



INTENDED USE

The Revogene® Strep A assay, performed on the Revogene instrument, is an automated, qualitative *in vitro* diagnostic test that utilizes real-time polymerase chain reaction (PCR) for the direct detection of *Streptococcus pyogenes* (Group A β -hemolytic *Streptococcus*) nucleic acids from throat swab specimens obtained from patients with signs and symptoms of pharyngitis. The Revogene Strep A assay is intended for use as an aid in the diagnosis of Group A *Streptococcus* infection.

SUMMARY AND EXPLANATION

Streptococcus pyogenes, or Group A *Streptococcus* (GAS), is a facultative anaerobe, Gram-positive coccus which grows in chains and causes numerous infections in humans including pharyngitis, tonsillitis, scarlet fever, cellulitis, erysipelas, rheumatic fever, post-streptococcal glomerulonephritis, necrotizing fasciitis, myonecrosis and lymphangitis.

Group A *Streptococcus* (GAS) remains the most common bacterial etiology, and accounts for 15 to 30% of cases of acute pharyngitis in children and 5 to 20% in adults.¹ Because the signs and symptoms of GAS pharyngitis overlap extensively with other infectious causes (sore throat, fever with sudden onset), it makes difficult doing a diagnosis based solely on clinical findings. However, an accurate diagnosis is necessary to promptly and adequately treat the disease through antibiotherapy and avoid possible serious complications such as rheumatic fever.

Conventional methods for the detection of GAS infection include the use of Rapid Antigen Detection Tests (RADTs) or culturing pharyngeal swab samples followed by Lancefield group differentiation with latex agglutination. Although highly specific, the sensitivity of RADTs can be as low as 31 to 50%,² prompting the need for back-up cultures.^{3,4} On the other hand, culture can take up to 48 h, delaying appropriate antimicrobial treatment.⁵ The Revogene Strep A assay can provide results from one up to eight samples as early as 42 minutes for positive specimens and in approximately 70 minutes for negative specimens, without the need for culture confirmation of negative Revogene Strep A assay results. The assay minimizes operator intervention from the loading of the sample into the single use microfluidic cartridge (PIE) to final result.

PRINCIPLE OF THE PROCEDURE

The Revogene 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 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, sample 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 chamber to the next in sequence. 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.

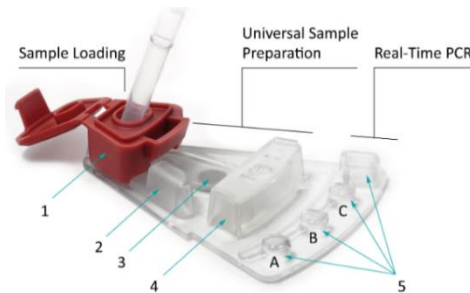


Figure 1. Top View of PIE.
1: Sample Loading Chamber, 2: Overflow Chamber,
3: Homogenization Chamber Containing PrC, 4: Dilution/Lysis Chamber,
5: Three (3) PCR Wells (A to C from left to right) and one (1) Waste Chamber (at the right end).

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 42 minutes for strongly positive samples. For negative samples, the time to result is approximately 70 minutes.

REAGENTS AND MATERIALS PROVIDED

Revogene Strep A kit containing sufficient reagents and materials to process 24 samples. The kit contains the following materials:

1. **24 Strep A Sample Buffer Tubes (SBT):** Tube containing Tris-HCl pH 8.0/EDTA Na₂ (TE 1X) buffered solution 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) Strep A Microfluidic cartridge (PIE):** Integrated device, composed of dried reagents allowing sample preparation and real-time PCR steps for PrC DNA, GAS DNA amplification and detection. Each PIE contains PrC, PrC: specific primers and Taqman® chemistry-based probe, GAS gene-specific primers and Taqman® chemistry-based probes, dNTPs, buffer and DNA polymerase.

