		En cours	Les résultats ne sont pas encore disponibles.
Contrôle externe positif		Positif	Résultat de contrôle externe positif valide.
		Négatif	Un contrôle externe positif qui donne un résultat négatif indique un problème de manipulation/préparation de l'échantillon. **La série n'est pas valide.** Vérifier la technique suivie pour la manipulation/préparation des échantillons. Le test doit être répété (se reporter à la section **Procédure de répétition de test** pour des instructions plus poussées).
		Non résolu	Résultat de contrôle externe positif incorrect. **La série n'est pas valide.** Le test doit être répété (se reporter à la section **Procédure de répétition de test** pour des instructions plus poussées).
		Indéterminé	Résultat de contrôle externe positif incorrect. **La série n'est pas valide.** Le test doit être répété (se reporter à la section **Procédure de répétition de test** pour des instructions plus poussées).
		En cours	Les résultats ne sont pas encore disponibles.
Contrôle externe négatif		Positif	Un contrôle externe négatif qui donne un résultat positif indique un problème de manipulation et/ou de contamination de l'échantillon. **La série n'est pas valide.** Vérifier la technique suivie pour la manipulation des échantillons. Le test doit être répété (se reporter à la section **Procédure de répétition de test** pour des instructions plus poussées).
		Négatif	Résultat de contrôle externe négatif valide.
		Non résolu	Résultat de contrôle externe négatif incorrect. **La série n'est pas valide.** Le test doit être répété (se reporter à la section **Procédure de répétition de test** pour des instructions plus poussées).
		Indéterminé	Résultat de contrôle externe négatif incorrect. **La série n'est pas valide.** Le test doit être répété (se reporter à la section **Procédure de répétition de test** pour des instructions plus poussées).
		En cours	Les résultats ne sont pas encore disponibles.

LIMITES DU TEST
1. Le test Revogene GBS DS doit être utilisé sur le Revogene uniquement par du personnel formé.
2. Un résultat de test positif n'indique pas nécessairement la présence d'organismes viables. Il indique cependant la présence d'ADN du SGB.
3. Utiliser le test Revogene GBS DS uniquement pour les échantillons cliniques prélevés avec du milieu Stuart liquide Copan, réf. cat. 141C. L'utilisation du test Revogene GBS DS pour des types d'échantillons cliniques autres que ceux spécifiés n'a pas été évaluée et les caractéristiques de performance n'ont pas été établies.
4. Les échantillons cervicaux, périanaux, périrectaux ou périnéaux ne sont pas acceptables, et un speculum ne doit pas être utilisé pour le prélèvement de culture.
5. Des résultats de test erronés peuvent se produire si les échantillons ne sont pas prélevés, manipulés ou stockés correctement, en cas d'erreur technique ou en cas d'interversion des échantillons. Il est nécessaire de suivre méticuleusement les instructions de la présente notice, du manuel de l'opérateur de Revogene[5] et des directives établies afin d'éviter tout résultat erroné.
6. Une contamination ou des résultats faussement négatifs peuvent se produire si le capuchon d'un PIE n'est pas bien fermé.
7. Bien qu'il n'existe pas de souche/d'isolat de SGB connu qui ne possède pas le gène *cfb*, l'occurrence d'une telle souche entraînerait un résultat erroné (faux négatif) avec le test Revogene GBS DS.
8. La présence de mutations ou de polymorphismes dans les régions qui se lient à l'amorce ou à la sonde peut affecter la détection des variantes du gène *cfb* du SGB, ce qui peut entraîner un résultat faussement négatif avec le test Revogene GBS DS.
9. Les résultats du test Revogene GBS DS doivent être utilisés en supplément des observations cliniques et autres informations accessibles au médecin.
10. Un résultat négatif n'exclut en aucun cas la possibilité d'une colonisation du SGB. Des résultats faussement négatifs peuvent apparaître quand la concentration en SGB est inférieure à la limite de détection du test.
11. Le test n'a pas été prévu pour différencier les porteurs du SGB des personnes atteintes d'une maladie streptococcique.
12. Les résultats du test peuvent être affectés par une thérapie antimicrobienne simultanée car l'ADN du SGB peut encore être détecté.
13. La présence de lotion hydratante (ex. Aveeno®), de sang total ou de méconium peut potentiellement interférer avec le test Revogene GBS DS quand une de ces substances est présente dans le tampon d'échantillon à une concentration > 6,50E-3 % (poids/vol. ou vol./vol.).
14. La présence de fongicide (ex. Micatin®) ou de liquide amniotique peut potentiellement interférer avec le test Revogene GBS DS quand une de ces substances est présente dans le tampon d'échantillon à une concentration > 0,065 % (poids/vol. ou vol./vol.).
15. La présence de médicament contre la gastrite (ex. Tums®) à une concentration > 3,48E-6 % (poids/vol.), de médicament antidiarrhéique (ex. Imodium®) à une concentration > 1,50E-6 % (poids/vol.), de médicament antidiarrhéique (ex. Pepto Bismol™) à une concentration > 1,95E-3 % (poids/vol.) ou de laxatif (ex. Senokot®) à une concentration > 3,19E-7 % (poids/vol.) peut potentiellement interférer avec le test Revogene GBS DS quand une de ces substances est présente dans le tampon d'échantillon.
16. La poudre corporelle (poudre désodorisante Vagisil®) à la concentration la plus faible testée, 6,50E-05 % (poids/vol.), a présenté un effet inhibitoire sur la détection des souches de SGB.

VALEURS ATTENDUES
Pendant l'évaluation clinique du test Revogene GBS DS, un total de 462 résultats exploitables d'échantillons conformes au niveau de culture de la méthode de référence ont été obtenus. En tout, le taux de prévalence du SGB était de 26,4 % (112 sur 462) avec un IC à 95 % de 22,5 – 30,9 %.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE CLINIQUE
Une étude a été menée dans les locaux de Meridian Bioscience Canada, Inc. pour évaluer les performances cliniques du test Revogene GBS DS. Un total de 462 frottis vaginaux/rectaux *intrapartum* ont été prélevés prospectivement sur des femmes enceintes dans deux (2) sites canadiens. Seuls ont été enregistrés les échantillons qui étaient conformes aux critères d'inclusion de l'étude et ne répondaient à aucun des critères d'exclusion. Deux (2) frottis par patiente ont été prélevés et testés. Le premier a été testé selon la méthode de culture de référence tandis que le second a été déchargé dans du tampon d'échantillon et congelé à -70 C avant d'être testé avec le test Revogene GBS DS sur le Revogene. De ces 462 échantillons, 422 ont été testés avec le test Revogene GBS DS dans les locaux de Meridian Bioscience Canada, Inc., les 40 échantillons restant n'étaient pas disponibles pour le test.

La méthode de culture de référence a été suivie par un (1) des sites canadiens. Pour la méthode de culture de référence, le frotti vaginal/rectal est transféré dans une culture d'enrichissement au bouillon de LIM suivi d'une sous-culture sur une gélose au sang non-sélective. L'identité des colonies morphologiquement semblables au SGB de la gélose au sang a été vérifiée par antisérum de groupement streptococcique de Groupe B et/ou test de CAMP.

La sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN) ont été calculées en comparant les résultats du test Revogene GBS DS avec la méthode de culture de référence. Une analyse divergente a été réalisée par le site qui a suivi la méthode de culture de référence. Une portion des échantillons dont les résultats divergeaient entre ceux du test Revogene GBS DS et ceux de la méthode de culture a été testée suivant une seconde méthode de test par amplification des acides nucléiques (TAAN).

Résultats
Les caractéristiques de performance globales du test Revogene GBS DS ont démontré une sensibilité de 96,4 % (107/111 ; IC à 95 % : 91,1 - 98,6 %) et spécificité de 89,9 % (277/308 ; CI à 95 % : 86,1 - 92,8 %). Les résultats de performance de cette étude sont résumés dans le **Tableau 1**.

Des 422 échantillons testés avec le test Revogene GBS DS qui étaient conformes au niveau de l'échantillon et de la PCR, cinq (5) (1,2 %) ont été rapportés comme étant non résolus lors du test initial. Le taux de résultats non résolus après la répétition du test était de 0,7 % (3/422).

Des mêmes 422 échantillons testés avec le test Revogene GBS DS, un (1) (0,2 %) était signalé initialement comme étant indéterminé. Aucun résultat n'est resté indéterminé après répétition du test.

Tableau 1. Caractéristiques de performance globales du test GBS DS par rapport à la méthode de référence.

		Méthode de référence		
		Positif	**Négatif**	**Total**
Test GBS DS	**Positif**	107	31[B]	138
	Négatif	4[A]	277	281
	Total	111	308	419
Sensibilité		96,4 % (107/111 ; CI à 95 % : 91,1 – 98,6 %)		
Spécificité		89,9 % (277/308 ; CI à 95 % : 86,1 – 92,8 %)		
Valeur prédictive positive		77,5 % (107/138 ; CI à 95 % : 69,9 – 83,7 %)		
Valeur prédictive négative		98,6 % (277/281 ; CI à 95 % : 96,4 – 99,4 %)		

[A] Deux (2) échantillons ont été testés à l'aide d'une seconde méthode TAAN ; l'ADN du SGB a été détecté dans un (1) des deux (2) échantillons faussement négatifs.
[B] Quinze échantillons ont été testés à l'aide d'une seconde méthode TAAN ; l'ADN du SGB a été détecté dans 13 des 15 échantillons faussement positifs.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE ANALYTIQUE

SENSIBILITÉ ANALYTIQUE
La sensibilité analytique (Limite de Détection ou LD) du test Revogene GBS DS a été déterminée à l'aide d'une matrice simulée, enrichie de diverses concentrations de suspensions bactériennes de SGB. Trois (3) souches de SGB (ATCC® 12403™, ATCC® 13813™ et ATCC® BAA-22™) ont été testées dans 24 réplicats par concentration. La LD se définit comme la plus basse concentration à laquelle 95 % de tous les réplicats obtiennent un résultat positif au test.

Pour ce qui est des trois (3) souches testées, la LD du test GBS DS dans une matrice simulée était comprise entre 375 et 1 500 CFU/mL pour le tampon d'échantillon. Les résultats sont résumés dans le **Tableau 2**. L'équivalence de la LD a été démontrée entre la matrice du frottis vaginal/rectal ayant précédemment donné des résultats négatifs au test de présence de SGB et la matrice simulée avec des souches de ATCC® 12403™ et ATCC® 13813™.

Tableau 2. LD du test Revogene GBS DS

Souche de SGB (ATCC® numéro)	**LD dans matrice simulée (CFU/ml de tampon d'échantillon)**
Sérotype III (ATCC® 12403™)	750
Sérotype III (ATCC® BAA-22™)	1 500
Non hémolytique (ATCC® 13813™)	375

INCLUSIVITÉ
L'inclusivité du test Revogene GBS DS a été déterminée pour 13 souches de SGB représentant 11 sérotypes connus et une (1) souche non hémolytique. Dix (10) souches ont été testées à partir d'une culture cellulaire quantifiée en présence d'une matrice simulée négative au SGB à une charge de 1 125 CFU/ml de tampon d'échantillon, ce qui correspond à trois (3) fois la valeur de LD de la souche ATCC® 13813™. Trois (3) réplicats par souche ont été testés à l'aide de trois (3) lots différents de kit GBS DS. Six (6) souches ont été détectées avec positivité de 100 % (dans 3/3 réplicats) par le test Revogene GBD DS à une charge de 1 125 CFU/mL de tampon d'échantillon. Deux (2) souches (ATCC® 51487™ et ATCC® BAA-2669™) ont été détectées avec positivité de 100 % à une charge de 1 875 CFU/mL de tampon d'échantillon. Les souches ATCC® 27591™ et ATCC® 12973™ ont été détectées avec positivité de 100 % à une charge de 2 625 CFU/mL de tampon d'échantillon et 15 000 CFU/mL de tampon d'échantillon respectivement. Les souches testées sont décrites dans le **Tableau 3**.

Tableau 3. Souches de SGB dont l'inclusivité a été testée avec le test Revogene GBS DS.

Souche de SGB	**Sérotype**
ATCC® 12400™	Ia
ATCC® 51487™	Ib
ATCC® 27591™	Ic
ATCC® 12973™	II
ATCC® 12403™ [1]	III
ATCC® BAA-22™ [1]	III
ATCC® 49446™	IV
ATCC® BAA-611™	V
ATCC® BAA-2671™	VI
ATCC® BAA-2670™	VII
ATCC® BAA-2669™	VIII
ATCC® BAA-2668™	IX
ATCC® 13813™ [1]	Non hémolytique

[1] Souches utilisées pour la détermination de la LD et qui n'ont donc pas été retestées

En plus, une analyse *in silico* a été réalisée pour évaluer l'inclusivité des amorces et des sondes de la cible du test Revogene GBS DS concernant 36 souches de SGB supplémentaires répertoriées dans la base de données du NCBI (National Center for Biotechnology Information) du 20 octobre 2016. Les résultats d'alignement n'ont montré aucun mésappariement avec les séquences sélectionnées. L'analyse a prédit la détection de toutes ces souches de SGB.

RÉACTIVITÉ CROISÉE

La réactivité croisée du test Revogene GBS DS a été évaluée avec des charges élevées d'organismes qui ne sont pas ciblés par le test, ou qui sont liés phylogénétiquement au SGB, ou présents dans la flore urogénitale et du tractus intestinal normale. Cette étude incluait 64 bactéries, quatre (4) levures, quatre (4) virus, deux (2) parasites et de l'ADN humain (**Tableau 4**). Les bactéries et les levures ont été testées à une charge ≥10^6 CFU/mL de tampon d'échantillon. Les acides nucléiques des virus, des parasites et de l'ADN humain ont été testés à une charge ≥ 10^5 d'ADN ou de copies d'ARN/ml de tampon d'échantillon. Ces organismes ont été testés à l'aide de cultures cellulaires quantifiées ou de solutions d'acide nucléique en présence d'une matrice simulée négative au SGB. Trois (3) réplicats par organisme ont été testés à l'aide de trois (3) lots différents de kit GBS DS.

Dans les conditions de l'étude, aucun des organismes ni des acides nucléiques testés n'ont été détectés par le test Revogene GBS DS.

Tableau 4. Liste des organismes testés pour leur réactivité croisée avec le test Revogene GBS DS

Bactéries	
Acinetobacter baumannii	*Mycoplasma genitalium* (ADN génomique)
Aerococcus viridans	*Mycoplasma hominis* (ADN génomique)
Aeromonas hydrophila	*Neisseria gonorrhoeae*
Bacillus cereus	*Peptostreptococcus anaerobius*
Bacillus subtilis	*Porphyromonas asaccharolytica*
Bacteroides fragilis	*Prevotella melaninogenica*
Bifidobacterium adolescentis	*Propionibacterium acnes*
Bifidobacterium breve	*Proteus mirabilis*
Brevibacterium linens	*Pseudomonas aeruginosa*
Campylobacter jejuni	*Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin*
Chlamydia trachomatis (ADN génomique)	*Salmonella enterica subsp. enterica serovar Minneapolis*
Citrobacter freundii	*Salmonella enterica subsp. enterica serovar typhimurium*
Clostridium difficile	*Salmonella enterica subsp. enterica serovar Newport*
Clostridium perfringens	*Serratia marcescens*
Corynebacterium genitalium	*Shigella sonnei*
Enterobacter aerogenes	*Staphylococcus aureus*
Enterobacter cloacae	*Staphylococcus aureus (Cowan)*
Enterococcus avium	*Staphylococcus epidermidis*
Enterococcus dispar	*Staphylococcus saprophyticus*
Enterococcus durans	*Streptococcus anginosus*
Enterococcus faecalis	*Streptococcus bovis*
Enterococcus faecium	*Streptococcus dysgalactiae subsp. disgalactiae*
Escherichia coli	*Streptococcus dysgalactiae equisimilis*
Escherichia fergusonii	*Streptococcus intermedius*
Gardnerella vaginalis	*Streptococcus oralis*
Klebsiella oxytoca	*Streptococcus pneumoniae*
Klebsiella pneumoniae	*Streptococcus pyogenes*
Lactobacillus acidophilus	*Streptococcus salivarius*
Lactobacillus brevis	*Streptococcus sanguinis*
Lactobacillus casei	*Streptococcus uberis*
Lactobacillus delbreuckii	*Ureaplasma urealyticum* (ADN génomique)
Lactobacillus jensenii	*Yersinia enterocolitica*
Levures	
Candida albicans	*Candida parapsilosis*
Candida glabrata	*Candida tropicalis*
Virus	
HerpesSimplexVirus-1 (ADN génomique)	*Norovirus* GII (ARN synthétique)
HerpesSimplexVirus-2 (ADN génomique)	Papillomavirus humain (ADN génomique)
Parasites	
Blastocystis hominis (ADN génomique)	*Trichomonas vaginalis* (ADN génomique)
ADN humain	
ADN humain (ADN génomique)	**-**

De plus, une analyse *in silico* a été réalisée pour évaluer la réactivité croisée des amorces et des sondes du test Revogene GBS DS avec 62 organismes supplémentaires potentiellement présents dans le tractus urogénital et intestinal (**Tableau 5**). L'analyse a été réalisée sur toutes les séquences de ces 62 organismes présentes dans la base de données du NCBI (National Center for Biotechnology Information) du 24 janvier 2017. L'analyse a suggéré qu'aucun de ces organismes ne devrait réagir avec le test Revogene GBS DS.

Tableau 5. Liste des organismes vérifiés par analyse *in silico* pour leur réactivité croisée avec les amorces et les sondes du test Revogene GBS DS

Bactéries	
Abiotrophia defectiva	*Listeria monocytogenes*
Achromobacter xylosoxidans	*Micrococcus luteus*
Alcaligenes faecalis	*Mobiluncus mulieris*
Campylobacter fetus	*Moraxella catarrhalis*
Chromobacterium violaceum	*Moraxella lacunata*
Clostridium bifermentans	*Moraxella osloensis*
Clostridium butyricum	*Morganella morganii*
Clostridium novyi	*Mycobacterium smegmatis*
Clostridium septicum	*Neisseria flava*
Clostridium sordelli	*Neisseria flavescens*
Clostridium sporogenes	*Neisseria lactamica*
Corynebacterium urealyticum	*Neisseria meningitidis*
Corynebacterium xerosis	*Neisseria perflava*
Deinococcus radiodurans	*Plesiomonas shigelloides*
Derxia gummosa	*Proteus vulgaris*
Eikenella corrodens	*Providencia stuartii*
Enterococcus gallinarum	*Pseudomonas fluorescens*
Gemella haemolysans	*Pseudomonas putida*
Haemophilus ducreyi	*Rhodospirillum rubrum*
Haemophilus influenzae	*Serratia liquefaciens*
Haemophilus influenzae type B	*Shigella boydii*
Helicobacter pylori	*Shigella flexneri*
Kingella denitrificans	*Staphylococcus simulans*
Kingella kingae	*Stenotrophomonas maltophilia*
Legionella pneumophila	*Streptococcus gordonii*
Streptococcus mitis	*Vibrio parahaemolyticus*
Streptococcus mutans	-

Moisissure/levure	
Cryptococcus neoformans	*Saccharomyces cerevisiae*
Virus	
Adénovirus 40	*Echovirus*
Adénovirus 41	*Virus Epstein-Barr*
Virus BK	*Rotavirus*
Coxsackievirus	-

ORGANISMES INTERFÉRENTS

L'effet potentiellement inhibitoire de 29 organismes non ciblés pouvant être présents dans la flore urogénitale et le tractus intestinal a été évalué à l'aide d'organismes sélectionnés dans l'étude de réactivité croisée (**Tableau 4**). La sélection des organismes a été basée sur leur prévalence dans la flore vaginale/rectale. Des groupes de un (1) à cinq (5) organismes ont été testés en triple soit avec 1 125 CFU/mL de tampon d'échantillon contenant la souche de SGB ATCC® 13813™, soit avec 4 500 CFU/mL de tampon d'échantillon contenant la souche de SGB ATCC® BAA-22™ ou soit avec des échantillons négatifs au SGB en présence d'une matrice simulée négative au SGB pour évaluer leur interférence potentielle sur la détection du SGB ou du PrC. Chaque organisme d'un groupe a été dilué pour atteindre une charge ≥ 10^6 CFU/mL ou copies/ml de tampon d'échantillon pour les bactéries et les levures, et ≥ 10^5 copies/ml de tampon d'échantillon pour les virus et les parasites. Les 29 organismes inclus dans l'étude sont présentés dans le **Tableau 6**.

Tableau 6. Liste des organismes testés pour leur interférence avec le test Revogene GBS DS.

Groupe 1	
Acinetobacter baumannii	*Enterococcus faecalis*
Bacillus subtilis	*Enterococcus faecium*
Bacteroides fragilis	
Groupe 2	
Campylobacter jejuni	*Escherichia coli*
Clostridium difficile	*Gardnerella vaginalis*
Corynebacterium genitalium	
Groupe 3	
Klebsiella oxytoca	*Peptostreptococcus anaerobius*
Lactobacillus acidophilus	*Propionibacterium acnes*
Neisseria gonorrhoeae	
Groupe 4	
Pseudomonas aeruginosa	*Shigella sonnei*
Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin	*Staphylococcus aureus*
Serratia marcescens	
Groupe 5	
Staphylococcus epidermidis	*Yersinia enterocolitica*
Streptococcus pyogenes	*Candida albicans*
Groupe 6	
Chlamydia trachomatis	Papillomavirus humain (ADN génomique)
Virus Herpès simplex-1 (ADN génomique)	*Trichomonas vaginalis*
Groupe 7	
Mycoplasma genitalium (ADN génomique)	

Aucun des 29 organismes présents à ≥ 10^6 CFU/mL ou copies/mL de tampon d'échantillon pour les bactéries et les levures et ≥ 10^5 copies/mL de tampon d'échantillon pour les virus et les parasites n'a interféré avec la détection du PrC ni avec la détection des deux (2) souches de SGB (ATCC® 13813™ et ATCC® BAA-22™).