MATERIALS/EQUIPMENTS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Revogene® (cat# 610210)
2. Disposable powderless gloves
3. Rayon or polyester swabs with Liquid Stuart or Liquid Amies transport media compatible with throat specimen collection (Copan cat. # 139C, 138C, 140C and 141C; BD cat # 220146 and 220149).
4. Vortex mixer with a maximal speed of at least 3200 rpm
5. Gauzes
6. MOCK PIEs (cat# 610208; optional)
7. Sample Rack (cat# 132539; optional)

WARNING AND PRECAUTIONS

1. The Revogene Strep A 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 Strep A 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 DTT and Strep A PIE are used to process one (1) sample. Do not reuse DTT or PIE.
6. Do not use swab with gel's transport media.
7. Always handle samples as if they are infectious and in accordance with Good Laboratory Practices such as those described in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁶ and in CLSI Document M29-A4⁷.
8. Wear disposable powderless gloves while handling samples and thoroughly wash hands afterwards.
9. The Strep A PIE contains dried reagents. The protective pouch should not be opened until ready to perform the test.
10. Dispose of unused materials, reagents and waste in accordance with country, federal, provincial, state and local regulations.
11. Do not open or break apart the PIE after use to avoid contamination with amplification products and/or infectious particles.
12. Do not use a PIE that has been dropped, shaken or inverted after the sample has been loaded as this may cause invalid results.
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. Place MOCK PIEs or new assay PIEs loaded with Sample Buffer in empty positions if less than eight samples are tested.

HAZARD AND PRECAUTIONARY STATEMENTS

There are no known hazards associated with this product.

STORAGE AND STABILITY

1. Throat swab specimens should be stored between 2 C and 25 C during transport.
2. Throat swab specimens can be stored at 25 C for up to two (2) days, or at 2-8 C for up to seven (7) days.
3. Inoculated SBT can be stored at 25 C for up to three (3) days, or at 2-8 C for up to seven (7) days.
4. Store the Revogene Strep A kit at 2-25 C. The expiration date is indicated on the kit box label.
5. Do not open a pouch until ready to perform testing. Use the PIE within one (1) hour after opening the pouch.

INSTRUCTION FOR USE

SPECIMEN COLLECTION AND TRANSPORT

Specimen type: Throat swab from patients with signs and symptoms of pharyngitis collected using rayon or polyester swab with Liquid Stuart or Liquid Amies transport media.

1. Swab the posterior pharynx, tonsils and other inflamed areas following standard clinical methods and secure the swab in its transport sheath.
2. Label the transport sheath with the specimen or patient identification (ID) and send to the laboratory for testing (refer to **Storage and Stability** section).

SBT PREPARATION

NOTE 1 : Make sure only one (1) SBT is open at any given moment and remove only one (1) swab from its transport sheath at a time.

Step 1

- a. Remove the appropriate number of pouches from the box.

Step 2

- a. For each specimen to be tested, obtain one SBT from the kit box.

NOTE : Unseal the pouch only when ready to load the PIE. Start the test within one (1) hour after opening the pouch containing the PIE.

Step 3

- a. Identify (or label) the SBT with the appropriate specimen identification without obscuring or writing over the barcode.
- b. Place the SBT on the Sample Rack, if used.

Step 4

- a. Unscrew the SBT cap.
- b. Remove the swab from its transport sheath and transfer it in the SBT.
- c. Break the exceeding part of the swab stem (**Figure 2**):
 - Hold the stem with a gauze.
 - Lift the stem a few millimeters (mm) from the bottom of the tube.
 - Bend the stem against the edge of the tube to break it.
 - Alternatively, use clean scissors to cut the stem. Disinfect scissors between each sample.
 - Dispose of the swab sheath and stem according to your institution's standard practices.
 - Close the SBT cap tightly.
- d. Repeat step 4 for each sample to be tested.

NOTE : A new gauze must be used for each sample to avoid cross-contamination between samples and aerosols.

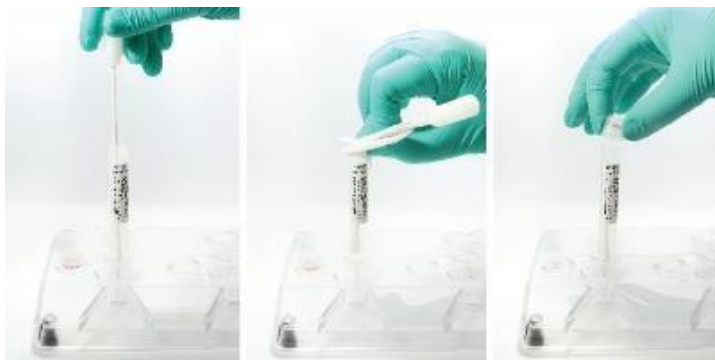


Figure 2: Break the Swab in the SBT



Once broken, the swab stem should be shorter than the rim of the SBT to adequately discharge the sample in the SBT. The SBT cap should close without hindrance from the swab stem.

PIE PREPARATION

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

NOTE 2 : Manipulate the DTT only by the bulb to avoid contamination of sample.

Step 5

- a. Mix the SBT for a minimum of 15 seconds at maximal speed (> 3200 rpm) using a vortex mixer.

Step 6

- a. Unseal the PIE pouch and remove the PIE.
- b. Place the Strep A PIE on the Sample Rack, if used or on a flat surface.

NOTE: Hold the PIE by the dilution chamber or by its sides to avoid smearing on PCR wells.

Step 7

- a. Obtain one DTT from the kit box and aspirate the inoculated Sample Buffer (SB) by squeezing the entire bulb, placing the pipette tip into the sample buffer and slowly releasing the pressure on the bulb. The liquid should rise between the two (2) marks on the DTT. (**Figure 3**). If the liquid level is not between the two (2) marks, discharge completely the SB in the SBT and repeat step B.

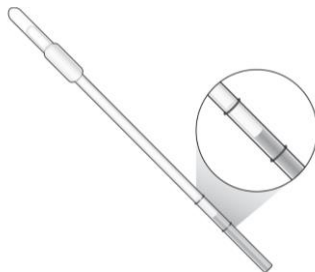


Figure 3. Representation of an appropriate Sample Buffer (SB) level using the Disposable Transfer Tool (DTT)

NOTE: Do not aspirate bubbles.

- b. Discharge completely the SB volume contained in the DTT into the Sample Loading Chamber of the PIE by squeezing the DTT bulb (**Figure 3**). Make sure not to touch the outer edges or the bottom of the Sample Loading Chamber with the DTT.
- c. Dispose of the DTT according to your institution's standard practices. Do not reuse DTT.
- d. Close the cap of the PIE tightly.
- e. Close the SBT cap tightly.
- f. Repeat steps 5 to 7 for any additional prepared SBT then proceed to step 8.

NOTE : Be cautious when manipulating a loaded PIE. Do not invert, shake or drop. Should it happen, discard and prepare a new PIE starting from step 5.

REVOGENE OPERATION

NOTE 1: Refer to the Revogene Operator's Manual[®] for further information regarding Revogene operation.

Step 8

- Log in by entering <Username> and <Password> and tap <Login> (Figure 4).
- Tap <Setup Run> on the main menu (it will automatically unlock the lid if it is closed) (Figure 5).
- Open the lid and remove the retention ring.

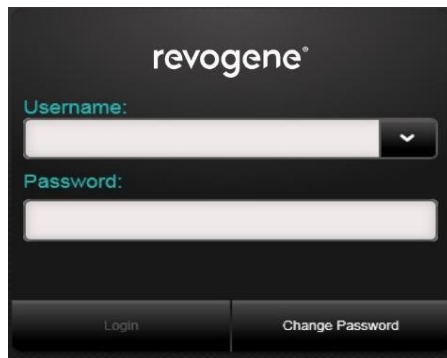


Figure 4. Login Screen



Figure 5. Main Menu Display (Hand on Setup Run Icon)

Step 9

- Enter the **Sample ID** using the barcode scanner or the on-screen keyboard:
 - To scan the SBT, hold it vertically in front of the scanner.
 - To use the on-screen keyboard, tap on the pencil icon. Manually entered Sample ID will need to be confirmed by entering it a second time.
- Scan the **SBT barcode** and the **PIE barcode**, holding the PIE vertically with the cap at the top (Figure 6).



Figure 6. Scanning PIE

NOTE: Do not invert, shake or drop the loaded PIE. Should it happen, discard and prepare a new PIE starting from step 5.

- (Optional) Tap the **pencil** icon of the <Patient ID> line and type the patient ID using the on-screen keyboard.
- (Optional) Tap the **pencil** icon of the <Add Comments> line and type a comment using the on-screen keyboard.
- Insert the PIE into the Revogene carousel while holding it by its sides or by the dilution chamber (Figure 7).
 - Any of the eight (8) positions of the carousel can be used. The software will automatically associate sample and SBT to the correct PIE.
- Tap <ok> on the <insert PIE into the instrument> line to confirm that the PIE is inserted.
- Repeat step 9 for all loaded PIE.