SUBSTANCES INTERFÉRENTES

L'effet potentiellement inhibitoire de 22 substances exogènes et huit (8) substances endogènes potentiellement présentes dans la flore urogénitale et dans le tractus intestinal a été évalué à l'aide d'échantillons négatifs au SGB et d'échantillons contenant les souches de SGB ATCC® 13813™ et ATCC® BAA-22™ à trois (3) fois leur LD respective (1 125 CFU/mL de tampon d'échantillon ou 4 500 CFU/mL de tampon d'échantillon respectivement) en présence d'une matrice simulée négative au SGB. Les substances ont été testées à une concentration physiologiquement significative qui pouvait être trouvée dans un échantillon vaginal/rectal ou à une plus forte concentration. Les résultats pour les 30 substances sont présentés dans le **Tableau 7**.

Les résultats ont démontré que le fongicide (ex. Micatin®), la poudre corporelle (ex. poudre désodorisante Vagisil®), la lotion hydratante (ex. lotion hydratante Aveeno®), les médicaments contre la gastrite (ex. Tums®), les médicaments antidiarrhéiques (Imodium®, Pepto Bismol™), les laxatifs (Senokot®), le sang total, le fluide amniotique et le méconium présentaient un effet potentiellement inhibitoire de la détection du PrC ou de souches de SGB quand une de ces substances était présente dans le TTE à des concentrations supérieures à celles présentées dans le **Tableau 7**. Quand elles ont été testées aux concentrations présentées dans le **Tableau 7**, aucune de ces substances, à l'exception de la poudre corporelle, n'a montré d'interférence avec le test Revogene GBS DS. La poudre corporelle à la concentration la plus faible testée, 6,50E-05 % (poids/vol.), a présenté un effet inhibitoire sur la détection des souches de SGB.

Tableau 7. Liste des substances exogènes et endogènes testées avec le test Revogene GBS DS.

Substances exogènes	
Substance (nom commercial)	**Concentration dans le tampon d'échantillon sans interférence observée[1]**
Fongicide (Micatin®)	0,065 % poids/vol.
Gel de soulagement des hémorroïdes (Preparation H®)	6,50 % poids/vol.
Gel lubrifiant (Lubrifiant personnel K-Y®)	0,65 % poids/vol.
Poudre corporelle (Poudre désodorisante Vagisil®)	Concentration non déterminée*
Lotion hydratante (Lotion hydratante Aveeno®)	6,50E-03 % poids/vol.*
Huile corporelle (Huile corporelle Neutrogena®)	6,50 % vol./vol.
Spray désodorisant (Spray Summer's Eve™)	6,50 % vol./vol.
Lavements (Life BRAND™ Heavy Mineral Oil USP)	6,50 % vol./vol.
Antimicrobiens (Canesten®)	6,50 % poids/vol.
Lavements (Pentasa)	1,43E-03 % poids/vol.
Composés oraux de radiologie (Sulfate de baryum)	7,50E-04 % poids/vol.
Médicaments pour la gastrite (Nexium)	7,50E-04 % poids/vol.
Antimicrobiens (Flagyl)	4,64E-04 % poids/vol.
Anti-inflammatoire non stéroïdien (Aleve®)	2,04E-03 % poids/vol.
Antimicrobiens (DIFLUCAN® One)	5,57E-05 % poids/vol.
Médicaments pour la gastrite (Tums®)	3,48E-06 % poids/vol.*
Médicament antidiarrhéique (Imodium®)	1,50E-06 % poids/vol.*
Médicament antidiarrhéique (Pepto Bismol™)	1,95E-03 % poids/vol.*
Laxatifs (Senokot®)	3,19E-07 % poids/vol.*
Spermicide (Trojan® avec préservatifs à lubrifiant spermicide)	0,65 % vol./vol.
Lingettes humides (Lingettes humides jetables aux toilettes Equate™)	6,50 % vol./vol.
Lingettes humides (Wet Ones®)	0,65 % vol./vol.
Substances endogènes	
Substance	**Concentration dans le tampon d'échantillon sans interférence observée[1]**
Sang total	6,50E-03 % vol./vol.*
Leukocytes	1,00E+06 cellules/ml
Fluide amniotique	0,065 % vol./vol.*
Liquide séminal	6,50 % vol./vol.
Urine	6,50 % vol./vol.
Matières fécales	0,65 % vol./vol.
Méconium	6,50E-03 % poids/vol.*
ADN humain	1,55E+03 ng/ml

[1] % POIDS/VOL. : Poids/Volume (mg/mL) ; % Vol./Vol. : Volume/Volume (µL/mL) ;
* Des concentrations supérieures à ces chiffres peuvent provoquer des interférences (voir les limitations ci-dessus).

PRÉCISION/REPRODUCTIBILITÉ
Une étude de reproductibilité inter-laboratoire a été réalisée dans trois (3) laboratoires des locaux de Revogene, par deux (2) opérateurs par laboratoire, sur cinq (5) jours différents en utilisant un (1) lot de kit GBS DS (voir **Tableau 8**). Les résultats du laboratoire 1 sur cinq (5) jours ont été utilisés pour l'étude de précision (voir **Tableau 8**).

Une étude de reproductibilité inter-lot a été réalisée dans un (1) laboratoire par deux (2) opérateurs, sur cinq (5) jours en utilisant trois (3) lots de kit GBS DS (voir **Tableau 9**).

Pour les études de reproductibilité et de précision, un total de 60 réplicats d'échantillons négatifs et de 90 réplicats de chaque catégorie d'échantillons positifs, tous préparés dans une matrice simulée négative au SGB, ont été testés. La souche de SGB ATCC® 13813™ (non hémolytique) a été utilisée pour les échantillons positifs.

Les catégories d'échantillons ont été décrites comme suit :
- Faiblement positif (FP) : 1,95 x LD ou 731 CFU/mL de tampon d'échantillon
- Modérément positif (MP) : 3 x LD ou 1 125 CFU/mL de tampon d'échantillon
- Vrai négatif (VN) : échantillons sans cible SGB

Pour la reproductibilité inter-laboratoires, la concordance globale en pourcentage était de 100 % pour les VN, 98,8 % pour les MP et 96,7 % pour les FP de la souche du SGB ATCC® 13813™ (**Tableau 8**). Pour l'étude de précision, la concordance globale en pourcentage était de 100 % pour les VN, 96,7 % pour les MP et 96,7 % pour les FP de la souche du SGB ATCC® 13813™ (**Tableau 8, Laboratoire 1**). Pour la reproductibilité inter-lots, la concordance globale en pourcentage était de 100 % pour les VN, 97,8 % pour les MP et 92,2 % pour les FP de la souche du SGB ATCC® 13813™ (**Tableau 9**). Les valeurs seuil du cycle (Ct) moyennes globales avec composante de la variance (% CV) sont montrées dans les **Tableaux 8** et **9**. Le résumé des résultats globaux de l'étude de reproductibilité (inter-laboratoires et inter-lots combinés) est montré dans le **Tableau 10**.

Tableau 8. Résultats de l'étude de précision et de reproductibilité inter-laboratoires à l'aide d'un (1) lot de kit de test GBS DS

Laboratoire 1, instrument 1, lot 1				
ID de panel	**Résultats/Total**	**% concordance[1]**	**Ct Moyenne[2]**	**Ct % CV**
FP	29/30	96,7 %	38,2	5,6
MP	29/30	96,7 %	37,3	4,2
VN	20/20	100 %	30,2	3,1
Laboratoire 2, instrument 2, lot 1				
ID de panel	**Résultats/Total**	**% concordance[1]**	**Ct Moyenne[2]**	**Ct % CV**
FP	28/30	93,3 %	36,7	2,9
MP	30/30	100 %	36,9	4,7
VN	20/20	100 %	32,5	3,1
Laboratoire 3, instrument 3, lot 1				
ID de panel	**Résultats/Total**	**% concordance[1]**	**Ct Moyenne[2]**	**Ct % CV**
FP	30/30	100 %	37,9	5,5
MP	30/30	100 %	36,4	3,7
VN	20/20	100 %	30,1	1,8
Global				
ID de panel	**Résultats/Total**	**% concordance[1]**	**Ct Moyenne[2]**	**Ct % CV**
FP	87/90	96,7 %	37,6	5,1
MP	89/90	98,8 %	36,9	4,3
VN	60/60	100 %	30,9	4,6

[1] Pour la catégorie VN, la concordance en pourcentage a été calculée pour les résultats négatifs.
[2] Pour les catégories FP et MP, les valeurs Ct rapportées sont pour la cible de SGB. Pour la catégorie VN, les valeurs Ct rapportées sont pour le PrC.

Tableau 9. Résultats de l'étude de reproductibilité inter-lots à l'aide de trois (3) lots de kit de test GBS DS

Laboratoire 1, instrument 1, lot 1				
ID de panel	**Résultats/Total**	**% concordance[1]**	**Ct Moyenne[2]**	**Ct % CV**
FP	29/30	96,7 %	38,2	5,6
MP	29/30	96,7 %	37,3	4,2
VN	20/20	100 %	30,2	3,1
Laboratoire 1, instrument 1, lot 2				
ID de panel	**Résultats/Total**	**% concordance[1]**	**Ct Moyenne[2]**	**Ct % CV**
FP	26/30	86,7 %	38,6	6,1
MP	29/30	96,7 %	37,0	4,8
VN	20/20	100 %	29,9	2,6
Laboratoire 1, instrument 1, lot 3				
ID de panel	**Résultats/Total**	**% concordance[1]**	**Ct Moyenne[2]**	**Ct % CV**
FP	28/30	93,3 %	37,1	3,5
MP	30/30	100 %	38,0	5,7
VN	20/20	100 %	29,9	2,6
Global (tous les lots)				
ID de panel	**Résultats/Total**	**% concordance[1]**	**Ct Moyenne[2]**	**Ct % CV**
FP	83/90	92,2 %	37,9	5,4
MP	88/90	97,8 %	37,4	5,0
VN	60/60	100 %	30,0	2,8

[1] Pour la catégorie VN, la concordance en pourcentage a été calculée pour les résultats négatifs.
[2] Pour les catégories FP et MP, les valeurs Ct rapportées sont pour la cible de SGB. Pour la catégorie VN, les valeurs Ct rapportées sont pour le PrC.

Tableau 10. Résumé des résultats de l'étude de reproductibilité (inter-laboratoires et inter-lots combinés)

Tous les laboratoires et les lots combinés				
ID de panel	**Résultats/Total**	**% concordance[1]**	**Ct Moyenne[2]**	**Ct % CV**
FP	141/150	94,0 %	37,7	5,2
MP	148/150	98,7 %	37,1	4,8
VN	100/100	100 %	30,5	4,2

[1] Pour la catégorie VN, la concordance en pourcentage a été calculée pour les résultats négatifs.
[2] Pour les catégories FP et MP, les valeurs Ct rapportées sont pour la cible de SGB. Pour la catégorie VN, les valeurs Ct rapportées sont pour le PrC.

ÉTIQUETAGE ÉLECTRONIQUE

La documentation associée à ce produit peut être consultée en ligne à l'adresse www.meridianbioscience.com/pi. De plus, des copies papier sont disponibles sur demande en contactant votre distributeur local ou par téléphone en appelant le numéro figurant sur la boîte du kit.

ESPAÑOL

revogene®

GBS DS

Para su uso con el analizador Revogene®

REF **410100**

IVD **Para diagnóstico *in vitro***

USO INDICADO

El ensayo Revogene® GBS DS, que se realiza en el analizador Revogene®, es una prueba cualitativa de diagnóstico *in vitro* diseñada para detectar ADN del *estreptococo* del grupo B (EGB) a partir de hisopados vaginales/rectales obtenidos de mujeres embarazadas. El ensayo Revogene GBS DS utiliza el procesamiento de muestras automatizado y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real para detectar una secuencia del gen *cfb* específica del genoma de *Streptococcus agalactiae*.

El ensayo Revogene GBS DS se emplea para identificar la colonización *intraparto* de EGB, pero no proporciona resultados de sensibilidad. No está pensado para diagnosticar ni supervisar el tratamiento de la infección por EGB. Para realizar antibiogramas, como se recomienda en el caso de las mujeres alérgicas a la penicilina, hacen falta cepas aisladas en cultivo.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El *estreptococo* del grupo B es una bacteria Gram-positiva que se encuentra normalmente en el tracto gastrointestinal, el aparato genital y las vías urinarias de los adultos sanos. Aproximadamente un 10-30 % de todas las mujeres embarazadas presentan colonización por EGB en la vagina o el recto[1].

La colonización de las madres por EGB no suele provocar ningún síntoma ni tener efecto alguno sobre la salud. Sin embargo, esta bacteria se puede transmitir al recién nacido, principalmente durante el trabajo de parto y el nacimiento (*intraparto*) [2], y puede dar lugar a enfermedades graves en los recién nacidos, como septicemia, neumonía o meningitis. La tasa de mortalidad de los lactantes con infección por estreptococo del grupo B de aparición temprana (durante la primera semana de vida) se estima actualmente que está entre el 4 y el 6 %[1]. Los bebés que sobreviven pueden tener discapacidades permanentes, como pérdida de audición o de visión o retraso mental[2].

Las directrices actuales para la prevención de la enfermedad neonatal por EGB recomiendan practicar pruebas de detección a las mujeres embarazadas a las 35-37 semanas de gestación (*prenatal*) para determinar si hay colonización por EGB. La mayoría de las pruebas de EGB se realizan mediante cultivo, y se pueden tardar hasta 48 horas en identificar definitivamente el EGB tras una incubación inicial de 18 a 24 horas de un hisopo vaginal/rectal en un caldo de cultivo selectivo.

Si el estado de colonización es positivo, se administra a las mujeres una profilaxis antibiótica *intraparto* (PAI) para prevenir la infección perinatal por estreptococos del grupo B. Sin embargo, la colonización por EGB puede ser intermitente durante el embarazo, con lo que se obtiene una correlación insuficiente entre los resultados de las pruebas de detección prenatal y la colonización *intraparto* por EGB[6]. Además, la detección *prenatal* excluye a las mujeres que tienen un parto prematuro o a las mujeres cuyo estado se desconoce cuando llegan al hospital. Por consiguiente, podría ocurrir que no se tratase adecuadamente la colonización por EGB en el caso de algunas mujeres y al mismo tiempo se tratase a otras innecesariamente con antibióticos[7].

El ensayo GBS DS puede proporcionar resultados de una (1) a ocho (8) muestras en tan solo 40 minutos para las muestras positivas y aproximadamente 70 minutos para las muestras negativas, utilizando directamente la muestra de hisopado obtenida de la mujer durante el trabajo de parto (*intraparto*). El ensayo reduce al máximo la intervención del técnico desde el momento en que se coloca el cartucho microfluídico desechable de un solo uso (denominado en lo sucesivo PIE) con la muestra en el carrusel del Revogene hasta que se dispone de los resultados.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El ensayo Revogene GBS DS se lleva a cabo en el analizador Revogene, que automatiza la homogeneización y la dilución de la muestra, la lisis celular, la amplificación del ADN y la detección de los productos de PCR amplificados. E usuario solo tiene que intervenir para descargar la muestra de la paciente en el tubo de tampón de muestra (TTM), transferir la muestra del TTM al PIE e introducir los PIE en el carrusel del Revogene.

Cada PIE es un dispositivo totalmente integrado y cerrado en el que se dispensa una muestra y, a través de diferentes cámaras y canales de microfluidos, se produce el procesamiento de la muestra (es decir, la homogeneización y dilución de la muestra, la lisis celular y la extracción de ADN) y los pasos subsiguientes de la PCR en tiempo real (**figura 1**). El líquido de una muestra individual se transfiere por centrifugación de una (1) cámara a la siguiente de forma secuencial, y todos los reactivos específicos de la PCR se incorporan y se secan dentro del pocillo de PCR. Cada PIE incorpora un control del proceso (CPr) para verificar el procesamiento de la muestra y los pasos de amplificación, incluida la posible presencia de sustancias inhibidoras, así como fallos de los microfluidos, el instrumento o los reactivos. Los productos amplificados se detectan en tiempo real mediante sondas químicas TaqMan® específicas de la diana. Una vez cargado un PIE en el Revogene ya no es necesaria la intervención del técnico.

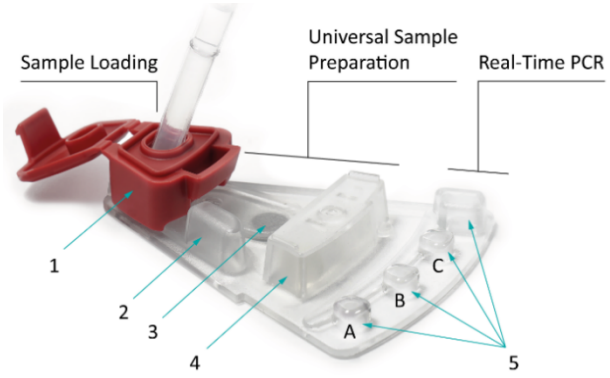

Figura 1. Vista superior de un PIE.
1: Cámara de carga de la muestra, 2: Cámara de desbordamiento, 3: Cámara de homogeneización con CPr en su interior, 4: Cámara de dilución/lisis, 5: Tres (3) pocillos de PCR (A a C de izquierda a derecha) y una (1) Cámara de residuos (en el lado derecho).

El analizador Revogene puede procesar de una (1) a ocho (8) muestras simultáneamente en la misma serie analítica. El carrusel debe contener ocho (8) PIE para mantener el equilibrio termodinámico de la serie. Durante el análisis y a final del mismo, el sistema calcula los resultados a partir de las señales fluorescentes medidas y los algoritmos de cálculo que incorpora. El usuario puede imprimir, transferir y almacenar los resultados que se indican en la pantalla táctil utilizando el puerto USB o la opción de conectividad.

La función Resultado positivo temprano (E-PRO) da un resultado positivo si la señal del ADN diana alcanza un umbral predeterminado antes de que se hayan completado todos los ciclos de la PCR. Con E-PRO se puede obtener un resultado positivo en aproximadamente 40 minutos si las muestras son muy positivas. Para las muestras negativas, el resultado tarda aproximadamente 70 minutos.

REACTIVOS Y MATERIALES

El kit Revogene GBS DS contiene suficientes reactivos y materiales para procesar 24 muestras. El kit contiene los siguientes materiales:

1. 24 **tubos de tampón de muestra GBS DS** (TTM): tubo con etiqueta de código de barras con una solución tamponada TE 1X (Tris-HCl pH 8,0/EDTA.Na_2) que actúa de tampón de dilución y conservación de la muestra.
2. 24 **dispositivos de transferencia desechable** (DTD): pipeta de plástico con marcas de volumen mínimo y máximo para transferir la muestra del TTM al PIE.
3. 24 bolsas individuales, cada una de ellas con un (1) **cartucho microfluídico GBS DS (PIE)** : dispositivo integrado con etiqueta de código de barras compuesto de reactivos secos para procesar la muestra y para los pasos de la PCR en tiempo real con el fin de amplificar y detectar simultáneamente el ADN del CPr y el ADN del gen *cfb* del EGB. Cada PIE contiene CPr, cebadores y una sonda química TaqMan® específicos del CPr, cebadores y una sonda química TaqMan® específicos del gen *cfb* del EGB, dNTP, tampón y ADN polimerasa.

MATERIALES/EQUIPOS NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Revogene® (ref. n.º 610210)
2. Guantes desechables sin talco
3. Agitador vórtex con una velocidad máxima ≥3000 rpm
4. Gradilla de muestras (ref. n.º 132539; opcional)
5. Medio líquido de Stuart de Copan (ref. n.º 141C)
6. PIE SIMULADO (ref. n.º 610208; opcional)
7. Tijeras limpias (opcional)
8. Gasa (opcional)

ADVERTENCIA Y PRECAUCIONES

1. El ensayo Revogene GBS DS solo se puede llevar a cabo en el analizador Revogene.
2. No utilice el kit si al recibirlo observa que la etiqueta que sella la caja exterior está rota.
3. No utilice los PIE GBS DS si las bolsas de protección están abiertas o rotas al llegar.
4. No intercambie DTD, TTM y PIE de kits de distintos lotes.
5. Cada DTD y PIE GBS DS de un solo uso se utiliza para procesar una (1) muestra. No reutilice el PIE ni el DTD.
6. Maneje siempre las muestras como si fueran infecciosas y de acuerdo con buenas prácticas de laboratorio, como las que se describen en Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories[3] y en el documento M29-A44 del CLSI[4].
7. Use guantes desechables sin talco mientras manipula las muestras y lávese después bien las manos.
8. El PIE GBS DS contiene reactivos secos. No debe abrir la bolsa de protección hasta que esté listo para hacer el análisis.
9. Deseche los residuos, reactivos y materiales que no se hayan utilizado con arreglo a la normativa nacional, federal, provincial, estatal y local.
10. Para evitar la contaminación con productos de amplificación o partículas infecciosas, no abra ni desmonte el PIE después de usarlo.
11. No utilice un PIE si se ha caído, agitado o invertido cuando ya se ha cargado la muestra, los resultados podrían no ser válidos.
12. El ensayo Revogene GBS DS no proporciona resultados de sensibilidad. Para cultivar cepas aisladas y realizar antibiogramas, como se recomienda en el caso de las mujeres alérgicas a la penicilina, hace falta más tiempo.
13. No utilice un kit si ya pasado su fecha de caducidad.
14. No refrigere el PIE cargado.
15. Cada serie analítica debe procesarse con ocho (8) PIE colocados en el carrusel del Revogene para mantener el equilibrio termodinámico y mecánico de la serie.

DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN

No se conoce ningún riesgo asociado con este producto.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Las muestras de hisopado vaginal/rectal deben almacenarse a 25 C si se van a procesar en los dos (2) días siguientes a su obtención. De lo contrario, deben conservarse a 2-8 C hasta un máximo de siete (7) días.
2. Almacene el kit Revogene GBS DS a una temperatura de 2-25 C. La fecha de caducidad se indica en la etiqueta del equipo.
3. No abra una bolsa hasta que esté listo para hacer el análisis. Después de abrir la bolsa, use el PIE antes de una (1) hora.
4. El TTM inoculado se puede conservar a 25 C durante un máximo de dos (2) días o a 2-8 C durante un máximo de tres (3) días.

INSTRUCCIONES DE USO

No se conoce ningún riesgo asociado con este producto.

RECOLECCIÓN Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

Tipo de muestra: Hisopado vaginal/rectal obtenido de una mujer durante el trabajo de parto (*intraparto*).

Las muestras vaginales/rectales de una misma paciente deben obtenerse siguiendo las directrices publicadas para la recolección de muestras clínicas para el cultivo de EGB[1].

1. Obtenga el hisopado vaginal/rectal siguiendo las directrices europeas[7]:
   a. Tome una muestra de la parte inferior de la vagina (orificio vaginal), seguida de una del recto (es decir, introduzca el hisopo a través del esfínter anal) utilizando el mismo hisopo o dos hisopos diferentes. Procure no mezclar la muestra con heces, agua, orina o jabón.
   b. Inmediatamente después de obtener la muestra, coloque el hisopo o hisopos en un medio de transporte no nutritivo (medio líquido de Stuart).
2. Etiquete el dispositivo de transporte con el identificador de la muestra o de la paciente (ID) y llévela a analizar al laboratorio (consulte el apartado **Almacenamiento y estabilidad**).

PREPARACIÓN Y MANEJO DE LA MUESTRA

NOTA 1: Comience el análisis antes de que haya pasado una (1) hora desde el momento de abrir la bolsa que contiene el PIE.

PREPARACIÓN DEL TTM

1. Para cada muestra que se vaya a analizar, Saque un TTM de la caja del kit por cada muestra que se vaya a analizar
2. Identifique (o etiquete) el TTM con el identificador de la muestra sin ocultar ni escribir sobre el código de barras. Coloque el TTM en la gradilla de muestras, si se utiliza.
3. Desenrosque la tapa del TTM. Saque el hisopo de la funda de transporte y transfiéralo al TTM. Usando una gasa, rompa la parte que sobresale de la varilla del hisopo sujetando el hisopo por la varilla en un punto próximo al borde del tubo. Levante el hisopo unos milímetros (mm) del fondo del tubo y doble la varilla contra el borde del tubo para romperla. Alternativamente, use unas tijeras limpias para cortar la varilla. Abra solamente un (1) TTM a la vez.
4. Vuelva a colocar la tapa del TTM, ciérrelo bien y coloque de nuevo el TTM en la gradilla de muestras (si se utiliza).
5. Prepare las demás muestras que se vayan a analizar repitiendo los pasos 1 a 4 y vaya luego al paso 6.
6. Cuando todas las muestras estén preparadas, proceda a la preparación del PIE GBS DS (siguiente apartado).

PREPARACIÓN DEL PIE

NOTA 1: Procese una (1) sola muestra cada vez.

7. Agite el TTM en un agitador vórtex durante 30 segundos a la velocidad máxima (≥3000 rpm).
8. Abra el precinto de la bolsa del PIE y saque el PIE. Una vez desprecintada la bolsa, es necesario usar el PIE antes de una (1) hora.
9. Coloque el PIE en la gradilla de muestras, si se utiliza, o sobre una superficie plana.
10. Saque un DTD de la caja del kit. Desenrosque la tapa del TTM usando el DTD, y aspire el tampón de muestra (TM) inoculado apretando del todo el bulbo. El nivel del líquido del DTD debe estar situado en un punto cualquiera entre las dos (2) marcas (**figura 2**). Si el nivel de líquido no está entre las dos (2) marcas, descargue completamente el TM en el TTM y repita este paso.
11. Descargue todo el volumen del TM del DTD en la Cámara de carga de la muestra del PIE (**figura 1**).
12. Ponga y apriete bien las tapas del PIE y del TTM.
13. Repita los pasos 7 a 12 para cualquier otro TTM que haya preparado y vaya al apartado donde se explica el manejo del analizador Revogene.

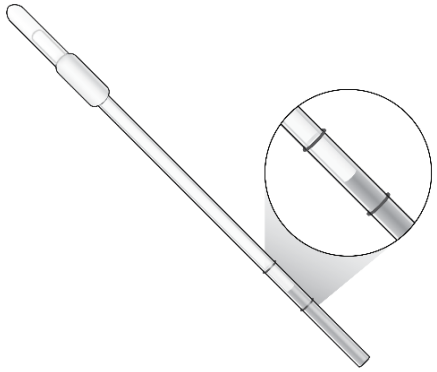

Figura 2. Ejemplo de un nivel adecuado de tampón de muestra (TM) utilizando el dispositivo de transferencia desechable (DTD).

MANEJO DEL REVOGENE

NOTA 1: Todos los análisis deben efectuarse con ocho (8) PIE puestos en el analizador Revogene. Si se van a procesar menos de ocho (8) muestras, llene los espacios vacíos con PIE SIMULADOS*.
NOTA 2: Consulte el manual de usuario del analizador Revogene[5] para obtener más información sobre la configuración y el funcionamiento del mismo.

1. Encienda el analizador Revogene (si todavía no lo ha hecho). El software se inicia automáticamente.
2. Inicie sesión introduciendo el <**nombre de usuario**> y la <**contraseña**>, y pulse <**Iniciar sesión**>. Aparece automáticamente el menú principal.
3. Pulse **<Configurar análisis>**.
4. Introduzca el identificador de la muestra utilizando el lector de códigos de barras o manualmente. Si lo introduce manualmente, debe tocar el icono del **lápiz** de la línea **Escanear o introducir ID**.
5. Introduzca los códigos de barras del TTM y del PIE con el escáner de códigos de barras del Revogene, situando cuidadosamente el PIE en vertical delante del escáner. Los códigos de barras del TTM y del PIE también se pueden introducir manualmente (tocando el icono del **lápiz** de las líneas correspondientes). Maneje el PIE con cuidado, procurando no sacudirlo y que no se caiga.
6. (Opcional) Toque el icono del **lápiz** de la línea **<Añadir comentarios>** y escriba un comentario.
7. Inserte el PIE en el Revogene, en cualquier posición del carrusel. El software asocia automáticamente la muestra y el TTM con el PIE correcto.
8. Confirme que se ha insertado el PIE en el analizador pulsando **<Aceptar>** en la línea **<Insertar el PIE en el analizador>** y repita los pasos 4 a 8 con todas las muestras. Si se están analizando menos de ocho (8) PIE, cargue PIE SIMULADOS* en las demás posiciones del carrusel. Al insertar PIE SIMULADOS en el Revogene no es necesario escanearlos.
9. Cuando haya introducido todos los PIE en el carrusel, pulse **<Siguiente>**.
10. Si ha introducido PIE SIMULADOS en el carrusel, siga las instrucciones de la pantalla.
11. Escanee el anillo de retención y colóquelo en el carrusel. Cierre la tapa del analizador.
12. Inicie el análisis pulsando **<Iniciar>**. Un temporizador en la pantalla y diversas luces de la tapa del Revogene indican la progresión del análisis.
13. Almacene el TTM inoculado en condiciones apropiadas (consulte el apartado **Almacenamiento y estabilidad**) para repetir el ensayo, si es necesario.

* Si no hay PIE SIMULADOS disponibles, utilice varios PIE del ensayo sin usar cargados con TM sin inocular (BLANCOS) o con controles externos.

VER Y EXPORTAR RESULTADOS
NOTA 1: Consulte el manual de usuario del analizador Revogene[5] para obtener más información sobre la adquisición de los resultados analíticos.

DURANTE EL ANÁLISIS
1. Si las luces de la tapa del Revogene comienzan a parpadear, se trata de un aviso de un resultado positivo temprano (E-PRO). También aparece un icono en la barra de título de la pantalla.

   El icono de **E-PRO** incluye el símbolo "+" y un número que representa la cantidad de resultados positivos disponibles en ese momento (**figura 3)**. El número aumenta si se obtienen más resultados positivos.

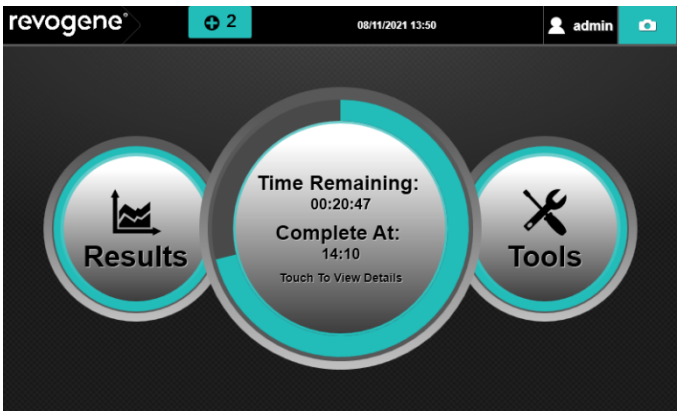

Figura 3. Pantalla del menú principal con el icono de E-PRO.

2. Si se ha cerrado la sesión de usuario, introduzca el <**nombre de usuario**> y la <**contraseña**> y pulse <**Iniciar sesión**>.
3. Toque el icono de **E-PRO**.
4. Aparece automáticamente en la pantalla una lista con los resultados del análisis actual (**figura 4**). Para cada línea de muestra, habrá un símbolo positivo o un símbolo de En curso. El símbolo En curso, que consiste en una animación giratoria, aparece en la pantalla hasta que se obtiene un resultado positivo o se completa el análisis.
5. Pulse sobre el símbolo del resultado positivo para abrir el informe provisional.
6. (Opcional) Pulse <**Exportar**> y guarde el informe provisional donde corresponda (es decir, la memoria USB o la opción de conectividad).

   Una vez consultada la pantalla de resultados, desaparecen las notificaciones de E-PRO. Cuando se detecta un resultado positivo temprano adicional, aparecen nuevas notificaciones de E-PRO.

   Cualquier resultado de una muestra que aparezca en el informe provisional es definitivo y no se modifica en el informe final de resultados del ensayo.

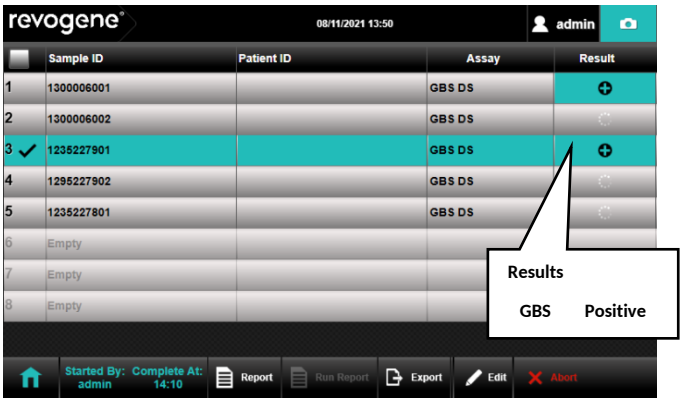

Figura 4. Presentación de los resultados en curso.

AL FINAL DEL ANÁLISIS

7. Una vez finalizado el análisis, la tapa se abre automáticamente.
8. Si se ha cerrado la sesión del Revogene, vuelva a introducir el **<nombre de usuario>** y la **<contraseña>** y pulse **<Iniciar sesión>**. Aparece automáticamente el menú principal.
9. Pulse el icono **Resultados** para acceder a los resultados analíticos. La ventana **Resultados** muestra el resultado o resultados obtenidos para cada muestra (**figura 5**).
10. Toque **<Última serie>** para ver los resultados del último análisis.

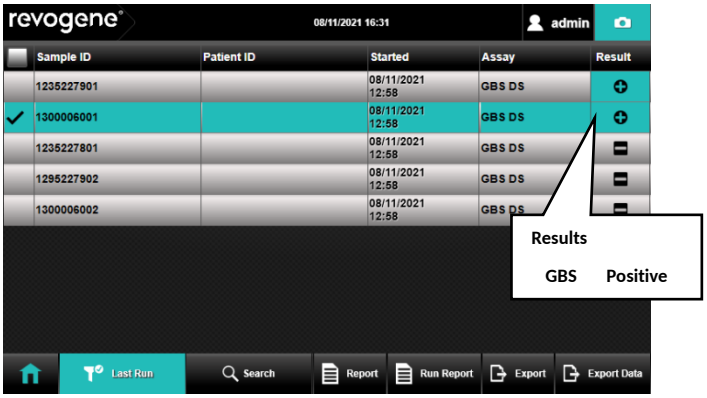

Figura 5. Ventana de resultados con los resultados obtenidos para cada muestra.

11. En **<Última serie>**, seleccione las muestras para las que se tienen que exportar informes de resultados. Se pueden seleccionar todas las muestras de una sola vez marcando la casilla situada en la esquina superior izquierda de la pantalla.
12. Pulse **<Exportar>** y guarde los informes donde corresponda (es decir, la memoria USB o la opción de conectividad).
13. (Opcional) Pulse <**Buscar**> para encontrar una determinada muestra y su resultado.
14. Retire el anillo de retención y los PIE del Revogene. Los PIE usados deben desecharse en recipientes de residuos apropiados con arreglo a las prácticas habituales del centro.

REPETICIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA
RESULTADO INCONCLUSO O INDETERMINADO DE UNA MUESTRA
NOTA 1: Al tratarse de una prueba *intraparto* y dependiendo de las prácticas y políticas de cada centro, puede que no sea factible repetir la prueba. Es importante que haya una buena coordinación entre los médicos y el laboratorio de análisis para no retrasar la administración de antibióticos mientras están pendientes los resultados.

Cuando se obtiene un resultado inconcluso (RIC) o indeterminado (IND) en una muestra, debe volver a analizarse el correspondiente TTM inoculado dentro del plazo que se indica en el apartado **Almacenamiento y estabilidad**. Solo se permite repetir el análisis del TTM una (1) vez.

Agite el TTM en un vórtex durante al menos 30 segundos a la velocidad máxima. Si utiliza una bolsa nueva, siga los pasos 8 a 13 del apartado **Preparación y manejo de la muestra/Preparación del PIE**, y seguidamente las instrucciones del apartado **Manejo del Revogene**.

RESULTADO INCONCLUSO, INDETERMINADO, NEGATIVO FALSO O POSITIVO FALSO DE UN CONTROL EXTERNO
Si se obtiene un resultado inconcluso, indeterminado, negativo falso o positivo falso para un control externo, la serie analítica no es válida. Las muestras incluidas en la serie deben volver a analizarse utilizando el correspondiente TTM inoculado, junto con controles externos recién preparados, dentro del plazo de tiempo que se indica en el apartado **Almacenamiento y estabilidad**. C onsulte el apartado **Control de calidad** a continuación para saber cómo preparar controles externos frescos.

Para repetir la prueba utilizando el correspondiente TTM inoculado, agite el TTM en un agitador vórtex durante al menos 30 segundos a la velocidad máxima. Si utiliza una bolsa nueva, siga los pasos 8 a 13 del apartado **Preparación y manejo de la muestra/Preparación del PIE**, y seguidamente las instrucciones del apartado **Manejo del Revogene**.

CONTROL DE CALIDAD
Los procedimientos de control de calidad permiten comprobar la exactitud y la precisión del proceso analítico. Cada laboratorio debe establecer el número, tipo y frecuencia de los materiales de control del análisis conforme a la reglamentación aplicable o a las agencias de acreditación. Si es apropiado con arreglo a las políticas y procedimientos locales, se puede emplear el procedimiento que se describe a continuación.

CONTROL DEL PROCESO
Cada PIE contiene un control del proceso (CPr) para verificar la homogeneización y la dilución de la muestra, la lisis celular, la inhibición de la amplificación del ADN y un posible fallo de los reactivos del ensayo.

CONTROLES EXTERNOS
NOTA 1: Para preparar cada control externo deben utilizarse DTD, TTM y PIE distintos.

1. Las buenas prácticas de laboratorio recomiendan usar materiales de control. Los usuarios deben seguir las correspondientes directrices relativas al análisis de controles de externos. Se recomienda analizar un (1) control externo positivo y un (1) control externo negativo al menos una vez al día hasta que se consiga validar adecuadamente el proceso con el ensayo Revogene GBS DS en cada laboratorio.
2. Meridian Bioscience, Inc. no proporciona los materiales de control externo. El software del analizador Revogene no utiliza controles externos para interpretar los resultados analíticos de las muestras. Los controles externos se tratan como si fueran muestras.
3. Antes de notificar los primeros resultados positivos de una muestra, debe tener resultados válidos para los controles externos positivo y negativo.
4. Como control externo positivo, se pueden utilizar materiales de control comerciales tales como una muestra positiva previamente caracterizada o una muestra negativa enriquecida con organismos bien caracterizados. El control externo positivo debe utilizarse conforme a la reglamentación aplicable o a las agencias de acreditación.
5. Como control externo negativo, se pueden utilizar materiales de control comerciales tales como una muestra negativa previamente caracterizada. El control externo negativo debe utilizarse conforme a la reglamentación aplicable o a las agencias de acreditación.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS
El analizador Revogene calcula los resultados a partir de las señales fluorescentes medidas y de los algoritmos de cálculo que incorpora, y los presenta en la ventana de "Resultados". Los posibles resultados son:

Muestra	Símbolo	Resultado	Interpretación
Muestra de paciente		Positivo	Se ha detectado el ADN diana del EGB.
		Negativo	No se ha detectado el ADN diana del EGB.
		Inconcluso	Fallo de amplificación/detección del control del proceso así como del ADN diana del EGB. Puede deberse a la presencia de muestras inhibitorias o a un fallo de los microfluidos o de los reactivos. Es necesario repetir el análisis (consulte el apartado **Repetición del procedimiento de la prueba** para obtener más información).
		Indeterminado	No hay resultados que notificar por un posible error de detección del Revogene durante el procesamiento del ensayo, el análisis de los datos o si el usuario interrumpe el análisis. Es necesario repetir el análisis (consulte el apartado **Repetición del procedimiento de la prueba** para obtener más información).
		En curso	Los resultados todavía no están disponibles.
Control externo positivo		Positivo	Resultado del control externo positivo válido.
		Negativo	Un resultado negativo para un control externo positivo indica un problema de manejo/preparación de la muestra. **La serie analítica no es válida.** Revise la técnica de manejo/preparación de las muestras. Es necesario repetir el análisis (consulte el apartado **Repetición del procedimiento de la prueba** para obtener más información).
		Inconcluso	Resultado del control externo positivo incorrecto. **La serie analítica no es válida.** Es necesario repetir el análisis (consulte el apartado **Repetición del procedimiento de la prueba** para obtener más información).
		Indeterminado	Resultado del control externo positivo incorrecto. **La serie analítica no es válida.** Es necesario repetir el análisis (consulte el apartado **Repetición del procedimiento de la prueba** para obtener más información).
		En curso	Los resultados todavía no están disponibles.
Control externo negativo		Positivo	Un resultado positivo para un control externo negativo indica un problema de manejo o contaminación de la muestra. **La serie analítica no es válida.** Revise la técnica de manejo de las muestras. Es necesario repetir el análisis (consulte el apartado **Repetición del procedimiento de la prueba** para obtener más información).
		Negativo	Resultado del control externo negativo válido.
		Inconcluso	Resultado del control externo negativo incorrecto. **La serie analítica no es válida.** Es necesario repetir el análisis (consulte el apartado **Repetición del procedimiento de la prueba** para obtener más información).
		Indeterminado	Resultado del control externo negativo incorrecto. **La serie analítica no es válida.** Es necesario repetir el análisis (consulte el apartado **Repetición del procedimiento de la prueba** para obtener más información).
		En curso	Los resultados todavía no están disponibles.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO
1. El ensayo Revogene GBS DS solo debe realizarlo personal debidamente formado en el analizador Revogene.
2. Un resultado analítico positivo no indica necesariamente la presencia de organismos viables. Sin embargo, sí es indicativo de la presencia de ADN de EGB.
3. Uso del ensayo Revogene GBS DS solo para muestras clínicas recogidas con medio líquido de Stuart de Copan, ref. n. 141C. No se ha evaluado el uso del ensayo Revogene GBS DS ni se han establecido sus características de rendimiento para otros tipos de muestras clínicas distintos de los especificados.
4. Las muestras cervicouterinas, perianales, perirrectales o perineales no son aceptables, y no se debe utilizar un espéculo para obtener el cultivo.
5. Los resultados analíticos erróneos pueden deberse a una recolección, manipulación o almacenamiento inadecuados de las muestras, a un error técnico o a una confusión de las muestras. Para evitar resultados erróneos, es necesario cumplir escrupulosamente las instrucciones de este prospecto, del manual de usuario del analizador Revogene[5] y las directrices establecidas.
6. No cerrar bien la tapa de un PIE puede dar lugar a una contaminación o hacer que se obtengan resultados falsos negativos.
7. Aunque no se conocen cepas/aislados del EGB que carezcan del gen *cfb*, la aparición de una cepa de ese tipo daría lugar a un resultado erróneo (negativo falso) en el ensayo Revogene GBS DS.
8. Las mutaciones o polimorfismos de las regiones de unión al cebador o a la sonda podrían afectar a la detección de las variantes del gen *cfb* del EGB, y dar lugar a un resultado negativo falso en el ensayo Revogene GBS DS.
9. Los resultados del ensayo Revogene GBS DS deben utilizarse como complemento de las observaciones clínicas y otra información a disposición del médico.
10. Un resultado negativo no descarta la posibilidad de una colonización por EGB. Pueden obtenerse resultados negativos falsos si la concentración de EGB es inferior al límite de detección del ensayo.
11. El objetivo del análisis no es diferenciar a las portadoras del EGB de quienes padecen la enfermedad estreptocócica.
12. Los resultados del ensayo pueden verse afectados por un tratamiento antimicrobiano simultáneo, ya que puede que se siga detectando el ADN del EGB.
13. La presencia de loción hidratante (p. ej., Aveeno®), sangre completa o meconio en el tampón de la muestra a una concentración > 6,5 x 10^{-3} % (p/v o v/v) puede interferir con el ensayo Revogene GBS DS.
14. Los fungicidas (p. ej., Micatin®) o el líquido amniótico pueden interferir con el ensayo Revogene GBS DS si cualquiera de estas sustancias está presente en el tampón de la muestra a una concentración > 0,065 % (p/v o v/v).
15. La presencia en el tampón de la muestra de medicamentos para la gastritis (p. ej., Tums®) a una concentración > 3,48 x 10^{-6} % (p/v), antidiarreicos (p. ej., Imodium®) a una concentración > 1,50 x 10^{-6} % (p/v) y medicamentos antidiarreicos (p. ej., Pepto Bismol™) a una concentración > 1,95 x 10^{-3} % (p/v) o laxantes (p. ej., Senokot®) a una concentración > 3,19 x 10^{-7} % (p/v) puede interferir con el ensayo Revogene GBS DS.
16. Los polvos para el cuerpo (desodorante en polvo Vagisil®) a la concentración más baja ensayada –6,50 x 10^{-5} % (p/v)– tuvieron un efecto inhibidor sobre la detección de cepas del EGB.