Figure 7. Inserting PIE

- Step 10**
- a. Tap **<Next>**.
 - b. If less than eight (8) PIEs are being tested, load MOCK PIEs in the carousel remaining positions (MOCK PIEs do not need to be scanned) (**Figure 8**). If MOCK PIEs are not available, use new assay PIEs filled with uninoculated SB (BLANK).
 - c. Tap the **Confirm checkbox**.
 - d. Scan the retention ring and place it on the carousel (**Figure 9**).
 - e. Close the instrument lid.
 - f. Tap **<Start>** to initiate the test (**Figure 10**).
 - A timer on the screen and lights on the Revogene lid will show the progression of the test.
 - g. Store the inoculated SBT in appropriate conditions (refer to **Storage and Stability** section) for further repeat testing, if needed.

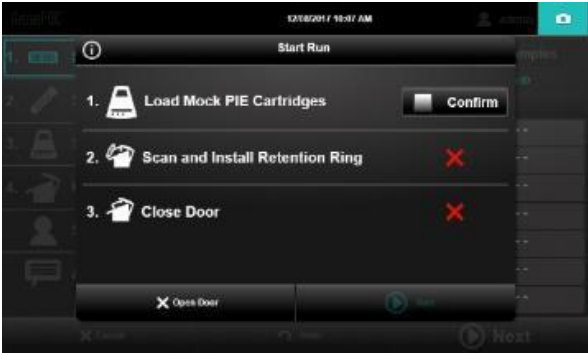


Figure 8. Adding MOCK PIE



Figure 9. Placing Retention Ring

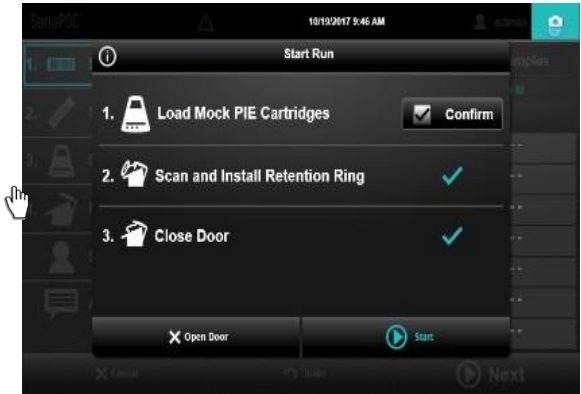


Figure 10. Confirm Run Start

VIEWING AND EXPORTING RESULTS

Step 11 - During the run

a. If the lights indicating run progression 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 number of Positive results available at this time (**Figure 11**). The number will increase if additional positive results become available.



Figure 11. E-PRO icon

b. Enter <Username> and <Password> and tap <Login> if the user's session has logged-out.

c. Tap the **E-PRO** icon.

d. Results from the current run are automatically listed on the screen (**Figure 12**). 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.

e. Tap on a positive result symbol to open the interim report.

f. (Optional) Tap <Export> and save the interim report where appropriate (e.g. USB key or connectivity option).

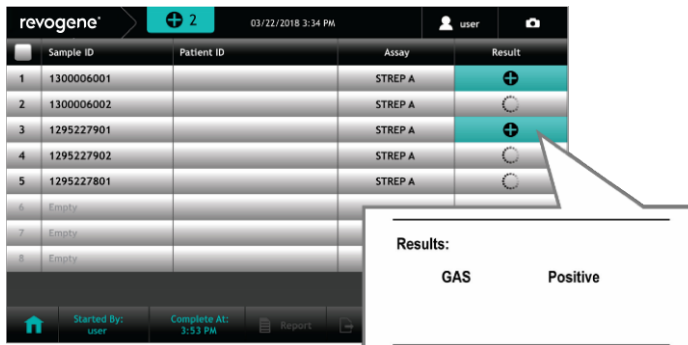


Figure 12. In progress Results Display

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.

Step 12 - At the End of the Run

a. Once the run is completed, the lid opens automatically.

b. Enter <Username> and <Password> and tap <Login> if the user's session has logged-out.

c. Tap **Results** icon (**Figure 13**).

d. Results from the last run are automatically listed on the screen.

e. Select samples for which results report(s) has (have) to be exported:

- All samples can be selected simultaneously by checking the box on the upper left corner of the screen.

f. Tap <Export> and save the final assay result report where appropriate (e.g. USB key or via connectivity option) (**Figure 14**).

g. Alternatively:

- Tap <Search> to find a specific sample and its result.