VALORES ESPERADOS
Durante la evaluación clínica del ensayo Revogene GBS DS, se obtuvieron un total de 462 resultados notificables conformes a nivel del cultivo del método de referencia. La tasa global de prevalencia del EGB fue del 26,4 % (112 de 462) con un IC del 95 % del 22,5 % al 30,9 %.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Para evaluar el funcionamiento clínico del ensayo Revogene GBS DS, se llevó a cabo un estudio en las instalaciones de Meridian Bioscience Canada, Inc. Se obtuvieron de forma prospectiva 462 hisopados vaginales/rectales *intraparto* de mujeres embarazadas en dos (2) centros canadienses. Solo se incluyeron muestras que cumplían los criterios de inclusión del estudio y que no cumplían ninguno de los criterios de exclusión. Se obtuvieron y analizaron dos (2) hisopados por paciente. El primero se analizó con el método de cultivo de referencia, mientras que el segundo se descargó en TM, se congeló a -70 C y se analizó después con el ensayo Revogene GBS DS en el analizador Revogene. De estas 462 muestras, 422 se analizaron con el ensayo Revogene GBS DS en las instalaciones de Meridian Bioscience Canada, Inc.; las otras 40 muestras no estaban disponibles para analizarse.

El método de cultivo de referencia se llevó a cabo en uno (1) de los centros canadienses. El método de cultivo de referencia consistió en la transferencia de un hisopado vaginal/rectal a un cultivo de enriquecimiento con caldo LIM seguido de un subcultivo en una placa de agar sangre no selectiva. La identidad de las colonias de la placa de agar sangre morfológicamente similares a las de EGB se confirmó mediante antisueros de tipificación de estreptococos del grupo B y/o la prueba de CAMP.

Los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) se calcularon comparando los resultados del ensayo Revogene GBS DS con el método de cultivo de referencia. El análisis de los resultados discrepantes se llevó a cabo en el centro encargado de los análisis con el método de cultivo de referencia. Una parte de las muestras con resultados discordantes entre el ensayo Revogene GBS DS y el método de cultivo se analizaron con una segunda prueba de amplificación de ácidos nucleicos (PAAN).

Resultados

Las características generales de funcionamiento del ensayo Revogene GBS DS demostraron una sensibilidad del 96,4 % (107/111; IC del 95 %: 91,1-98,6 %) y una especificidad del 89,9 % (277/308; IC del 95 %: 86,1-92,8 %). Los resultados relativos al funcionamiento de este estudio se resumen en la **tabla 1**.

En cinco (5) (1,2 %) de las 422 muestras analizadas con el ensayo Revogene GBS DS conformes a nivel de la muestra y de la PCR se obtuvo un resultado inconcluso en el análisis inicial. La tasa de resultados inconclusos después de la repetición del análisis fue del 0,7 % (3/422).

En una (1) (0,2 %) de esas mismas 422 muestras analizadas con el ensayo Revogene GBS DS se obtuvo inicialmente un resultado indeterminado. Al repetirse el análisis no hubo ningún resultado indeterminado.

Tabla 1. Características generales del funcionamiento del ensayo GBS DS en comparación con el método de referencia.

		Método de referencia		
		Positivo	**Negativo**	**Total**
Ensayo GBS DS	**Positivo**	107	31[B]	138
	Negativo	4[A]	277	281
	Total	111	308	419
Sensibilidad		96,4 % (107/111; IC del 95 %: 91,1-98,6 %)		
Especificidad		89,9 % (277/308; IC del 95 %: 86,1-92,8 %)		
Valor predictivo positivo		77,5 % (107/138; IC del 95 %: 69,9-83,7 %)		
Valor predictivo negativo		98,6 % (277/281; IC del 95 %: 96,4-99,4 %)		

[A] Se analizaron dos (2) muestras utilizando una segunda PAAN; se detectó ADN de EGB en una (1) de dos (2) muestras con resultados negativos falsos.
[B] Se analizaron quince muestras utilizando una segunda PAAN; se detectó ADN de EGB en 13 de 15 muestras con resultados positivos falsos.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO ANALÍTICAS

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

La sensibilidad analítica (límite de detección o LD) del ensayo Revogene GBS DS se determinó utilizando una matriz simulada enriquecida con varias concentraciones de suspensiones bacterianas de EGB. Se analizaron tres (3) cepas de EGB (ATCC® 12403™, ATCC® 13813™ y ATCC® BAA-22™) en 24 réplicas por cada concentración. El LD se define como la concentración más baja a la que el 95 % de todas las réplicas dieron un resultado positivo.

Con respecto a las tres (3) cepas analizadas, el LD del ensayo GBS DS en la matriz simulada osciló entre 375 y 1 500 UFC/ml de tampón de muestra (TM). Los resultados se resumen en la **tabla 2**. Se demostró la equivalencia del LD entre la matriz de hisopados clínicos vaginales/rectales previamente ensayada y con resultados negativos para EGB y la matriz simulada con las cepas ATCC® 12403™ y ATCC® 13813™.

Tabla 2. LD del ensayo Revogene GBS DS

Cepa de EGB (número de ATCC®)	**LD en la matriz simulada (UFC/mL de TM)**
Serotipo III (ATCC® 12403™)	750
Serotipo III (ATCC® BAA-22™)	1500
No hemolítica (ATCC® 13813™)	375

INCLUSIVIDAD

Para determinar la inclusividad del ensayo Revogene GBS DS se utilizaron 13 cepas de EGB que representaban 11 serotipos conocidos y una (1) cepa no hemolítica. Se analizaron diez (10) cepas de un cultivo celular cuantificado en presencia de una matriz simulada negativa para EGB con una carga de 1125 UFC/mL de TM, lo que equivale a tres (3) veces el valor del LD de la cepa ATCC® 13813™. Se analizaron tres (3) réplicas por cepa usando tres (3) lotes diferentes del kit GBS DS. Con el ensayo Revogene GBS DS, se detectaron seis (6) cepas positivas en el 100 % de los casos (3/3 réplicas) con una carga de 1125 UFC/mL de TM. Se detectaron dos (2) cepas positivas en el 100 % de los casos (ATCC® 51487™ y ATCC® BAA-2669™) con una carga de 1875 UFC/mL de TM. Las cepas ATCC® 27591™ y ATCC® 12973™ se detectaron en el 100 % de los casos con una carga de 2625 UFC/ml de TM y 15 000 UFC/mL de TM respectivamente. Las cepas ensayadas se describen en la **tabla 3**.

Tabla 3. Cepas de EGB ensayadas para determinar la inclusividad con el ensayo Revogene GBS DS.

Cepa de EGB	**Serotipo**
ATCC® 12400™	Ia
ATCC® 51487™	Ib
ATCC® 27591™	Ic
ATCC® 12973™	II
ATCC® 12403™ [1]	III
ATCC® BAA-22™ [1]	III
ATCC® 49446™	IV
ATCC® BAA-611™	V
ATCC® BAA-2671™	VI
ATCC® BAA-2670™	VII
ATCC® BAA-2669™	VIII
ATCC® BAA-2668™	IX
ATCC® 13813™ [1]	No hemolítica

[1] Cepas utilizadas para la determinación del LD, y que por lo tanto no se volvieron a analizar

Además, se realizó un análisis informático para evaluar la inclusividad de los cebadores y las sondas de la diana del ensayo Revogene GBS DS con respecto a 36 cepas adicionales de EGB que figuraban en la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) a fecha del 20 de octubre de 2016. Los resultados de la alineación no pusieron de manifiesto ninguna discrepancia con las secuencias seleccionadas. El análisis predijo la detección de todas estas cepas de EGB.

REACTIVIDAD CRUZADA

La reactividad cruzada del ensayo Revogene GBS DS se evaluó con cargas elevadas de organismos que no son la diana del ensayo, o relacionados filogenéticamente con el EGB, o que están presentes normalmente en la flora genitourinaria y en el tubo intestinal. El estudio incluía 64 bacterias, cuatro (4) levaduras, cuatro (4) virus, dos (2) parásitos y ADN humano (**tabla 4**). Las bacterias y las levaduras se analizaron con una carga ≥ 10^6 UFC/mL de TM. Los ácidos nucleicos de los virus y los parásitos y el ADN humano se analizaron con una carga ≥ 10^5 copias de ADN o ARN/ml de TM. Estos organismos se analizaron utilizando soluciones de ácido nucleico o cultivos celulares cuantificados en presencia de una matriz simulada negativa para EGB. Se analizaron tres (3) réplicas por organismo usando tres (3) lotes diferentes del kit GBS DS.

En el ensayo Revogene GBS DS no se detectó a ninguno de los organismos o ácidos nucleicos analizados en las condiciones del estudio.

Tabla 4. Lista de organismos ensayados para determinar la reactividad cruzada con el ensayo Revogene GBS DS

Bacterias	
Acinetobacter baumannii	*Mycoplasma genitalium* (ADN genómico)
Aerococcus viridans	*Mycoplasma hominis* (ADN genómico)
Aeromonas hydrophila	*Neisseria gonorrhoeae*
Bacillus cereus	*Peptostreptococcus anaerobius*
Bacillus subtilis	*Porphyromonas asaccharolytica*
Bacteroides fragilis	*Prevotella melaninogenica*
Bifidobacterium adolescentis	*Propionibacterium acnes*
Bifidobacterium breve	*Proteus mirabilis*
Brevibacterium linens	*Pseudomonas aeruginosa*
Campylobacter jejuni	*Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin*
Chlamydia trachomatis (ADN genómico)	*Salmonella enterica subsp. enterica serovar Minneapolis*
Citrobacter freundii	*Salmonella enterica subsp. enterica serovar typhimurium*
Clostridium difficile	*Salmonella enterica subsp. enterica serovar Newport*
Clostridium perfringens	*Serratia marcescens*
Corynebacterium genitalium	*Shigella sonnei*
Enterobacter aerogenes	*Staphylococcus aureus*
Enterobacter cloacae	*Staphylococcus aureus (Cowan)*
Enterococcus avium	*Staphylococcus epidermidis*
Enterococcus dispar	*Staphylococcus saprophyticus*
Enterococcus durans	*Streptococcus anginosus*
Enterococcus faecalis	*Streptococcus bovis*
Enterococcus faecium	*Streptococcus dysgalactiae subsp. disgalactiae*
Escherichia coli	*Streptococcus dysgalactiae equisimilis*
Escherichia fergusonii	*Streptococcus intermedius*
Gardnerella vaginalis	*Streptococcus oralis*
Klebsiella oxytoca	*Streptococcus pneumoniae*
Klebsiella pneumoniae	*Streptococcus pyogenes*
Lactobacillus acidophilus	*Streptococcus salivarius*
Lactobacillus brevis	*Streptococcus sanguinis*
Lactobacillus casei	*Streptococcus uberis*
Lactobacillus delbreuckii	*Ureaplasma urealyticum* (ADN genómico)
Lactobacillus jensenii	*Yersinia enterocolitica*
Levaduras	
Candida albicans	*Candida parapsilosis*
Candida glabrata	*Candida tropicalis*
Virus	
Virus del herpes simple tipo I (ADN genómico)	*Norovirus* GII (ARN sintético)
Virus del herpes simple tipo II (ADN genómico)	Papilomavirus humano (ADN genómico)
Parásitos	
Blastocystis hominis (ADN genómico)	*Trichomonas vaginalis* (ADN genómico)
ADN humano	
ADN humano (ADN genómico)	-

Además, se realizó un análisis informático para evaluar la reactividad cruzada de los cebadores y las sondas del ensayo Revogene GBS DS con 62 organismos adicionales que podrían encontrarse en el aparato genitourinario y en el tubo intestinal (**tabla 5**). El análisis incluía a todas las secuencias de estos 62 organismos que figuraban en la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) a fecha del 24 de enero de 2017. El análisis sugería que no debería existir reactividad cruzada con ninguno de estos organismos en el ensayo Revogene GBS DS.

Tabla 5. Lista de organismos verificados mediante el análisis informático para determinar la reactividad cruzada con los cebadores y las sondas del ensayo Revogene GBS DS

Bacterias	
Abiotrophia defectiva	*Listeria monocytogenes*
Achromobacter xylosoxidans	*Micrococcus luteus*
Alcaligenes faecalis	*Mobiluncus mulieris*
Campylobacter fetus	*Moraxella catarrhalis*
Chromobacterium violaceum	*Moraxella lacunata*
Clostridium bifermentans	*Moraxella osloensis*
Clostridium butyricum	*Morganella morganii*
Clostridium novyi	*Mycobacterium smegmatis*
Clostridium septicum	*Neisseria flava*
Clostridium sordelli	*Neisseria flavescens*
Clostridium sporogenes	*Neisseria lactamica*
Corynebacterium urealyticum	*Neisseria meningitidis*
Corynebacterium xerosis	*Neisseria perflava*
Deinococcus radiodurans	*Plesiomonas shigelloides*
Derxia gummosa	*Proteus vulgaris*
Eikenella corrodens	*Providencia stuartii*
Enterococcus gallinarum	*Pseudomonas fluorescens*
Gemella haemolysans	*Pseudomonas putida*
Haemophilus ducreyi	*Rhodospirillum rubrum*
Haemophilus influenzae	*Serratia liquefaciens*
Haemophilus influenzae tipo B	*Shigella boydii*
Helicobacter pylori	*Shigella flexneri*
Kingella denitrificans	*Staphylococcus simulans*
Kingella kingae	*Stenotrophomonas maltophilia*
Legionella pneumophila	*Streptococcus gordonii*
Streptococcus mitis	*Vibrio parahaemolyticus*
Streptococcus mutans	-
Moho/levadura	
Cryptococcus neoformans	*Saccharomyces cerevisiae*
Virus	
Adenovirus 40	*Echovirus*
Adenovirus 41	*Virus de Epstein-Barr*
Virus BK	*Rotavirus*
Virus de Coxsackie	-

ORGANISMOS INTERFERENTES

Para evaluar el efecto potencialmente inhibitorio de 29 organismos que no son la diana del ensayo y que pueden estar presentes en la flora genitourinaria y el tubo intestinal, se utilizaron organismos seleccionados del estudio de reactividad cruzada (**tabla 4**). Los organismos se seleccionaron en función de su prevalencia en la flora vaginal/rectal. Para evaluar su posible interferencia en la detección de EGB o en el CPr, se ensayaron grupos de uno (1) a cinco (5) organismos por triplicado con 1125 UFC/mL de TM con la cepa ATCC® 13813™ de EGB, 4500 UFC/mL de TM con la cepa ATCC® BAA-22™ de EGB o muestras negativas para EGB en presencia de una matriz simulada negativa para EGB. Los distintos organismos de un determinado grupo se diluyeron para obtener una carga ≥ 10^6 UFC/mL o copias/ml de TM en el caso de las bacterias y las levaduras, y ≥ 10^5 copias/mL de TM en el de los virus y parásitos. Los 29 organismos incluidos en el estudio se presentan en la **tabla 6**.

Tabla 6. Lista de organismos ensayados para determinar la interferencia con el ensayo Revogene GBS DS.

Grupo 1	
Acinetobacter baumannii	*Enterococcus faecalis*
Bacillus subtilis	*Enterococcus faecium*
Bacteroides fragilis	
Grupo 2	
Campylobacter jejuni	*Escherichia coli*
Clostridium difficile	*Gardnerella vaginalis*
Corynebacterium genitalium	
Grupo 3	
Klebsiella oxytoca	*Peptostreptococcus anaerobius*
Lactobacillus acidophilus	*Propionibacterium acnes*
Neisseria gonorrhoeae	
Grupo 4	
Pseudomonas aeruginosa	*Shigella sonnei*
Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin	*Staphylococcus aureus*
Serratia marcescens	
Grupo 5	
Staphylococcus epidermidis	*Yersinia enterocolitica*
Streptococcus pyogenes	*Candida albicans*
Grupo 6	
Chlamydia trachomatis	Papilomavirus humano (ADN genómico)
Virus del herpes simple tipo I (ADN genómico)	*Trichomonas vaginalis*
Grupo 7	
Mycoplasma genitalium (ADN genómico)	

Ninguno de los 29 organismos presentes a una concentración ≥10^6 UFC/ml o copias/ml de TM en el caso de las bacterias y las levaduras, y ≥ 10^5 copias/ml de TM en el de los virus y parásitos, interfirieron con la detección del CPr y de las dos (2) cepas de EGB (ATCC® 13813™ y ATCC® BAA-22™).

SUSTANCIAS INTERFERENTES

Para evaluar el efecto potencialmente inhibitorio de 22 sustancias exógenas y ocho (8) endógenas que pueden estar presentes en la flora genitourinaria y en el tubo intestinal se utilizaron muestras negativas para EGB y muestras que contenían las cepas de EGB ATCC® 13813™ y ATCC® BAA-22™ a una concentración de tres (3) veces su correspondiente LD (1125 UFC/mL de TM o 4500 UFC/mL de TM respectivamente) en presencia de una matriz simulada negativa para EGB. Las sustancias se ensayaron a una concentración fisiológicamente relevante –a la que se podrían encontrar en una muestra vaginal/rectal– o a una concentración superior. Los resultados de las 30 sustancias se presentan en la **tabla 7**.

Los resultados pusieron de manifiesto que los fungicidas (p. ej., Micatin®), los polvos para el cuerpo (p. ej., desodorante en polvo Vagisil®), la loción hidratante (p. ej., Aveeno®), los medicamentos para la gastritis (p. ej., Tums®), los antidiarreicos (Imodium®, Pepto Bismol™), los laxantes (Senokot®), la sangre completa, el líquido amniótico y el meconio tenían un efecto potencialmente inhibitorio en la detección del CPr o de las cepas de EGB cuando las concentraciones de estas sustancias en el TTM eran superiores a las que se indican en la **tabla 7**. Cuando se ensayaron a las concentraciones que se indican en la **tabla 7**, estas sustancias, salvo los polvos para el cuerpo, no presentaban interferencia notificable alguna con el ensayo Revogene GBS DS. Los polvos para el cuerpo a la concentración más baja ensayada, 6,50 x 10^{-5} % (p/v), tenían un efecto inhibidor sobre la detección de las cepas de EGB.

Tabla 7. Lista de sustancias exógenas y endógenas analizadas con el ensayo Revogene GBS DS.

Sustancias exógenas	
Sustancia (nombre comercial)	**Concentración en el TM sin que se observen interferencias[1]**
Fungicida (Micatin®)	0,065 % p/v*
Gel refrescante para las hemorroides (Preparation H®)	6,50 % p/v
Gel lubricante (lubricante íntimo K-Y®)	0,65 % p/v
Polvos para el cuerpo (desodorante en polvo Vagisil®)	Concentración sin determinar*
Loción hidratante (loción hidratante Aveeno®)	6,50 x 10^{-3} % p/v*
Aceite corporal (aceite corporal Neutrogena®)	6,50 % v/v
Desodorante en spray (Spray Summer's Eve™)	6,50 % v/v
Enemas (aceite mineral pesado Life BRAND™ USP)	6,50 % v/v
Antimicrobianos (Canesten®)	6,50 % p/v
Enemas (Pentasa)	1,43 x 10^{-3} % p/v
Compuestos orales para radiología (sulfato de bario)	7,50 x 10^{-4} % p/v
Medicamentos para la gastritis (Nexium)	7,50 x 10^{-4} % p/v
Antimicrobianos (Flagyl)	4,64E-04 % p/v
Antinflamatorio no esteroideo (Aleve®)	2,04 x 10^{-3} % p/v
Antimicrobianos (DIFLUCAN® One)	5,57 x 10^{-5} % p/v
Medicamentos para la gastritis (Tums®)	3,48 x 10^{-6} % p/v*
Antidiarreicos (Imodium®)	1,50 x 10^{-6} % p/v*
Antidiarreicos (Pepto Bismol™)	1,95 x 10^{-3} % p/v*
Laxantes (Senokot®)	3,19 x 10^{-7} % p/v*
Espermicida (Trojan® con preservativos lubricantes espermicidas)	0,65 % v/v
Toallitas húmedas (toallitas húmedas desechables Equate™)	6,50 % v/v
Toallitas húmedas (Wet Ones®)	0,65 % v/v
Sustancias endógenas	
Sustancia	**Concentración en el TM sin que se observen interferencias[1]**
Sangre completa	6,50 x 10^{-3} % v/v*
Leucocitos	1,00 x 10^{6} células/ml
Líquido amniótico	0,065 % v/v
Líquido seminal	6,50 % v/v
Orina	6,50 % v/v
Heces	0,65 % v/v
Meconio	6,50 x 10^{-3} % p/v*
ADN humano	1,55 x 10^{3} ng/ml

[1] % P/V: Peso/Volumen (mg/ml); % V/V: Volumen/Volumen (µl/ml);
*Las concentraciones por encima de estos valores pueden provocar interferencias (véanse las limitaciones más arriba).