Figure 13. Main Menu Display (Hand on Results Icon)

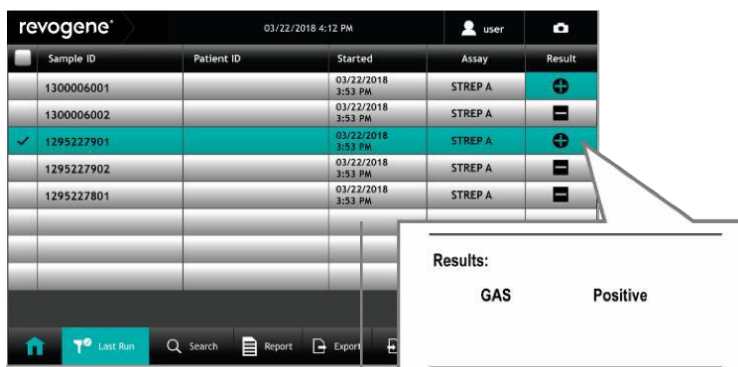


Figure 14. Final Results Display

Step 13

- a. Remove the retention ring.
- b. Remove the PIEs from the Revogene:
 - Dispose of the PIEs according to your institution's standard practices.

NOTE : Do not discard MOCK PIEs as they can be reused. Clean and decontaminate MOCK PIE according to the MOCK PIE Package Insert.

REPEAT TESTING PROCEDURE**UNRESOLVED OR INDETERMINATE RESULT FOR A SPECIMEN**

When an Unresolved (UNR) or 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.

Use the corresponding inoculated SBT to load a new PIE from the same kit lot. Follow the **PIE Preparation** section from step 5, then follow the **Revogene Operation** section.

UNRESOLVED OR INDETERMINATE RESULT FOR AN EXTERNAL CONTROL

When an Unresolved (UNR) or Indeterminate (IND) result is obtained for an External Control, the run is invalid. A repeat test must be performed for both the Positive and Negative External controls from the corresponding inoculated SBT within the specified timeframe described in the **Storage and Stability** section. Specimens included in the run must be repeated using the corresponding inoculated SBT. Only one (1) repeat testing from the SBT is allowed.

Use the corresponding inoculated SBT to load a new PIE from the same kit lot. Follow the **PIE Preparation** section from step 5, then follow the **Revogene Operation** section.

FALSE NEGATIVE OR FALSE POSITIVE RESULT FOR AN EXTERNAL CONTROL

When a False Negative or a False Positive result is obtained for an External Control, the run is invalid. Both controls must be repeated using a new set of External Controls.

In addition, a repeat testing must be performed for all samples included in the run, using the corresponding inoculated SBT within the specified timeframe described in the **Storage and Stability** section with a new set of External Controls. Only one (1) repeat testing from the SBT is allowed.

Refer to the **Quality Control** section for preparation of a new set of External controls.

Using a new pouch, follow the **PIE Preparation** section from step 5, 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 Strep A PIE contains a Process Control (PrC) that verifies for sample homogenization, sample 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 practices recommend the use of control materials. User 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 Strep A 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.

Positive External Controls

- A cell suspension of a *Streptococcus pyogenes* strain, from commercially available strain (e.g. ATCC® 12344™), prepared at 0.5 ± 0.05 McFarland diluted 1/100 in saline (e.g., BD BBL™ Prepared Saline Solution, cat# 221819) is recommended as a Positive External Control.

Negative External Control

- A cell suspension of a *Streptococcus salivarius* strain, from commercially available strain (e.g. ATCC® 13419™), prepared at 0.5 ± 0.05 McFarland in saline (e.g., BD BBL™ Prepared Saline Solution, cat# 221819) is recommended for use as a Negative External Control.

1. Process and test External Control preparations according to the **Instruction for Use** section.
2. At step 4, remove an unused, compatible swab from its transport sheath and quickly dip it in the Positive or Negative External Control suspension (ensure to completely submerge the swab's tip in the liquid).
3. Transfer the swab in the SBT.
4. Continue with the instructions in the **Instruction for Use** section at step 4-C.