PRECISIÓN/REPRODUCIBILIDAD
El estudio de reproducibilidad entre laboratorios lo realizaron –en tres (3) laboratorios de las instalaciones de Revogene– dos (2) técnicos por laboratorio durante cinco (5) días distintos utilizando un (1) lote del kit GBS DS (véase la **tabla 8)**. Para el estudio de precisión se utilizaron los resultados del laboratorio 1 durante cinco (5) días (véase la **tabla 8)**.

El estudio de reproducibilidad entre lotes lo realizaron dos (2) técnicos en un (1) laboratorio durante cinco (5) días, utilizando tres (3) lotes del kit GBS DS (véase la **tabla 9**).

Para los estudios de reproducibilidad y precisión, se analizaron un total de 60 réplicas de muestras negativas y 90 réplicas de cada categoría de muestras positivas, todas ellas preparadas en una matriz simulada negativa para EGB. Para las muestras positivas se utilizó la cepa de EGB ATCC® 13813™ (no hemolítica).

Las categorías de las muestras se describieron de la siguiente manera:
- Positiva baja (PB): 1,95 x LD o 731 UFC/mL de TM
- Positivo moderada (PM): 3 x LD o 1125 UFC/mL de TM
- Negativa verdadera (NV): muestras sin diana de EGB

El porcentaje de concordancia total para la reproducibilidad entre laboratorios fue del 100 % para las muestras NV, del 98,8 % para las PM y del 96,7 % para las PB de la cepa de EGB ATCC® 13813™ (**tabla 8**). El porcentaje de concordancia total para el estudio de precisión fue del 100 % para las muestras NV, del 96,7 % para las PM y del 96,7 % para las PB de la cepa de EGB ATCC® 13813™ (**tabla 8, laboratorio 1**). El porcentaje de concordancia total para la reproducibilidad entre lotes fue del 100 % para las muestras NV, del 97,8 % para las PM y del 92,2 % para las PB de la cepa de EGB ATCC® 13813™ (**tabla 9**). En las **tablas 8** y **9** figuran los valores medios globales del umbral de ciclo (Ct) con el componente de varianza (% CV). En la **tabla 10** se resumen los resultados generales del estudio de reproducibilidad (entre laboratorios y entre lotes combinados).

Tabla 8. Resultados del estudio de precisión y reproducibilidad entre laboratorios utilizando un (1) lote del kit de ensayo GBS DS

Laboratorio 1, instrumento 1, lote 1				
ID del panel	**Resultados/Total**	**% concordancia[1]**	**Media de Ct[2]**	**% CV de Ct**
PB	29/30	96,7 %	38,2	5,6
PM	29/30	96,7 %	37,3	4,2
NV	20/20	100 %	30,2	3,1
Laboratorio 2, instrumento 2, lote 1				
ID del panel	**Resultados/Total**	**% concordancia[1]**	**Media de Ct[2]**	**% CV de Ct**
PB	28/30	93,3 %	36,7	2,9
PM	30/30	100 %	36,9	4,7
NV	20/20	100 %	32,5	3,1
Laboratorio 3, instrumento 3, lote 1				
ID del panel	**Resultados/Total**	**% concordancia[1]**	**Media de Ct[2]**	**% CV de Ct**
PB	30/30	100 %	37,9	5,5
PM	30/30	100 %	36,4	3,7
NV	20/20	100 %	30,1	1,8
Global				
ID del panel	**Resultados/Total**	**% concordancia[1]**	**Media de Ct[2]**	**% CV de Ct**
PB	87/90	96,7 %	37,6	5,1
PM	89/90	98,8 %	36,9	4,3
NV	60/60	100 %	30,9	4,6

[1] Para la categoría NV, se calculó el porcentaje de concordancia para los resultados negativos.
[2] Para las categorías PB y PM, los valores de Ct indicados son para la diana del EGB. Para la categoría NV, los valores de Ct indicados son para el CPr.

Tabla 9. Resultados del estudio de reproducibilidad entre lotes usando tres (3) lotes del kit de ensayo GBS DS

Laboratorio 1, instrumento 1, lote 1				
ID del panel	**Resultados/Total**	**% concordancia[1]**	**Media de Ct[2]**	**% CV de Ct**
PB	29/30	96,7 %	38,2	5,6
PM	29/30	96,7 %	37,3	4,2
NV	20/20	100 %	30,2	3,1
Laboratorio 1, instrumento 1, lote 2				
ID del panel	**Resultados/Total**	**% concordancia[1]**	**Media de Ct[2]**	**% CV de Ct**
PB	26/30	86,7 %	38,6	6,1
PM	29/30	96,7 %	37,0	4,8
NV	20/20	100 %	29,9	2,6
Laboratorio 1, instrumento 1, lote 3				
ID del panel	**Resultados/Total**	**% concordancia[1]**	**Media de Ct[2]**	**% CV de Ct**
PB	28/30	93,3 %	37,1	3,5
PM	30/30	100 %	38,0	5,7
NV	20/20	100 %	29,9	2,6
Global (todos los lotes)				
ID del panel	**Resultados/Total**	**% concordancia[1]**	**Media de Ct[2]**	**% CV de Ct**
PB	83/90	92,2 %	37,9	5,4
PM	88/90	97,8 %	37,4	5,0
NV	60/60	100 %	30,0	2,8

[1] Para la categoría NV, se calculó el porcentaje de concordancia para los resultados negativos.
[2] Para las categorías PB y PM, los valores de Ct indicados son para la diana del EGB. Para la categoría NV, los valores de Ct indicados son para el CPr.

Tabla 10. Resumen de los resultados del estudio de reproducibilidad (entre laboratorios y entre lotes combinados)

Todos los laboratorios y lotes combinados				
ID del panel	**Resultados/Total**	**% concordancia[1]**	**Media de Ct[2]**	**% CV de Ct**
PB	141/150	94,0 %	37,7	5,2
PM	148/150	98,7 %	37,1	4,8
NV	100/100	100 %	30,5	4,2

[1] Para la categoría NV, se calculó el porcentaje de concordancia para los resultados negativos.
[2] Para las categorías PB y PM, los valores de Ct indicados son para la diana del EGB. Para la categoría NV, los valores de Ct indicados son para el CPr.

ETIQUETADO ELECTRÓNICO

Se puede acceder a la documentación en línea relacionada con este producto a través de www.meridianbioscience.com/pi. Además, puede obtener copias en papel poniéndose en contacto con el distribuidor de su localidad o a través de los números de teléfono que figuran en la caja del kit.

DEUTSCH

revogene®

GBS DS

Zur Verwendung mit Revogene®

REF **410100**

IVD **Für *In-vitro*-Diagnostik**

VERWENDUNGSZWECK
Der Revogene® GBS DS-Assay wird auf dem Revogene® Gerät ausgeführt und ist ein qualitativer *In-vitro*-Diagnosetest zum DNA-Nachweis von *Streptokokken* der Gruppe B (GBS) aus vaginalen/rektalen Abstrichen von schwangeren Frauen. Der Revogene GBS DS-Assay verwendet eine automatische Probenverarbeitung und Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (PCR) für den Nachweis einer *cfb*-Gensequenz, die spezifisch für das *Streptococcus agalactiae*-Genom ist.

Der Revogene GBS DS-Assay ist für die Identifizierung einer *intrapartalen* GBS-Besiedlung vorgesehen und liefert keine Ergebnisse bezüglich der Empfindlichkeit. Er dient nicht zur Diagnose oder Überwachung der Behandlung einer GBS-Infektion. Kulturisolate werden für die Durchführung eines Empfindlichkeitstests benötigt, wie es für Frauen mit Penicillinallergie empfohlen wird.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG
Beim *Streptococcus* der Gruppe B handelt es sich um ein grampositives Bakterium, das bei gesunden Erwachsenen häufig im Gastrointestinal-, Genital- und Harntrakt zu finden ist. Bei ca. 10–30 % aller schwangeren Frauen liegt eine GBS-Besiedlung der Vagina oder des Rektums vor.[1]

Mütter mit einer GBS-Besiedlung zeigen für gewöhnlich keine Symptome oder gesundheitlichen Auswirkungen. Dieses Bakterium kann jedoch vor allem während der Geburtswehen und der Geburt (*intrapartal*)[2] auf das Neugeborene übertragen werden und mit schweren Erkrankungen der Neugeborenen wie Sepsis, Pneumonie und Meningitis verbunden sein. Die Sterblichkeitsrate bei Säuglingen mit einem frühen Auftreten einer Gruppe-B-Streptokokkenerkrankung (während der ersten Lebenswoche) liegt momentan bei 4 % bis 6 %.[1] Bei überlebenden Säuglingen treten möglicherweise dauerhafte Behinderungen, einschließlich Hörverlust, Sehverlust oder geistige Retardierung, auf.[2]

Die aktuellen Leitlinien zur Vorbeugung einer GBS-Erkrankung bei Neugeborenen umfassen das Screening von schwangeren Frauen nach 35 bis 37 Schwangerschaftswochen (*antepartal*), das der Bestimmung des GBS-Besiedlungsstatus dient. Die meisten GBS-Tests werden anhand einer Kultur durchgeführt und es kann bis zu 48 Stunden dauern, bis GBS nach einer ersten, 18 bis 24 Stunden dauernden Inkubation des vaginalen/rektalen Abstrichs in einer Selektivbouillon endgültig identifiziert werden kann.

Wenn der Besiedlungsstatus positiv ist, erhält die Frau eine *intrapartale* Antibiotikaprophylaxe (IAP), um einer perinatalen Gruppe-B-Streptokokkenerkrankung vorzubeugen. Die GBS-Besiedlung kann allerdings während der Schwangerschaft periodisch auftreten, was zu einer unzureichenden Korrelation zwischen pränatalen Screening-Ergebnissen und einer *intrapartalen* GBS-Besiedlung führen kann.[6] Darüber hinaus schließt das *antepartale* Screening Frauen mit Frühgeburten sowie Frauen mit unbekanntem Status bei Aufnahme im Krankenhaus aus. Folglich werden einige Frauen möglicherweise nicht angemessen gegen GBS-Besiedlung behandelt, wohingegen andere möglicherweise unnötigerweise mit Antibiotika behandelt werden.[7]

Der GBS DS-Assay kann Ergebnisse von einer (1) bis zu acht (8) Proben bereits nach 40 Minuten für positive Proben und nach ca. 70 Minuten für negative Proben liefern, wenn die von einer gebärenden Frau entnommene Abstrichprobe direkt verwendet wird (*intrapartal*). Der Assay verringert den Bedienereingriff vom Zeitpunkt, an dem die mikrofluidische Kartusche für den Einmalgebrauch (nachfolgend als PIE bezeichnet), die die Probe enthält, in die Revogene-Zentrifuge eingesetzt wird, bis zur Verfügbarkeit der Ergebnisse.

PRINZIPIEN DES VERFAHRENS
Der Revogene GBS DS-Assay wird mithilfe des Revogene-Geräts ausgeführt, das die Probenhomogenisierung und -verdünnung, Zelllyse, DNA-Amplifikation und den Nachweis von amplifizierten PCR-Produkten automatisiert. Ein Anwendereingriff ist nur erforderlich, um die Patientenprobe in das Probenpufferröhrchen (SBT, Sample Buffer Tube) zu laden, die Probe vom SBT in die PIEs zu übertragen und die PIEs in die Revogene-Zentrifuge einsetzen.

Jede PIE ist eine vollständig integrierte und geschlossene Vorrichtung, in der eine Probe über verschiedene Mikrofluidkammern und Kanäle verteilt und verarbeitet wird, wodurch eine Probenverarbeitung (d. h. Probenhomogenisierung und -verdünnung, Zelllyse und DNA-Extraktion) und nachfolgende Echtzeit-PCR-Schritte (**Abbildung 1**) möglich sind. Die Flüssigkeit aus einer einzelnen Probe wird durch Zentrifugation aus einer (1) Kammer der Reihe nach in die nächste Kammer übertragen und alle für die PCR-Reaktion spezifischen Reagenzien werden in die PCR-Vertiefung integriert und dort getrocknet. Eine Prozesskontrolle (PrC) ist in jeder PIE integriert, um die Probenverarbeitungs- und Amplifikationsschritte zu bestätigen, einschließlich der Prüfung potenzieller Hemmstoffe sowie der Mikrofluidik und des Geräte- oder Reagenzausfalls. Die amplifizierten Produkte werden mithilfe von zielspezifischen TaqMan® chemiebasierten Sonden in Echtzeit nachgewiesen. Sobald die PIE in das Revogene geladen ist, ist kein Bedienereingriff mehr erforderlich.

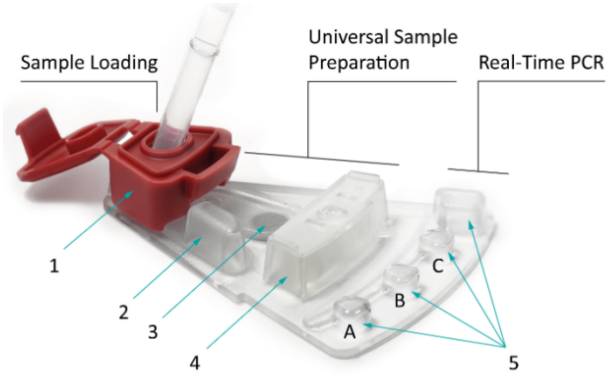

Abbildung 1. Draufsicht auf eine PIE.
1: Kammer zur Probenladung, 2: Überlaufkammer, 3: Homogenisierungskammer mit PrC,
4: Verdünnungs-/Lysekammer, 5: Drei (3) PCR-Vertiefungen (A bis C von links nach rechts) und eine (1) Abfallkammer (am rechten Ende).

Das Revogene kann in einem Lauf eine (1) bis acht (8) Proben gleichzeitig aufbereiten. Die Zentrifuge muss acht (8) PIEs enthalten, um das thermodynamische Gleichgewicht während des Laufs aufrechtzuerhalten. Während und am Ende des Laufs werden die Ergebnisse vom System anhand der gemessenen Fluoreszenzsignale und integrierten Berechnungsalgorithmen berechnet. Die auf dem Touchscreen angezeigten Ergebnisse können vom Anwender über den USB-Port oder die Verbindungsoption gedruckt, übertragen und gespeichert werden.

Die Funktion zur Ausgabe eines frühen positiven Ergebnisses (E-PRO, Early Positive Outcome) liefert ein positives Ergebnis, wenn das Signal der Ziel-DNA einen vorbestimmten Grenzwert erreicht, bevor alle PCR-Zyklen abgeschlossen wurden. Bei hoch positiven Proben kann mithilfe von E-PRO innerhalb von ca. 40 Minuten ein positives Ergebnis ermittelt werden. Bei negativen Proben wird das Ergebnis in ca. 70 Minuten ermittelt.

REAGENZIEN UND MATERIALIEN
Das Revogene GBS DS-Kit enthält ausreichend Reagenzien und Materialien für die Aufbereitung von 24 Proben. Das Kit enthält die folgenden Materialien:
1. 24 **GBS DS-Probenpufferröhrchen** (SBT, Sample Buffer Tubes): Röhrchen mit Barcode-Etikett, das gepufferte TE 1X-Lösung (Tris-HCl pH 8,0/EDTA.Na_2) als Verdünnung und Konservierungspuffer für die Probe enthält.
2. 24 **Einweg-Übertragungswerkzeug** (DTT, Disposable Transfer Tools): Kunststoffpipette mit Markierungen für minimales und maximales Volumen für die Übertragung der Probe aus dem SBT in die PIE.
3. 24 Beutel mit jeweils einer (1) **GBS DS mikrofluidischen Kartusche (PIE)**: Integrierte Vorrichtung mit Barcode-Etikett, die aus getrockneten Reagenzien besteht, mit denen eine Probenverarbeitung und Echtzeit-PCR-Schritte für gleichzeitige Amplifikation und Nachweis von PrC-DNA und DNA des GBS *cfb*-Gens möglich sind. Jede PIE enthält PrC, PrC-spezifische Primer und eine TaqMan® chemiebasierte Sonde, GBS-*cfb*-genspezifische Primer und eine TaqMan® chemiebasierte Sonde, dNTPs, Puffer und DNA-Polymerase.

ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN
1. Revogene® (Bestellnr. 610210)
2. Ungepuderte Einweghandschuhe
3. Vortexmischer mit einer maximalen Geschwindigkeit von ≥ 3000 U/min
4. Probenständer (Bestellnr. 132539; optional)
5. Copan Liquid Stuart (Bestellnr. 141C)
6. MOCK PIE (Dummy-PIE; Bestellnr. 610208; optional)
7. Saubere Schere (optional)
8. Gaze (optional)

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN
1. Der Revogene GBS DS-Assay kann nur mit dem Revogene-Gerät verwendet werden.
2. Das Kit nicht verwenden, wenn das Etikett, das die Außenverpackung versiegelt, bei der Lieferung beschädigt ist.
3. Die GBS DS PIEs nicht verwenden, wenn die Schutzbeutel bei der Lieferung offen oder beschädigt sind.
4. DTT, SBT und PIE zwischen Kit-Chargen nicht vertauschen.
5. Jede GBS DS PIE und jedes und DTT zum Einmalgebrauch wird zur Aufbereitung einer (1) Probe verwendet. PIE oder DTT nicht wiederverwenden.
6. Proben stets wie infektiöses Material und in Übereinstimmung mit den Grundsätzen der guten Laborpraxis, wie den in „Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories“[3] und in der CLSI-Dokumentation M29-A4[4] beschriebenen, handhaben.
7. Bei der Handhabung der Proben sind ungepuderte Einweghandschuhe zu tragen. Nach der Arbeit sind die Hände gründlich zu waschen.
8. Die GBS DS PIE enthält getrocknete Reagenzien. Die Schutzbeutel dürfen erst dann geöffnet werden, wenn der Test durchgeführt wird.
9. Die nicht verwendeten Materialien, Reagenzien und Abfallstoffe in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen auf Bundes-, Landes- oder kommunaler Ebene entsorgen.
10. Die PIE nach der Verwendung nicht öffnen oder aufbrechen, um eine Kontamination mit Amplifikationsprodukten und/oder infektiösen Partikeln zu vermeiden.
11. Eine PIE, die nach dem Laden der Probe fallen gelassen, geschüttelt oder umgedreht wurde, nicht verwenden, da dies zu ungültigen Ergebnissen führen kann.
12. Der Revogene GBS DS-Assay liefert keine Ergebnisse bezüglich der Empfindlichkeit. Es ist zusätzliche Zeit erforderlich, um Isolate zu kultivieren und Empfindlichkeitstests durchzuführen, wie sie für Frauen mit Penicillinallergie empfohlen werden.
13. Nur Kits verwenden, deren Verfallsdatum nicht überschritten ist.
14. Die geladene PIE nicht kühlen.
15. Jeder Lauf muss mit acht (8) PIEs in der Revogene-Zentrifuge durchgeführt werden, um das thermodynamische und mechanische Gleichgewicht während des Laufs aufrechtzuerhalten.

GEFAHREN UND SICHERHEITSHINWEISE
Es gibt keine bekannten Gefahren, die mit disem Produkt verbunden sind.

AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT
1. Proben aus vaginalen/rektalen Abstrichen sind bei 25 C zu lagern, wenn sie innerhalb von zwei (2) Tagen nach der Entnahme verarbeitet werden. Andernfalls sollten sie bei 2–8 C bis zu sieben (7) Tage gelagert werden.
2. Das Revogene GBS DS-Kit bei 2–25 C lagern. Das Verfallsdatum ist auf dem Etikett an der Kit-Verpackung und auf jedem Beutel angegeben.
3. Den Beutel erst unmittelbar vor Durchführung des Tests öffnen. Die PIE innerhalb einer (1) Stunde nach Öffnen des Beutels verwenden.
4. Ein inokuliertes SBT kann bei 25 C bis zu zwei (2) Tage lang oder bei 2–8 C bis zu drei (3) Tage lang gelagert werden.

GEBRAUCHSANWEISUNG
Es gibt keine bekannten Gefahren, die mit disem Produkt verbunden sind.

PROBENNAHME UND -TRANSPORT
Probentyp: Vaginaler/rektaler Abstrich einer gebärenden Frau (*intrapartal*).

Die Durchführung eines vaginalen/rektalen Abstrichs von der gleichen Patientin sollte gemäß den veröffentlichten Leitlinien für die Entnahme von klinischen Proben zum Ansetzen einer GBS-Kultur durchgeführt werden.[1]

1. Führen Sie den vaginalen/rektalen Abstrich gemäß den europäischen Leitlinien durch[7]:
   a. Entnehmen Sie eine Abstrichprobe aus dem unteren Bereich der Vagina (Scheideneingang) und dann aus dem Rektum (d. h. Sie führen den Abstrichtupfer durch den Schließmuskel des Afters ein); Sie können den gleichen Abstrichtupfer oder zwei verschiedene Abstrichtupfer verwenden. Vermischen Sie nicht Stuhl, Wasser, Urin oder Seife in der Probe.
   b. Geben Sie den/die Abstrichtupfer gleich nach der Probennahme in ein nicht-nutritives Transportmedium (Liquid Stuart).
2. Kennzeichnen Sie die Transportvorrichtung mit der Proben- oder Patienten-ID und transportieren Sie sie zum Testen zum Labor (siehe Abschnitt **Aufbewahrung und Stabilität**).