RESULTS INTERPRETATION

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

Sample	Symbol displayed on user screen	Reported Target Result	Interpretation
Patient Specimen		Positive	GAS target DNA detected.
		Negative	GAS target DNA not detected.
		Unresolved	Amplification/detection failure of the Process Control as well as for the GAS 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	A Positive External Control that yields a negative result is indicative of a sample handling/preparation problem. The run is invalid. Review the sample handling/preparation technique.
		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	A Negative External Control that yields a positive test result is indicative of a specimen handling and/or contamination event. The run is invalid. Review the specimen handling technique.
		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

- The Revogene Strep A assay does not differentiate asymptomatic carriers of Group A *Streptococcus* from those exhibiting streptococcal infection.
- Additional follow-up testing using the culture method is required if the result is negative and clinical symptoms persist, or in the event of an acute rheumatic fever (ARF) outbreak.
- The Revogene Strep A assay must only be used with the Revogene by trained personnel.
- The Revogene Strep A assay does not provide susceptibility results. Culture isolates are needed for performing susceptibility testing.
- Clinical performance characteristics of the Revogene Strep A assay were established only with throat swab specimens collected with rayon swabs in Liquid Stuart or Liquid Amies transport media (Copan cat. # 138C and 139C). In addition, throat swab specimens collected with rayon or polyester swabs in Liquid Stuart or Liquid Amies transport media were evaluated analytically (Copan cat. # 140C and 141C; BD cat # 220146 and 220149). Use of BD CultureSwab™ MaxV rayon swab in Liquid Amies transport media is not recommended with the Revogene Strep A assay (BD cat.# 220232). Use of the Revogene Strep A assay with clinical specimen in collection/transport systems other than those specified has not been evaluated and performance characteristics are not established.
- Results from the Revogene Strep A assay should be used as an adjunct to clinical observations and other information available to the physician.
- Assay results may be affected by concurrent antimicrobial therapy as GAS DNA may continue to be detected.
- A positive assay result does not necessarily indicate the presence of viable organisms. It is, however, indicative for the presence of GAS DNA.
- Erroneous assay results may occur from improper specimen collection, handling or storage, technical error, sample mix-up, or because the sample does not contain a sufficient bacterial DNA load for detection by the assay.
- Careful compliance to the instructions of this insert, the Revogene Operator's Manual and to established guidelines is necessary to avoid erroneous results.
- Contamination or false negative results may occur if a PIE cap is incorrectly closed or if a droplet has been dropped on the edges of the Sample loading Chamber.
- Mutations or polymorphisms in primer- or probe-binding regions may affect detection of *S. pyogenes* gene variants, resulting in a false negative result with the Revogene Strep A assay.
- Analgesic / Antipyretic (e.g. Tylenol®), Nonsteroidal anti-inflammatory drug (Advil®), Bronchodilator (e.g. Albuterol sulfate) or Mucin may potentially interfere with the Revogene Strep A assay when either of these substances is present in Sample Buffer at a concentration of > 0.4% (w/v).
- Nonsteroidal anti-inflammatory drug (Aspirin®) or Whole Blood may potentially interfere with the Revogene Strep A assay when either of these substances is present in Sample Buffer at a concentration of > 0.1% (w/v or v/v).
- A combinatory effect of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius* and *Moraxella catarrhalis*, at $\geq 10^5$ CFU/mL of Sample Buffer or the presence of *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae*, at $\geq 10^5$ CFU/mL of Sample Buffer, may have an inhibitory effect on the detection of *S. pyogenes*.

EXPECTED VALUES

In a prospective clinical trial, a total of 767 throat swab specimens were collected at seven (7) geographically diverse sites across the United States and Canada from February to July 2018. Of the 604 specimens meeting all inclusion criteria without meeting any of the exclusion criteria, 154 were positive based on the Reference Method for an observed prevalence of 25.5% [154/604; 95%CI 22.2% - 29.1%]. The percentage of positive results observed with the Revogene Strep A assay in the study population was 29.0% [175/604; 95%CI 25.5% - 32.7%].

CLINICAL PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance of the Revogene Strep A assay was established in a prospective clinical trial conducted at eight (8) geographically diverse sites (seven (7) collecting sites and one (1) reference center) across the United States and Canada from February to July 2018.

Dual throat swab specimens were collected from patients with signs and symptoms of pharyngitis with the exception of patients under antibiotherapy that can affect the viability of the *Streptococcus* genus. One (1) swab was tested with the Revogene Strep A assay at one (1) of the seven (7) clinical sites while the second swab was sent to one (1) central laboratory per country (one (1) in Canada and one (1) in the United States) for Reference Method testing. Upon arrival at the central laboratory for Reference Method testing, a Blood Agar Plate (BAP) was inoculated with the second swab of the dual throat swab samples. Following incubation, colonies morphologically resembling *S. pyogenes* were isolated on a new BAP. Isolates were further characterized and identified by catalase test, Gram stain, Latex agglutination and MALDI-TOF.