PROBENVORBEREITUNG UND -HANDHABUNG
HINWEIS 1: Den Test innerhalb einer (1) Stunde nach Öffnen des Beutels mit der PIE beginnen.

SBT-VORBEREITUNG
1. Öffnen Sie für jede zu testende Probe die rechte Seite des Beutels (bei nach oben zeigendem Etikett), Entnehmen Sie aus der Kit-Verpackung ein SBT für jede zu testende Probe.
2. Identifizieren (oder kennzeichnen) Sie das SBT mit der entsprechenden Probenidentifikation, ohne dabei den Barcode unleserlich zu machen oder über ihn zu überschreiben. Stellen Sie das SBT in den Probenständer, sofern es verwendet wird.
3. Schrauben Sie die Kappe vom SBT. Entnehmen Sie den Abstrichtupfer aus seiner Transporthülle und geben Sie ihn in das SBT. Brechen Sie mit einem Stück Gaze den überstehenden Teil des Tupferstiels ab, indem Sie den Abstrichtupfer am Stiel in der Nähe des Röhrchenrands festhalten. Heben Sie den Abstrichtupfer einige Millimeter (mm) vom Boden des Röhrchens an und biegen Sie den Stiel gegen die Kante des Röhrchens, um ihn abzubrechen. Verwenden Sie alternativ eine saubere Schere, um den Stiel abzuschneiden. Achten Sie darauf, dass immer nur ein (1) SBT offen ist.
4. Bringen Sie die SBT-Kappe wieder an, schließen Sie sie fest und stellen Sie das SBT in den Probenständer (sofern verwendet).
5. Bereiten Sie zusätzliche Proben zur Untersuchung vor, indem Sie die Schritte 1 bis 4 wiederholen und dann mit Schritt 6 fortfahren.
6. Wenn alle Proben vorbereitet sind, fahren Sie mit der GBS DS PIE-Vorbereitung fort (nächster Abschnitt).

PIE-VORBEREITUNG
HINWEIS 1: Immer nur jeweils eine (1) Probe aufbereiten.
7. Mischen Sie mithilfe eines Vortexmischers das SBT 30 Sekunden lang bei maximaler Geschwindigkeit (≥ 3000 U/min).
8. Öffnen Sie den Beutel, der die PIE enthält und entnehmen Sie sie. Sobald der Beutel geöffnet ist, muss die PIE innerhalb einer (1) Stunde verwendet werden.
9. Stellen Sie die PIE in den Probenständer, sofern verwendet, oder auf eine flache Oberfläche.
10. Nehmen Sie ein DTT aus der Verpackung des Kits. Schrauben Sie die Kappe mit dem DTT vom SBT und aspirieren Sie den inokulierten Probenpuffer (SB, Sample Buffer), indem Sie den gesamten Ballon zusammendrücken. Der Füllstand im DTT muss zwischen den zwei (2) Markierungen liegen (**Abbildung 2**). Wenn der Füllstand außerhalb der zwei (2) Markierungen liegt, geben Sie den SB komplett in das SBT und wiederholen Sie diesen Schritt.
11. Geben Sie das SB-Volumen aus dem DTT komplett in die Kammer zur Probenladung der PIE (**Abbildung 1**).
12. Schließen Sie die Kappe der PIE und des SBT fest.
13. Wiederholen Sie die Schritte 7 bis 12 für zusätzlich vorbereitete SBT und fahren Sie dann mit dem Abschnitt zur Revogene-Bedienung fort.

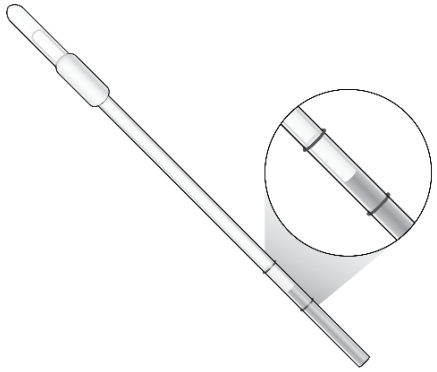

Abbildung 2. Darstellung eines angemessenen Probenpuffer(SB)-Füllstands bei Verwendung des Einweg-Übertragungswerkzeugs (DTT).

REVOGENE-BEDIENUNG

HINWEIS 1: Jeder Lauf muss mit acht (8) PIEs in der Revogene-Zentrifuge durchgeführt werden. Sollten weniger als acht (8) Proben verarbeitet werden, stellen Sie MOCK PIEs* in die leeren Plätze.
HINWEIS 2: Weitere Informationen zur Einrichtung und zum Betrieb des Geräts finden Sie im Revogene-Bedienungshandbuch.[5]

1. Schalten Sie das Revogene-Gerät ein (falls noch nicht eingeschaltet). Die Software startet automatisch.
2. Melden Sie sich an, indem Sie den <**Benutzernamen**> und das <**Kennwort**> eingeben und auf <**Anmelden**> tippen. Das Hauptmenü erscheint automatisch.
3. Tippen Sie auf **<Lauf einrichten>**.
4. Geben Sie die Probenidentifikation entweder mithilfe des Barcode-Scanners oder manuell ein. Für die manuelle Eingabe tippen Sie auf das **Stift**-Symbol in der Zeile **<Proben-ID scannen oder eingeben>**.
5. Geben Sie mithilfe des Revogene-Barcode-Scanners die SBT- und PIE-Barcodes ein, indem Sie die PIE vorsichtig senkrecht vor den Scanner halten. Alternativ können Sie die SBT- und PIE-Barcodes manuell eingeben (tippen Sie hierzu auf das **Stift**-Symbol in den entsprechenden Zeilen). Handhaben Sie die PIE vorsichtig, ohne sie zu schütteln oder fallen zu lassen.
6. (Optional) Tippen Sie auf das **Stift**-Symbol in der Zeile **<Kommentare hinzufügen>** und geben Sie einen Kommentar ein.
7. Setzen Sie die PIE an eine beliebige Stelle in der Zentrifuge in das Revogene. Die Software ordnet die Probe und das SBT automatisch der richtigen PIE zu.
8. Bestätigen Sie, dass die PIE eingesetzt wurde, indem Sie in der Zeile **<PIE in Instrument einfügen>** auf **<OK>** tippen und wiederholen Sie die Schritte 4 bis 8 für alle Proben. Sollten weniger als acht (8) PIEs getestet werden, laden Sie MOCK PIEs* in die verbleibenden Positionen der Zentrifuge. Es ist bei der Eingabe von MOCK PIEs in das Revogene kein Scan erforderlich.
9. Wenn alle PIEs in die Zentrifuge eingesetzt sind, tippen Sie auf **<Weiter>.**
10. Wenn Sie MOCK PIEs in die Zentrifuge eingefügt haben, befolgen Sie die Anweisungen auf dem Bildschirm.
11. Scannen Sie den Haltering und legen Sie ihn auf die Zentrifuge. Schließen Sie den Deckel des Geräts.
12. Starten Sie den Test, indem Sie auf **<Start>** tippen. Ein Timer auf dem Bildschirm und Leuchten auf dem Revogene-Deckel zeigen den Fortschritt des Tests an.
13. Lagern Sie inokulierte SBT unter angemessenen Bedingungen (siehe Abschnitt **Aufbewahrung und Stabilität**), um bei Bedarf Tests wiederholen zu können.

* Wenn keine MOCK PIEs verfügbar sind, verwenden Sie nicht verwendete Assay-PIEs mit nicht inokuliertem SB (LEER) oder mit externen Kontrollen.

ANZEIGEN UND EXPORTIEREN DER ERGEBNISSE
HINWEIS 1: Weitere Informationen zum Erhalt von Testergebnissen finden Sie im Revogene-Bedienungshandbuch.[5]

WÄHREND DES LAUFS
1. Wenn die Leuchten auf dem Revogene-Deckel blinken, so bedeutet dies, dass ein frühes positives Ergebnis (E-PRO) vorliegt. Außerdem erscheint auf der Titelleiste auf dem Bildschirm ein Symbol.

   Das **E-PRO**-Symbol beinhaltet das Symbol „+“ und eine Zahl, die die zu diesem Zeitpunkt verfügbaren positiven Ergebnisse wiedergibt (**Abbildung 3**). Die Zahl steigt, wenn weitere positive Ergebnisse verfügbar sind.

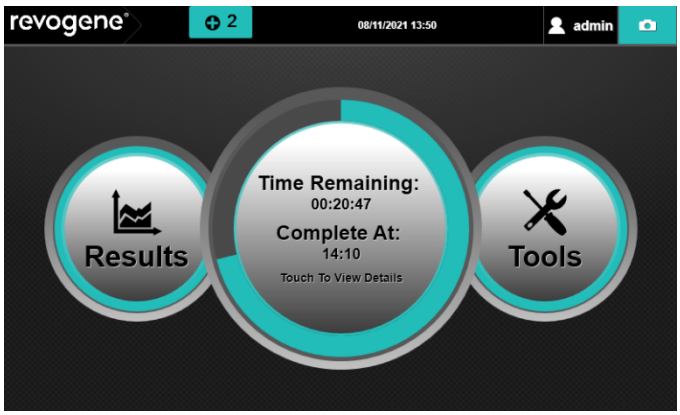

Abbildung 3. Hauptmenü-Anzeige mit E-PRO-Symbol.

2. Geben Sie den <**Benutzernamen**> und das <**Kennwort**> ein und tippen Sie auf <**Anmelden**>, wenn die Sitzung des Anwenders beendet wurde.
3. Tippen Sie auf das **E-PRO**-Symbol.
4. Die Ergebnisse des aktuellen Laufs werden automatisch auf dem Bildschirm aufgelistet (**Abbildung 4**). Für jede Probenzeile wird entweder ein Positiv-Symbol oder ein Bearbeitungssymbol angezeigt. Das Bearbeitungssymbol besteht aus einer rotierenden Animation und wird angezeigt, bis ein positives Ergebnis erhalten wurde oder der Lauf beendet ist.
5. Tippen Sie auf das Symbol für das positive Ergebnis, um den Zwischenbericht zu öffnen.
6. (Optional) Tippen Sie auf <**Export**> und speichern Sie den Zwischenbericht ggf. (z. B. auf einem USB-Stick oder über die Verbindungsoption).

   Sobald der Ergebnisbildschirm aufgerufen wurde, werden die E-PRO-Benachrichtigungen nicht mehr angezeigt. Neue E-PRO-Benachrichtigungen werden beim Nachweis eines weiteren frühen positiven Ergebnisses angezeigt.

Im Zwischenbericht angezeigte Probenergebnisse sind endgültig und bleiben im endgültigen Assay-Ergebnisbericht unverändert.

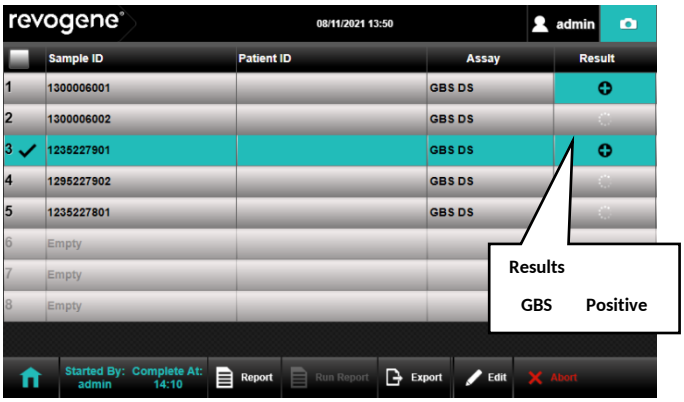

Abbildung 4. Anzeige der Ergebnisse in Bearbeitung.

AM ENDE DES LAUFS

7. Sobald der Lauf beendet ist, öffnet sich der Deckel automatisch.
8. Wenn der Revogene abgemeldet wurde, geben Sie den **<Benutzernamen>** und das **<Kennwort>** erneut ein und tippen Sie auf **<Anmelden>**. Das Hauptmenü erscheint automatisch.
9. Tippen Sie auf das **Ergebnisse**-Symbol, um auf die Testergebnisse zuzugreifen. Das Fenster **Ergebnisse** zeigt das/die gemeldete(n) Ergebnis(se) für jede Probe an (**Abbildung 5**).
10. Tippen Sie auf **<Letzter Lauf>**, um die aktuellsten Testergebnisse einzusehen.

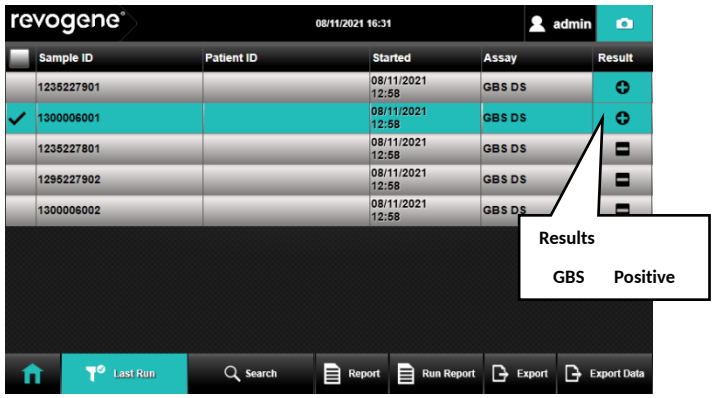

Abbildung 5. Ergebnisfenster mit dem/den gemeldeten Ergebnis(sen) für jede Probe.

11. Wählen Sie aus **<Letzter Lauf>** die Proben aus, für die Ergebnisberichte exportiert werden müssen. Alle Proben können auf einmal ausgewählt werden, indem Sie das Kästchen oben links auf dem Bildschirm aktivieren.
12. Tippen Sie auf **<Export>** und speichern Sie sie ggf. (z. B. auf einem USB-Stick oder über die Verbindungsoption).
13. (Option) Tippen Sie auf <**Suchen**>, um eine bestimmte Probe und ihr Ergebnis zu suchen.
14. Entfernen Sie den Haltering und die PIEs vom Revogene. Verwendete PIEs sollten gemäß den Standardverfahren der Einrichtung in geeignete Abfallbehälter entsorgt werden.

VERFAHREN FÜR WIEDERHOLUNGSTESTS
UNKLARES BZW. UNBESTIMMTES ERGEBNIS FÜR EINE PROBE
HINWEIS 1: Aufgrund der Einstellung *intrapartal* ist die Durchführung von Wiederholungstests möglicherweise nicht möglich und von den Praktiken und Richtlinien innerhalb der jeweiligen Einrichtung abhängig. Die Koordination zwischen Ärzten und dem Testlabor ist wichtig, um die Verabreichung von Antibiotika nicht zu verzögern, während die Ergebnisse noch ausstehen.

Wenn ein Ergebnis für eine Probe unklar (UNR, unresolved) oder unbestimmt (IND, indeterminate) ist, muss ein Wiederholungstest für das entsprechende inokulierte SBT innerhalb des angegebenen Zeitfensters, das in Abschnitt **Aufbewahrung und Stabilität** beschrieben ist, durchgeführt werden. Es ist lediglich ein (1) Wiederholungstest aus dem SBT zulässig.

Mischen Sie das SBT mindestens 30 Sekunden lang bei maximaler Geschwindigkeit mit einem Vortexmischer. Befolgen Sie unter Verwendung eines neuen Beutels die Schritte 8 bis 13 des Abschnitts **Probenvorbereitung und -handhabung/PIE-Vorbereitung** und befolgen Sie dann die Anweisungen in Abschnitt **Revogene-Bedienung**.

UNKLARES, UNBESTIMMTES, FALSCH NEGATIVES ODER FALSCH POSITIVES ERGEBNIS FÜR EINE EXTERNE KONTROLLE
Bei einem unklaren, unbestimmten, falsch negativen oder falsch positiven Ergebnis für eine externe Kontrolle ist der Lauf ungültig. Proben aus diesem Lauf sollten mithilfe eines entsprechenden inokulierten SBT zusammen mit frisch vorbereiteten externen Kontrollen erneut aufbereitet werden; dies sollte innerhalb des im Abschnitt **Aufbewahrung und Stabilität** beschriebenen, festgelegten Zeitfensters geschehen. Informationen zur Vorbereitung von frischen externen Kontrollen sind im nächsten Abschnitt **Qualitätskontrolle** zu finden.

Für die Durchführung des Wiederholungstests mischen Sie das SBT mithilfe des entsprechenden inokulierten SBT mindestens 30 Sekunden lang bei maximaler Geschwindigkeit mit einem Vortexmischer. Befolgen Sie unter Verwendung eines neuen Beutels die Schritte 8 bis 13 des Abschnitts **Probenvorbereitung und -handhabung/PIE-Vorbereitung** und befolgen Sie dann die Anweisungen in Abschnitt **Revogene-Bedienung**.

QUALITÄTSKONTROLLE
Mithilfe von Qualitätskontrollverfahren werden Genauigkeit und Präzision des analytischen Prozesses überwacht. Jedes Labor muss die Anzahl, Art und Häufigkeit der Testkontrollmaterialien gemäß den geltenden Vorschriften oder zulassungsbehördlichen Auflagen festlegen. Das unten beschriebene Verfahren kann, falls zutreffend, auf Grundlage von örtlichen Richtlinien und Verfahren eingesetzt werden.

PROZESSKONTROLLE
Jede PIE enthält eine Prozesskontrolle (PrC), die die Homogenisierung und Verdünnung der Probe, Zelllyse, Inhibition der DNA-Amplifikation und einen Assay-Reagenzausfall prüft.

EXTERNE KONTROLLEN
HINWEIS 1: Für die Vorbereitung von externen Kontrollen müssen ein separates DTT, SBT und eine separate PIE verwendet werden.

1. Gemäß guter Laborpraxis ist die Anwendung von Kontrollmaterialien empfohlen. Anwender sollten die entsprechenden Leitlinien zur Durchführung von externen Kontrollen beachten. Es wird empfohlen, mindestens einmal täglich eine (1) externe Positivkontrolle und eine (1) externe Negativkontrolle laufen zu lassen, bis eine angemessene Prozessvalidierung mit dem Revogene GBS DS-Assay auf dem Revogene-Gerät im jeweiligen Labor erreicht wurde.
2. Externe Kontrollmaterialien werden nicht von Meridian Bioscience, Inc. bereitgestellt. Externe Kontrollen werden von der Revogene-Software nicht zur Auswertung der Probentestergebnisse verwendet. Externe Kontrollen werden wie Proben behandelt.
3. Bevor frühe positive Probenergebnisse berichtet werden, stellen Sie sicher, dass gültige externe Positiv- und Negativkontrollergebnisse vorliegen.
4. Es können handelsübliche Kontrollmaterialien, vorher charakterisierte positive Proben oder negative Proben mit gut charakterisierten Organismen als externe Positivkontrollen verwendet werden. Externe Positivkontrollen sollten gemäß den geltenden Vorschriften oder zulassungsbehördlichen Auflagen verwendet werden.
5. Es können handelsübliche Kontrollmaterialien und vorher charakterisierte negative Proben als externe Negativkontrollen verwendet werden. Externe Negativkontrollen sollten gemäß den geltenden Vorschriften oder zulassungsbehörderlichen Auflagen verwendet werden.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE
Die Ergebnisse werden vom Revogene-Gerät anhand der Fluoreszenzsignale und integrierten Berechnungsalgorithmen berechnet und sind auf dem Revogene-Gerät unter dem Fenster „Ergebnisse“ verfügbar. Nachfolgend sind positive Ergebnisse aufgeführt:

Probe	Symbol	Ergebnis	Auswertung
Patientenprobe		Positiv	GBS-Ziel-DNA erkannt.
		Negativ	GBS-Ziel-DNA nicht erkannt.
		Unklar	Amplifikations-/Nachweisfehler der Prozesskontrolle sowie für die GBS-Ziel-DNA. Könnte durch hemmende Proben, einen Mikrofluidikfehler oder einen Reagenzausfall verursacht worden sein. Es muss ein Wiederholungstest durchgeführt werden (weitere Anweisungen finden Sie im Abschnitt **Verfahren für Wiederholungstests**).
		Unbestimmt	Kein berichtspflichtiges Ergebnis aufgrund eines möglichen Revogene-Nachweisfehlers während der Assay-Verarbeitung, der Datenanalyse oder aufgrund des Abbruchs des Laufs durch den Anwender. Es muss ein Wiederholungstest durchgeführt werden (weitere Anweisungen finden Sie im Abschnitt **Verfahren für Wiederholungstests**).
		In Bearbeitung	Noch keine Ergebnisse verfügbar.
Externe Positivkontrolle		Positiv	Gültiges Ergebnis der externen Positivkontrolle.
		Negativ	Eine externe Positivkontrolle, die ein negatives Ergebnis ergibt, weist auf ein Problem bei der Handhabung/Vorbereitung der Probe hin. **Der Lauf ist ungültig.** Prüfen Sie die Technik zur Handhabung/Vorbereitung der Probe. Es muss ein Wiederholungstest durchgeführt werden (weitere Anweisungen finden Sie im Abschnitt **Verfahren für Wiederholungstests**).
		Unklar	Falsches Ergebnis der externen Positivkontrolle. **Der Lauf ist ungültig.** Es muss ein Wiederholungstest durchgeführt werden (weitere Anweisungen finden Sie im Abschnitt **Verfahren für Wiederholungstests**).
		Unbestimmt	Falsches Ergebnis der externen Positivkontrolle. **Der Lauf ist ungültig.** Es muss ein Wiederholungstest durchgeführt werden (weitere Anweisungen finden Sie im Abschnitt **Verfahren für Wiederholungstests**).
		In Bearbeitung	Noch keine Ergebnisse verfügbar.
Externe Negativkontrolle		Positiv	Eine externe Negativkontrolle, die ein positives Testergebnis ergibt, weist auf ein Problem bei der Handhabung der Probe oder eine Kontamination hin. **Der Lauf ist ungültig.** Prüfen Sie die Technik zur Handhabung der Probe. Es muss ein Wiederholungstest durchgeführt werden (weitere Anweisungen finden Sie im Abschnitt **Verfahren für Wiederholungstests**).
		Negativ	Gültiges Ergebnis der externen Negativkontrolle.
		Unklar	Falsches Ergebnis der externen Negativkontrolle. **Der Lauf ist ungültig.** Es muss ein Wiederholungstest durchgeführt werden (weitere Anweisungen finden Sie im Abschnitt **Verfahren für Wiederholungstests**).
		Unbestimmt	Falsches Ergebnis der externen Negativkontrolle. **Der Lauf ist ungültig.** Es muss ein Wiederholungstest durchgeführt werden (weitere Anweisungen finden Sie im Abschnitt **Verfahren für Wiederholungstests**).
		In Bearbeitung	Noch keine Ergebnisse verfügbar.

EINSCHRÄNKUNGEN
1. Der Revogene GBS DS-Assay darf nur mit dem Revogene-Gerät und von geschultem Personal verwendet werden.
2. Ein positives Testergebnis weist nicht notwendigerweise auf das Vorliegen von lebensfähigen Organismen hin. Es ist jedoch ein Hinweis auf GBS-DNA.
3. Verwendung des Revogene GBS DS-Assays nur für klinische Proben, die mit Copan Liquid Stuart, Bestellnr. 141C, entnommen wurden. Die Verwendung des Revogene GBS DS-Assays für klinische Probenarten, die nicht den angegebenen entsprechen, wurde nicht evaluiert und die Leistungsmerkmale wurden nicht festgelegt.
4. Zervix-, Perianal-, Perirektal- oder Perinealproben sind nicht akzeptabel und es sollte kein Spekulum zur Entnahme von Kulturen verwendet werden.
5. Eine nicht ordnungsgemäße Probennahme, -handhabung oder -lagerung, technische Fehler oder das Vermischen von Proben kann zu fehlerhaften Testergebnissen führen. Die Anweisungen dieser Beilage, das Revogene-Bedienungshandbuch[5] und die gängigen Richtlinien müssen sorgfältig eingehalten werden, um fehlerhafte Ergebnisse zu vermeiden.
6. Es können Kontamination oder falsch negative Ergebnisse auftreten, wenn eine PIE-Kappe nicht ordnungsgemäß verschlossen wurde.
7. Auch wenn es keine bekannten GBS-Stämme/-Isolate ohne das *cfb*-Gen gibt, würde das Vorliegen eines solchen Stammes zu einem fehlerhaften Ergebnis (falsch negativ) mit dem Revogene GBS DS-Assay führen.
8. Mutationen oder Polymorphismen in primer- oder sondenbindenden Regionen können den Nachweis von GBS-*cfb*-Genvarianten beeinträchtigen und mit dem Revogene GBS DS-Assay zu einem falsch negativen Ergebnis führen.
9. Ergebnisse des Revogene GBS DS-Assays sollten als Ergänzung klinischer Beobachtungen und anderen dem Arzt zur Verfügung stehenden Informationen verwendet werden.
10. Ein negatives Ergebnis schließt die Möglichkeit einer GBS-Besiedlung nicht aus. Falsch negative Ergebnisse können auftreten, wenn die GBS-Konzentration unter der Nachweisgrenze des Assays liegt.
11. Der Test ist nicht dafür bestimmt, GBS-Träger von Patienten mit einer Streptokokkenerkrankung zu unterscheiden.
12. Assayergebnisse können beeinträchtigt werden, wenn gleichzeitig eine Antibiotikatherapie durchgeführt wird, da die GBS-DNA möglicherweise weiterhin nachgewiesen wird.
13. Feuchtigkeitsspendende Lotionen (z. B. Aveeno®), Vollblut oder Mekonium können potenziell den Revogene GBS DS-Assay beeinträchtigen, wenn eine dieser Substanzen im Probenpuffer mit einer Konzentration von > 6,50E-3 % (w/v oder v/v) vorliegt.
14. Ein Fungizid (z. B. Micatin®) oder das Fruchtwasser kann potenziell den Revogene GBS DS-Assay beeinträchtigen, wenn eine dieser Substanzen im Probenpuffer mit einer Konzentration von > 0,065 % (w/v oder v/v) vorliegt.
15. Medikamente gegen Gastritis (z. B. Tums®) mit einer Konzentration von > 3,48E-6 % (w/v), Medikamente gegen Diarrhoe (z. B. Imodium®) mit einer Konzentration von > 1,50E-6 % (w/v), Medikamente gegen Diarrhoe (z. B. Pepto Bismol™) mit einer Konzentration von > 1,95E-3 % (w/v) oder Laxanzien (z. B. Senokot®) mit einer Konzentration von > 3,19E-7 % (w/v) können potenziell den Revogene GBS DS-Assay beeinträchtigen, wenn eine dieser Substanzen im Probenpuffer vorliegt.
16. Körperpuder (Vagisil® Deodorantpuder) mit der niedrigeren getesteten Konzentration, 6,50E-05 % (w/v), hat eine Hemmwirkung auf den Nachweis der GBS-Stämme gezeigt.

ERWARTETE WERTE
Während der klinischen Evaluierung des Revogene GBS DS-Assays wurden insgesamt 462 berichtspflichtige Ergebnisse, die mit der Referenzmethodenkultur konform waren, erhalten. Insgesamt lag die GBS-Prävalenzrate bei 26,4 % (112 von 462) mit einem 95%igen KI von 22,5–30,9 %.

KLINISCHE LEISTUNGSMERKMALE
Meridian Bioscience Canada, Inc. hat eine Studie zur Evaluierung der klinischen Leistung des Revogene GBS DS-Assays durchgeführt. Insgesamt wurden 462 *intrapartale* vaginale/rektale Abstriche schwangeren Frauen an zwei (2) kanadischen Standorten prospektiv entnommen. Es wurden ausschließlich Proben von Frauen in die Studie aufgenommen, die die Einschlusskriterien der Studie erfüllten und nicht die Ausschlusskriterien erfüllten. Es wurden zwei (2) Abstriche pro Patientin entnommen und getestet. Der erste Abstrich wurde mit einer Referenzkulturmethode getestet, wohingegen der zweite Abstrich in einen Probenpuffer gegeben und bei -70 C eingefroren wurde, bevor er mit dem Revogene GBS DS-Assay auf dem Revogene getestet wurde. Von diesen 462 Proben wurden 422 mit dem Revogene GBS DS-Assay von Meridian Bioscience Canada, Inc. getestet; die übrigen 40 Proben waren für keine Tests verfügbar.

Die Referenzkulturmethode wurde von einem (1) kanadischen Standort durchgeführt. Bei der Referenzkulturmethode wurde der vaginale/rektale Abstrich zunächst in eine LIM-Bouillon-Anreicherungskultur übertragen und dann eine Subkultur auf einer nicht selektiven Blutagarplatte angesetzt. Die Identität von Kolonien auf der Blutagarplatte, die eine morphologische Ähnlichkeit mit GBS aufwiesen, wurde durch Gruppe-B-Streptokokken-Grouping-Antiseren und/oder den CAMP-Test bestätigt.

Die Werte der Sensitivität, Spezifität, des positiven prädiktiven Werts (PPV) und negativen prädiktiven Werts (NPV) wurden berechnet, indem die Ergebnisse des Revogene GBS DS-Assays mit der Referenzkulturmethode verglichen wurden. Es wurde eine diskrepante Analyse von der Einrichtung durchgeführt, die die Referenzkulturmethode durchgeführt hat. Ein Teil der Proben mit widersprüchlichen Ergebnissen zwischen dem Revogene GBS DS-Assay und der Referenzkulturmethode wurden mit einem zweiten Nukleinsäure-amplifizierenden Test (NAT) getestet.

Ergebnisse
Die allgemeinen Leistungsmerkmale des Revogene GBS DS-Assays zeigte eine Sensitivität von 96,4 % (107/111; 95%iger KI: 91,1–98,6 %) und eine Spezifität von 89,9 % (277/308; 95%iger KI: 86,1–92,8 %). Die Leistungsergebnisse dieser Studie sind in **Tabelle 1** zusammengefasst.

Von den 422 mit dem Revogene GBS DS-Assay getesteten Proben, die am Proben- und PCR-Level konform waren, wurden fünf (5) (1,2 %) bei der Anfangsuntersuchung als „Unklar" gemeldet. Die Rate der unklaren Ergebnisse nach dem Wiederholungstest lag bei 0,7 % (3/422).

Von den 422 mit dem Revogene GBS DS-Assay getesteten Proben wurde eine (1) (0,2 %) anfänglich als „Unbestimmt" gemeldet. Nach dem Wiederholungstest lagen keine unbestimmten Ergebnisse mehr vor.

Tabelle 1. Allgemeine Leistungsmerkmale des Revogene GBS DS-Assays im Vergleich mit der Referenzmethode.

		Referenzmethode		
		Positiv	**Negativ**	**Gesamt**
GBS DS-Assay	**Positiv**	107	31[B]	138
	Negativ	4[A]	277	281
	Gesamt	111	308	419
Sensitivität		96,4 % (107/111; 95%iger KI: 91,1–98,6 %)		
Spezifität		89,9 % (277/308; 95%iger KI: 86,1–92,8 %)		
Positiver prädiktiver Wert		77,5 % (107/138; 95%iger KI: 69,9–83,7 %)		
Negativer prädiktiver Wert		98,6 % (277/281; 95%iger KI: 96,4–99,4 %)		

[A] Zwei (2) Proben wurden mit einer zweiten NAT-Methode getestet; es wurde GBS-DNA in einer (1) der zwei (2) falsch negativen Proben nachgewiesen.
[B] Fünfzehn Proben wurden mit einer zweiten NAT-Methode getestet; es wurde GBS-DNA in 13 der 15 falsch negativen Proben nachgewiesen.

ANALYTISCHE LEISTUNGSMERKMALE

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT
Die analytische Sensitivität (Nachweisgrenze oder LoD (Limit of Detection)) des Revogene GBS DS-Assays wurde mithilfe einer simulierten Matrix bestimmt, die mit verschiedenen Konzentrationen GBS-Bakteriensuspension versetzt wurde. Drei (3) GBS-Stämme (ATCC® 12403™, ATCC® 13813™ und ATCC® BAA-22™) wurden in 24 Replikaten pro Konzentration getestet. Die Nachweisgrenze ist definiert als die niedrigste Konzentration, die in 95 % der Replikate positive Ergebnisse lieferte.

Bezüglich der drei (3) getesteten Stämme lag die Nachweisgrenze des GBS DS-Assays in einer simulierten Matrix in Bereichen von 375 bis 1500 KBE/mL Probenpuffer (SB). Die Ergebnisse sind in **Tabelle 2** zusammengefasst. Die Äquivalenz der Nachweisgrenze wurde zwischen der Matrix des klinischen vaginalen/rektalen Abstrichs, der vorher negativ auf GBS getestet wurde, und der simulierten Matrix mit ATCC® 12403™ und ATCC® 13813™ Stämmen gezeigt.

Tabelle 2. Nachweisgrenze des Revogene GBS DS-Assays

GBS-Stamm (ATCC® Nummer)	**LoD in simulierter Matrix (KBE/mL von SB)**
Serotyp III (ATCC® 12403™)	750
Serotyp III (ATCC® BAA-22™)	1500
Nicht hämolytisch (ATCC® 13813™)	375

INKLUSIVITÄT
Die Inklusivität des Revogene GBS DS-Assays wurde für 13 GBS-Stämme bestimmt, wobei 11 bekannte Serotypen und ein (1) nicht hämolytischer Stamm vertreten waren. Zehn (10) Stämme wurden aus einer quantifizierten Zellkultur bei Vorhandensein einer GBS-negativen, simulierten Matrix bei einer Belastung von 1125 KBE/mL SB getestet, was dem Dreifachen (3) des Nachweisgrenzwerts des ATCC® 13813™ Stamms entspricht. Drei (3) Replikate pro Stamm wurden mit drei (3) verschiedenen Chargen des GBS DS-Kits getestet. Sechs (6) Stämme wurden durch den Revogene GBS DS-Assay mit einer 100%igen Positivität (bei 3/3 Replikaten) bei einer Belastung von 1125 KBE/mL SB nachgewiesen. Zwei (2) Stämme (ATCC® 51487™ und ATCC® BAA-2669™) wurden mit einer 100%igen Positivität bei einer Belastung von 1875 KBE/mL SB nachgewiesen. Die Stämme ATCC® 27591™ und ATCC® 12973™ wurden mit einer 100%igen Positivität bei einer Belastung von 2625 KBE/mL SB bzw. 15.000 KBE/mL SB nachgewiesen. Die getesteten Stämme werden in **Tabelle 3** beschrieben.

Tabelle 3. Mit dem Revogene GBS DS-Assay auf Inklusivität getestete GBS-Stämme.

GBS-Stamm	**Serotyp**
ATCC® 12400™	Ia
ATCC® 51487™	Ib
ATCC® 27591™	Ic
ATCC® 12973™	II
ATCC® 12403™ [1]	III
ATCC® BAA-22™ [1]	III
ATCC® 49446™	IV
ATCC® BAA-611™	V
ATCC® BAA-2671™	VI
ATCC® BAA-2670™	VII
ATCC® BAA-2669™	VIII
ATCC® BAA-2668™	IX
ATCC® 13813™ [1]	Nicht hämolytisch

[1] Für die Bestimmung der Nachweisgrenze verwendete Stämme und daher nicht erneut getestet

Es wurde zusätzlich eine *In-silico*-Analyse durchgeführt, um die Inklusivität der Primer und Sonden des Revogene GBS DS-Assay-Ziels bezüglich 36 zusätzlichen GBS-Stämmen zu bewerten, die in der Datenbank des National Center for Biotechnology Information (NCBI) vom 20. Oktober 2016 aufgelistet sind. Die Ergebnisse des Abgleichs zeigten keinen Unterschied zwischen den ausgewählten Sequenzen. Die Analyse sagte einen Nachweis aller dieser GBS-Stämme vorher.

KREUZREAKTIVITÄT

Die Kreuzreaktivität des Revogene GBS DS-Assays wurde bei hohen Belastungen mit Organismen bewerten, die nicht durch den Assay untersucht werden oder phylogenetisch mit GBS verwandt sind oder in der normalen urogenitalen Flora und im Darmtrakt vorliegen. Die Studie umfasste 64 Bakterien, vier (4) Hefen, vier (4) Viren, zwei (2) Parasiten und menschliche DNA (**Tabelle 4**). Bakterien und Hefe wurden bei einer Belastung von ≥ 10^6 KBE/mL SB getestet. Nukleinsäure von Viren, Parasiten und menschlicher DNA wurden bei einer Belastung von ≥ 10^5 DNA- oder RNA-Kopien/mL SB getestet. Diese Organismen wurden mit quantifizierten Zellkulturen oder Nukleinsäurelösungen bei Vorhandensein einer GBS-negativen, simulierten Matrix getestet. Drei (3) Replikate pro Organismus wurden mit drei (3) verschiedenen Chargen des GBS DS-Kits getestet.

Unter den Bedingungen der Studie wurde keiner der getesteten Organismen oder Nukleinsäuren vom Revogene GBS DS-Assay nachgewiesen.

Tabelle 4. Liste der mit dem Revogene GBS DS-Assay auf Kreuzreaktivität getesteten Organismen.

Bakterien	
Acinetobacter baumannii	*Mycoplasma genitalium* (gDNA)
Aerococcus viridans	*Mycoplasma hominis* (gDNA)
Aeromonas hydrophila	*Neisseria gonorrhoeae*
Bacillus cereus	*Peptostreptococcus anaerobius*
Bacillus subtilis	*Porphyromonas asaccharolytica*
Bacteroides fragilis	*Prevotella melaninogenica*
Bifidobacterium adolescentis	*Propionibacterium acnes*
Bifidobacterium breve	*Proteus mirabilis*
Brevibacterium linens	*Pseudomonas aeruginosa*
Campylobacter jejuni	*Salmonella enterica ssp. enterica ser. Dublin*
Chlamydia trachomatis (gDNA)	*Salmonella enterica ssp. enterica ser. Minneapolis*
Citrobacter freundii	*Salmonella enterica ssp. enterica ser. Typhimurium*
Clostridium difficile	*Salmonella enterica ssp. enterica ser. Newport*
Clostridium perfringens	*Serratia marcescens*
Corynebacterium genitalium	*Shigella sonnei*
Enterobacter aerogenes	*Staphylococcus aureus*
Enterobacter cloacae	*Staphylococcus aureus (Cowan)*
Enterococcus avium	*Staphylococcus epidermidis*
Enterococcus dispar	*Staphylococcus saprophyticus*
Enterococcus durans	*Streptococcus anginosus*
Enterococcus faecalis	*Streptococcus bovis*
Enterococcus faecium	*Streptococcus dysgalactiae ssp. disgalactiae*
Escherichia coli	*Streptococcus dysgalactiae equisimilis*
Escherichia fergusonii	*Streptococcus intermedius*
Gardnerella vaginalis	*Streptococcus oralis*
Klebsiella oxytoca	*Streptococcus pneumoniae*
Klebsiella pneumoniae	*Streptococcus pyogenes*
Lactobacillus acidophilus	*Streptococcus salivarius*
Lactobacillus brevis	*Streptococcus sanguinis*
Lactobacillus casei	*Streptococcus uberis*
Lactobacillus delbreuckii	*Ureaplasma urealyticum* (gDNA)
Lactobacillus jensenii	*Yersinia enterocolitica*
Hefe	
Candida albicans	*Candida parapsilosis*
Candida glabrata	*Candida tropicalis*
Viren	
Herpes-Simplex-Virus 1 (gDNA)	*Norovirus* GII (synthetische RNA)
Herpes-Simplex-Virus 2 (gDNA)	Humanes Papillomvirus (gDNA)
Parasiten	
Blastocystis hominis (gDNA)	*Trichomonas vaginalis* (gDNA)
Menschliche DNA	
Menschliche DNA (gDNA)	**-**

Es wurde zusätzlich eine *In-silico*-Analyse durchgeführt, um die Kreuzreaktivität der Primer und Sonden des Revogene GBS DS-Assays auf 62 zusätzliche Organismen zu bewerten, die sich potenziell im Urogenital- und Darmtrakt befinden (**Tabelle 5**). Die Analyse wurde auf allen Sequenzen dieser 62 Organismen durchgeführt, die in der Datenbank des National Center for Biotechnology Information (NCBI) vom 24. Januar 2017 enthalten waren. Die Analyse deutete darauf hin, dass keiner dieser Organismen mit dem Revogene GBS DS-Assay reaktiv sein sollte.

Tabelle 5. Liste der Organismen, die durch die *In-silico*-Analyse auf Kreuzreaktivität mit den Primern und Sonden des Revogene GBS DS-Assay geprüft wurden.

Bakterien	
Abiotrophia defectiva	*Listeria monocytogenes*
Achromobacter xylosoxidans	*Micrococcus luteus*
Alcaligenes faecalis	*Mobiluncus mulieris*
Campylobacter fetus	*Moraxella catarrhalis*
Chromobacterium violaceum	*Moraxella lacunata*
Clostridium bifermentans	*Moraxella osloensis*
Clostridium butyricum	*Morganella morganii*
Clostridium novyi	*Mycobacterium smegmatis*
Clostridium septicum	*Neisseria flava*
Clostridium sordelli	*Neisseria flavescens*
Clostridium sporogenes	*Neisseria lactamica*
Corynebacterium urealyticum	*Neisseria meningitidis*
Corynebacterium xerosis	*Neisseria perflava*
Deinococcus radiodurans	*Plesiomonas shigelloides*
Derxia gummosa	*Proteus vulgaris*
Eikenella corrodens	*Providencia stuartii*
Enterococcus gallinarum	*Pseudomonas fluorescens*
Gemella haemolysans	*Pseudomonas putida*
Haemophilus ducreyi	*Rhodospirillum rubrum*
Haemophilus influenzae	*Serratia liquefaciens*
Haemophilus influenzae Typ b	*Shigella boydii*
Helicobacter pylori	*Shigella flexneri*
Kingella denitrificans	*Staphylococcus simulans*
Kingella kingae	*Stenotrophomonas maltophilia*
Legionella pneumophila	*Streptococcus gordonii*
Streptococcus mitis	*Vibrio parahaemolyticus*
Streptococcus mutans	-
Schimmel/Hefe	
Cryptococcus neoformans	*Saccharomyces cerevisiae*
Viren	
Adenovirus 40	*Echovirus*
Adenovirus 41	*Epstein-Barr-Virus*
BK-Virus	*Rotavirus*
Coxsackievirus	-

STÖRENDE ORGANISMEN

Die potenzielle Hemmwirkung der 29 nicht angezielten Organismen, die sich möglicherweise in der urogenitalen Flora und im Darmtrakt befinden, wurde mithilfe von aus der Kreuzreaktivitätsstudie ausgewählten Organismen bewertet (**Tabelle 4**). Die Auswahl der Organismen basierte auf deren Prävalenz in der vaginalen/rektalen Flora. Es wurden Gruppen mit einem (1) bis fünf (5) Organismen in dreifacher Ausfertigung mit entweder 1125 KBE/mL SB mit dem ATCC® 13813™ Stamm, 4500 KBE/mL SB mit dem GBS ATCC® BAA-22™ Stamm oder GBS-negativen Proben bei Vorhandensein einer GBS-negativen, simulierten Matrix getestet, um deren Beeinflussung beim Nachweis von GBS oder PrC zu bewerten. Jeder Organismus in einer Gruppe wurde verdünnt, um eine Belastung von ≥ 10^6 KBE/mL oder Kopien/mL SB für Bakterien und Hefe und ≥ 10^5 Kopien/mL SB für Viren und Parasiten zu erreichen. Die 29 Organismen in der Studie sind in **Tabelle 6** aufgeführt.

Tabelle 6. Liste der mit dem Revogene GBS DS-Assay auf Beeinflussung getesteten Organismen.

Gruppe 1	
Acinetobacter baumannii	*Enterococcus faecalis*
Bacillus subtilis	*Enterococcus faecium*
Bacteroides fragilis	
Gruppe 2	
Campylobacter jejuni	*Escherichia coli*
Clostridium difficile	*Gardnerella vaginalis*
Corynebacterium genitalium	
Gruppe 3	
Klebsiella oxytoca	*Peptostreptococcus anaerobius*
Lactobacillus acidophilus	*Propionibacterium acnes*
Neisseria gonorrhoeae	
Gruppe 4	
Pseudomonas aeruginosa	*Shigella sonnei*
Salmonella enterica ssp. enterica ser. Dublin	*Staphylococcus aureus*
Serratia marcescens	
Gruppe 5	
Staphylococcus epidermidis	*Yersinia enterocolitica*
Streptococcus pyogenes	*Candida albicans*
Gruppe 6	
Chlamydia trachomatis	Humanes Papillomvirus (gDNA)
Herpes-Simplex-Virus 1 (gDNA)	*Trichomonas vaginalis*
Gruppe 7	
Mycoplasma genitalium (gDNA)	

Bei einer Belastung von ≥ 10^6 KBE/mL oder Kopien/mL SB für Bakterien und Hefe und ≥ 10^5 Kopien/mL SB für Viren und Parasiten beeinflusste keiner der 29 Organismen den Nachweis der PrC und den Nachweis der zwei (2)
GBS-Stämme (ATCC® 13813™ und ATCC® BAA-22™).

STÖRSUBSTANZEN

Die potenzielle Hemmwirkung der 22 körperfremden und acht (8) endogenen Substanzen, die sich möglicherweise in der urogenitalen Flora und im Darmtrakt befinden, wurde mithilfe von GBS-negativen Proben und den GBS-Stämmen ATCC® 13813™ und ATCC® BAA-22™ mit Proben mit einem Dreifachen (3) der entsprechenden Nachweisgrenze (1125 KBE/mL SB bzw. 4500 KBE/mL SB) bei Vorhandensein einer GBS-negativen, simulierten Matrix bewertet. Die Substanzen wurden mit einer physiologisch relevanten Konzentration getestet, die in Proben von vaginalen/rektalen Abstrichen oder bei einer höheren Konzentration gefunden werden konnte. Die Ergebnisse der 30 Organismen sind in **Tabelle 7** aufgeführt.

Die Ergebnisse haben gezeigt, dass Fungizide (z. B. Micatin®), Körperpuder (z. B. Vagisil® Deodorantpuder), feuchtigkeitsspendende Lotionen (z. B. Aveeno® feuchtigkeitsspendende Lotion), Medikamente gegen Gastritis (z. B. Tums®), Medikamente gegen Diarrhoe (Imodium®, Pepto Bismol™), Laxanzien (Senokot®), Vollblut, Fruchtwasser und Mekonium eine potenzielle Hemmwirkung auf den Nachweis von PrC oder GBS-Stämme besitzen, wenn eine dieser Substanzen im SBT mit einer Konzentration vorliegt, die über den Werten in **Tabelle 7** liegt. Wenn der Test mit der Konzentration aus **Tabelle 7** durchgeführt wurde, zeigte keine dieser Substanzen, mit Ausnahme des Körperpuders, berichtspflichtige Interferenzen mit dem Revogene GBS DS-Assay. Das Körperpuder mit der niedrigeren getesteten Konzentration, 6,50E-05 % (w/v), hat eine Hemmwirkung auf den Nachweis der GBS-Stämme gezeigt.

Tabelle 7. Liste der mit dem Revogene GBS DS-Assay getesteten körperfremden und endogenen Substanzen.

Körperfremde Substanzen	
Substanz (Handelsbezeichnung)	**Konzentration in Probenpuffer (SB) ohne beobachtete Interferenz[1]**
Fungizid (Micatin®)	0,065 % w/v*
Kühlgel zur Hämorrhoidenbehandlung (Preparation H®)	6,50 % w/v
Gleitmittel (K-Y® Gleitmittel)	0,65 % w/v
Körperpuder (Vagisil® Deodorantpuder)	Konzentration nicht bestimmt*
Feuchtigkeitsspendende Lotion (Aveeno® feuchtigkeitsspendende Lotion)	6,50E-03 % w/v*
Körperöl (Neutrogena® Körperöl)	6,50 % (v/v)
Deospray (Summer's Eve™ Spray)	6,50 % (v/v)
Einläufe (Life BRAND™ Schwermineralöl USP)	6,50 % (v/v)
Antimikrobiotika (Canesten®)	6,50 % w/v
Einläufe (Pentasa)	1,43E-03 % w/v
Orale Radiologiepräparate (Bariumsulfat)	7,50E-04 % w/v
Medikamente gegen Gastritis (Nexium)	7,50E-04 % w/v
Antimikrobiotika (Flagyl)	4,64E-04 % w/v
Nichtsteroidale Entzündungshemmer (Aleve®)	2,04E-03 % w/v
Antimikrobiotika (DIFLUCAN® One)	5,57E-05 % w/v
Medikamente gegen Gastritis (Tums®)	3,48E-06 % w/v*
Medikamente gegen Diarrhoe (Imodium®)	1,50E-06 % w/v*
Medikamente gegen Diarrhoe (Pepto Bismol™)	1,95E-03 % w/v*
Laxanzien (Senokot®)	3,19E-07 % w/v*
Spermizide (Trojan® mit spermiziden Gleitmittelkondomen)	0,65 % (v/v)
Erfrischungstücher (Equate™ Spülbare Feuchttücher)	6,50 % (v/v)
Erfrischungstücher (Wet Ones®)	0,65 % (v/v)
Endogene Substanzen	
Substanz	**Konzentration in Probenpuffer (SB) ohne beobachtete Interferenz[1]**
Vollblut	6,50E-03 % v/v*
Leukozyten	1,00E+06 Zellen/mL
Fruchtwasser	0,065 % v/v*
Samenflüssigkeit	6,50 % (v/v)
Urin	6,50 % (v/v)
Fäkalien	0,65 % (v/v)
Mekonium	6,50E-03 % w/v*
Menschliche DNA	1,55E+03 ng/mL

[1] % W/V: Volumengewicht (mg/mL); % v/v: Volumenprozent (µL/mL);
* Konzentrationen über diesen Werten können zu Interferenzen führen (siehe Grenzwerte oben).

PRÄZISION/REPRODUZIERBARKEIT

Es wurden Studien zur Untersuchung der Reproduzierbarkeit zwischen Laboren in drei (3) Laboren der Revogene-Einrichtung von zwei (2) Anwendern pro Labor über fünf (5) verschiedene Tage mit einer (1) Charge des GBS DS-Kits durchgeführt (siehe **Tabelle 8**). Die Ergebnisse von Labor 1 über fünf (5) Tage wurden für die Präzisionsstudie verwendet (siehe **Tabelle 8**).

Es wurden Studien zur Untersuchung der Reproduzierbarkeit zwischen Chargen in einem (1) Labor von zwei (2) Anwendern pro Labor über fünf (5) verschiedene Tage mit drei (3) Chargen des GBS DS-Kits durchgeführt (siehe **Tabelle 9**).

Für die Reproduzierbarkeits- und Präzisionsstudien wurden insgesamt 60 Replikate der negativen Proben und 90 Replikate jeder Kategorie der positiven Proben getestet; für alle Proben wurde eine GBS-negative, simulierte Matrix verwendet. Der GBS-Stamm ATCC® 13813™ (nicht hämolytisch) wurde für positive Proben verwendet.

Die Probenkategorien wurden wie folgt beschrieben:

- Schwach positiv (LP, Low Positive): 1,95 x LoD oder 731 KBE/mL SB
- Mäßig positiv (MP): 3 x LoD oder 1125 KBE/mL SB
- Richtig negativ (TN, True Negative): Proben ohne GBS-Ziel

Für die Reproduzierbarkeit zwischen Laboren lag die allgemeine Übereinstimmung in Prozent bei 100 % für TN, 98,8 % für MP und 96,7 % für LP beim ATCC® 13813™ GBS-Stamm (**siehe Tabelle 8**). Für die Präzisionsstudie lag die allgemeine Übereinstimmung in Prozent bei 100 % für TN, 96,7 % für MP und 96,7 % für LP beim ATCC® 13813™ GBS-Stamm (**siehe Tabelle 8, Labor 1**). Für die Reproduzierbarkeit zwischen Chargen lag die allgemeine Übereinstimmung in Prozent bei 100 % für TN, 97,8 % für MP und 92,2 % für LP beim ATCC® 13813™ GBS-Stamm (**siehe Tabelle 9**). Die allgemeinen mittleren Zyklusgrenzwerte (Ct, cycle threshold) mit Varianzkomponente (% VK) sind in **Tabelle 8** und **9** zu finden. Die Zusammenfassung der Ergebnisse der allgemeinen Reproduzierbarkeitsstudie (zwischen Laboren und Chargen kombiniert) sind in **Tabelle 10** zu finden.

Tabelle 8. Ergebnisse der Studien zur Untersuchung der Präzision und Reproduzierbarkeit zwischen Laboren mithilfe einer (1) Charge des GBS DS-Assay-Kits.

Labor 1, Instrument 1, Charge 1				
Panel-ID	**Ergebnisse/Gesamt**	**% Übereinstimmung[1]**	**Ct Mittelwert[2]**	**Ct % VK**
LP	29/30	96,7 %	38,2	5,6
MP	29/30	96,7 %	37,3	4,2
TN	20/20	100 %	30,2	3,1
Labor 2, Instrument 2, Charge 1				
Panel-ID	**Ergebnisse/Gesamt**	**% Übereinstimmung[1]**	**Ct Mittelwert[2]**	**Ct % VK**
LP	28/30	93,3 %	36,7	2,9
MP	30/30	100 %	36,9	4,7
TN	20/20	100 %	32,5	3,1
Labor 3, Instrument 3, Charge 1				
Panel-ID	**Ergebnisse/Gesamt**	**% Übereinstimmung[1]**	**Ct Mittelwert[2]**	**Ct % VK**
LP	30/30	100 %	37,9	5,5
MP	30/30	100 %	36,4	3,7
TN	20/20	100 %	30,1	1,8
Überall				
Panel-ID	**Ergebnisse/Gesamt**	**% Übereinstimmung[1]**	**Ct Mittelwert[2]**	**Ct % VK**
LP	87/90	96,7 %	37,6	5,1
MP	89/90	98,8 %	36,9	4,3
TN	60/60	100 %	30,9	4,6

[1] Für die TN-Kategorie wurde die Übereinstimmung in Prozent für negative Ergebnisse berechnet.
[2] Für die LP- und MP-Kategorien gelten die gemeldeten Ct-Werte für das GBS-Ziel. Für die TN-Kategorie gelten die gemeldeten Ct-Werte für die PrC.

Tabelle 9. Ergebnisse der Studie zur Untersuchung der Reproduzierbarkeit zwischen Chargen mithilfe von drei (3) Chargen des GBS DS-Assay-Kits.

Labor 1, Instrument 1, Charge 1				
Panel-ID	**Ergebnisse/Gesamt**	**% Übereinstimmung[1]**	**Ct Mittelwert[2]**	**Ct % VK**
LP	29/30	96,7 %	38,2	5,6
MP	29/30	96,7 %	37,3	4,2
TN	20/20	100 %	30,2	3,1
Labor 1, Instrument 1, Charge 2				
Panel-ID	**Ergebnisse/Gesamt**	**% Übereinstimmung[1]**	**Ct Mittelwert[2]**	**Ct % VK**
LP	26/30	86,7 %	38,6	6,1
MP	29/30	96,7 %	37,0	4,8
TN	20/20	100 %	29,9	2,6
Labor 1, Instrument 1, Charge 3				
Panel-ID	**Ergebnisse/Gesamt**	**% Übereinstimmung[1]**	**Ct Mittelwert[2]**	**Ct % VK**
LP	28/30	93,3 %	37,1	3,5
MP	30/30	100 %	38,0	5,7
TN	20/20	100 %	29,9	2,6
Überall (alle Chargen)				
Panel-ID	**Ergebnisse/Gesamt**	**% Übereinstimmung[1]**	**Ct Mittelwert[2]**	**Ct % VK**
LP	83/90	92,2 %	37,9	5,4
MP	88/90	97,8 %	37,4	5,0
TN	60/60	100 %	30,0	2,8

[1] Für die TN-Kategorie wurde die Übereinstimmung in Prozent für negative Ergebnisse berechnet.
[2] Für die LP- und MP-Kategorien gelten die gemeldeten Ct-Werte für das GBS-Ziel. Für die TN-Kategorie gelten die gemeldeten Ct-Werte für die PrC.

Tabelle 10. Zusammenfassung der Ergebnisse der Reproduzierbarkeitsstudie (zwischen Laboren und Chargen kombiniert).

Alle Labore und Chargen kombiniert				
Panel-ID	**Ergebnisse/Gesamt**	**% Übereinstimmung[1]**	**Ct Mittelwert[2]**	**Ct % VK**
LP	141/150	94,0 %	37,7	5,2
MP	148/150	98,7 %	37,1	4,8
TN	100/100	100 %	30,5	4,2

[1] Für die TN-Kategorie wurde die Übereinstimmung in Prozent für negative Ergebnisse berechnet.
[2] Für die LP- und MP-Kategorien gelten die gemeldeten Ct-Werte für das GBS-Ziel. Für die TN-Kategorie gelten die gemeldeten Ct-Werte für die PrC.

ELEKTRONISCHE KENNZEICHNUNG

Auf die Dokumentation zu diesem Produkt kann online unter www.meridianbioscience.com/pi zugegriffen werden. Zusätzlich sind Kopien in Papierform auf Nachfrage erhältlich. Wenden Sie sich an Ihren Händler vor Ort oder rufen Sie unter der auf der Kitpackung angegebenen Telefonnummern an.

REFERENCES

1. MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report, Recommendations and Reports, Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease: Revised Guidelines from CDC, November 19, 2010 / Vol. 59 / No. RR-10; 1-36
2. A Population-Based Comparison of Strategies to Prevent Early-Onset Group B Streptococcal Disease in Neonates. N Engl J Med 2002; 347:233-239
3. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute of Health, HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009
4. M29-A4 Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition, Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI), May 2014
5. SN134822 Revogene® Operator's Manual
6. Diagnostic Accuracy of a Rapid Real-Time Polymerase Chain Reaction Assay for Universal Intrapartum Group B Streptococcus Screening. Clin Infect Dis 2009; 49:417–23
7. Intrapartum GBS screening and antibiotic prophylaxis: a European consensus conference. J Matern Fetal Neonatal Med 2015; 28(7): 766–782

 Manufactured By	**Meridian Bioscience, Inc.** 3471 River Hills Drive Cincinnati, OHIO - 45244 USA www.meridianbioscience.com Contacts: Main Telephone (+1) 513.271.3700 Customer Service/Orders 800.543.1980 Technical Support Center 800.343.3858 Information Fax: 513.272.5432 Ordering Fax: 513.271.0124 E-mail: info@meridianbioscience.com
AUSTRALIAN SPONSOR	Emergo Australia Level 20, Tower II Darling Park 201 Sussex Street Sydney, NSW 2000 Australia
UK Authorised Representative	Launch Diagnostics Limited Lakeview West Crossways Business Park Galleon Boulevard Dartford Kent DA2 6QE United Kingdom

INTERNATIONAL SYMBOLS USAGE
You may see one or more of these symbols on the labeling/packaging of this product
Key guide to symbols (Guida ai simboli, Guide des symboles, Guia de simbolos, Zeichenerklärung)

	Use-by date / Data di scadenza / Date de péremption / Fecha de caducidad / Verwendbar bis
LOT	Batch code / Codice di lotto / Code de lot / Código de lote / Chargennummer
IVD	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico diagnostico *in vitro* / Instrument de test diagnostique *in vitro* / Producto sanitario para diagnóstico *In vitro* / *In-vitro*-Diagnostikum
CE	CE Mark / Marcatura CE / Symbole CE / Marcado CE / CE-Kennzeichen
REF	Catalog number / Numero di catalogo / Référence catalogue / Referencia / Bestellnummer
	Consult instructions for use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter le mode d'emploi / Consultar las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten
	Manufacturer / Produttore / Fabricant / Fabricante / Hersteller
	Contains sufficient for <n> tests / Contiene una quantità sufficiente per <n> test / Contient le matériel suffisant pour <n> tests / Contiene la cantidad suficiente para <n> ensayos / Inhalt ausreichend für <n> Tests
	Temperature limit / Limite di temperatura / Limite de température / Límite de temperatura / Temperaturgrenze
EC REP	Authorized representative in the European Community / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Représentant agréé dans la Communauté européenne / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter EU-Repräsentant
	Do not reuse / Non riutilizzare / Ne pas réutiliser / No reutilizar / Nicht wiederverwenden
	Keep dry / Conservare all'asciutto / Conserver au sec / Mantener seco / Vor Feuchtigkeit schützen
	Contains # pouches: 1 Disposable Transfer Tool (DTT), 1 Sample Buffer Tube (SBT), 1 PIE / Contiene # buste: 1 PIE, 1 Sample Buffer Tube (SBT), 1 Disposable Transfer Tool (DTT) / Contient # sachets: Une cartouche PIE, Un tube échantillon, Un outil de transfert jetable (OTJ) / Incluye # bolsitas: 1 PIE, 1 Sample Buffer Tube (SBT), 1 Disposable Transfer Tool (DTT) / Enthält # Beutel: 1 PIE, 1 Sample Buffer Tube (SBT), 1 Disposable Transfer Tool (DTT)
	Humidity Limitation / Limitazione dell'umidità / Limite d'humidité / Limitación de humedad / Feuchtigkeitsbegrenzung
Rx Only	Prescription Use Only / Per l'uso su prescrizione medica / Uniquement sur prescription / Solo Para Uso Por Receta / verschreibungspflichtig
	Do not use if package is damaged / Non utilizzare se la confezione è danneggiata / Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé / No utilizar si el envase está dañado / Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist
	Keep away from sunlight / Tenere lontano dalla luce del sole / Tenir à l'écart de la lumière du soleil / Mantener alejado de la luz solar / Vor Sonnenlicht schützen
	Contains 24 Disposable Transfer Loops (DTL) / Contiene 24 loop di trasferimento monouso (DTL) / Contient 24 boucles de transfert jetables (DTL) / Contiene 24 bucles de transferencia desechables (DTL) / Enthält 24 Einwegübertragungsschleifen (DTL)
DTT	Disposable Transfer Tool (DTT) / Disposable Transfer Tool 9DTT) / Un outil de transfert jetable (OTJ) / Disposable Transfer Tool (DTT) / Dispoable Transfer Tool (DTT)
PIE	Revogene Test Device / Dispositivo Test Revogene / Dispositif de test Revogene / Dispositivo para la Prueba Revogene / Revogene-Analysegefäß
EUA	For Emergency Use Authorization only / Solo per l'autorizzazione per l'uso di emergenza / pour autorisation d'utilisation d'urgence uniquement / para autorización de uso de emergencia solamente / nur für Notfallverwendungsautorisierung
LOOP	Disposable Transfer Loop / Loop di trasferimento monouso / Boucles de transfert jetables / Bucles de transferencia desechables / Einwegübertragungsschleifen
SBT	Sample Buffer Tube / Sample Buffer Tube / Un tube échantillon / Smaple Buffer Tube / Sample Buffer Tube
	Revogene Test Device / Dispositivo Test Revogene / Dispositif de test Revogene / Dispositivo para la Prueba Revogene / Revogene-Analysegefäß
CH REP	Swiss Authorized Representative / Mandatario svizzero / Mandataire Suisse / Representante Autorizado Suizo / Schweizer Bevollmächtigter

For technical assistance, call Technical Support Services at 800-343-3858 between the hours of 8AM and 6PM, USA Eastern Standard Time. To place an order, call Customer Service Department at 800-543-1980.

TaqMan is a registered trademark of Roche Molecular Systems, Inc.
ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection.
Revogene and associated logos are trademarks of Meridian Bioscience, Inc.
© 2020-12 Meridian Bioscience, Inc.

TaqMan è un marchio registrato di Roche Molecular Systems, Inc.
ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection.
Revogene e i relativi loghi sono marchi di Meridian Bioscience, Inc.
© 2020-12 Meridian Bioscience, Inc.

TaqMan est une marque déposée de Roche Molecular Systems, Inc.
ATCC est une marque déposée de l'American Type Culture Collection.
Revogene et les logos associés sont des marques de commerce de Meridian Bioscience, Inc.
© 2020-12 Meridian Bioscience, Inc.

TaqMan es una marca registrada de Roche Molecular Systems, Inc.
ATCC es una marca registrada de la American Type Culture Collection.
Revogene y los logotipos asociados son marcas comerciales de Meridian Bioscience, Inc.
© 2020-12 Meridian Bioscience, Inc.

TaqMan ist eine eingetragene Marke von Roche Molecular Systems, Inc.
ATCC ist eine eingetragene Marke von American Type Culture Collection.
Revogene und zugehörige Logos sind Marke von Meridian Bioscience, Inc.
© 2020-12 Meridian Bioscience, Inc.