The sensitivity, specificity, Positive Predictive Value (PPV) and Negative Predictive Value (NPV) values were calculated by comparing Revogene Strep A assay results with the Reference Method. Discrepant analysis was performed on specimens with discrepant results between the Revogene Strep A assay and Reference Method, using an alternative PCR for the amplification and detection of *S. pyogenes* followed by bi-directional sequencing of the amplified product.

RESULTS

Out of the 767 enrolled specimens, 163 specimens were excluded: three (3) failed to comply with the Revogene testing procedures, 13 exceeded the delay in shipment, 23 did not meet inclusion criteria, 27 did not have complete testing results, and 97 failed to comply with the reference culture protocol.

A total of 604 specimens were used to establish the performance of the Revogene Strep A assay in comparison with bacterial culture. The study population demographics are presented in **Table 1**.

Table 1. Study Population Demographics

Age group	All Subjects (N = 604)
> 24 months old – 12 years old	278 (46.03%)
13 – 21 years old	80 (13.25%)
22 – 64 years old	235 (38.91%)
≥ 65 years old	11 (1.82%)
Ethnicity	
White	186 (30.79%)
Black or African American	231 (38.25%)
Hispanic	97 (16.06%)
Asian	5 (0.83%)
Unknown	85 (14.07%)

COMPARISON WITH REFERENCE METHOD

The clinical performance of the Revogene Strep A assay compared to the Reference Method results is presented in **Table 2**.

The Revogene Strep A assay demonstrated 98.1% sensitivity (151/154; 95%CI: 94.4-99.3) and 94.7% specificity (426/450; 95%CI: 92.2-96.4) in comparison to the Reference Method.

Table 2. Overall Performance Characteristics of the Revogene Strep A Assay in Comparison to the Reference Method

Revogene Strep A	Reference Method		
	Positive	Negative	Total
	151	24 ^a	175
	3 ^b	426	429
	Total	450	604
Sensitivity	98.1% [95% CI: 94.4-99.3]		
Specificity	94.7% [95% CI: 92.2-96.4]		
Positive Predictive Value	86.3% [95% CI: 80.4-90.6]		
Negative Predictive Value	99.3% [95% CI: 98.0-99.8]		

^a Results from alternative PCR with bi-directional sequencing: 17 of 24 were Strep A Positive; six (6) of 24 were Strep A Negative and one (1) was inconclusive.

^b Results from alternative PCR with bi-directional sequencing: one (1) of three (3) was Strep A Positive and two (2) were inconclusive.

The overall initial unresolved rate was 0.5% (3/610) and 0.2% (1/610) after repeat testing. The overall initial indeterminate rate was 1.1% (7/610) and 0.8% (5/610) after repeat testing. The overall initial non-reportable rate was 1.6% (10/610) and 1.0% (6/610) after repeat testing.

ANALYTICAL PERFORMANCE CHARACTERISTICS

ANALYTICAL SENSITIVITY

The analytical sensitivity (Limit of Detection or LoD) of the Revogene Strep A assay was determined using clinical throat swab specimen matrix (previously tested negative for *S. pyogenes*) spiked with various concentrations of *S. pyogenes* bacterial suspensions. Three (3) strains of *S. pyogenes* (ATCC® 12344™, ATCC® 19615™, ATCC® 700942™) were tested in 24 replicates per concentration. The LoD is defined as the lowest concentration at which 95% or more of all replicates tested positive.

In regard to the three (3) strains tested, the LoD of the Revogene Strep A assay ranged from 333 to 1333 CFU/mL of SB (**Table 3**). The preliminary LoD concentrations were confirmed by testing twenty (20) replicates of each strain.

Table 3. LoD of the Revogene Strep A Assay

<i>S. pyogenes</i> strain (ATCC® number)	LoD (CFU/mL of SB)
ATCC® 12344™	333
ATCC® 19615™	1000
ATCC® 700942™	1333

INCLUSIVITY

Inclusivity of the Revogene Strep A assay was determined for 12 strains of *S. pyogenes* representing six (6) different *emm* sequence types from diverse geographic origins. Nine (9) strains were tested from a quantitated cell culture in presence of *S. pyogenes*-negative throat matrix at a load of 999 CFU/mL of SB, corresponding to three (3) times the LoD value of ATCC® 12344™ strain. Nine (9) replicates per strain were tested using three (3) different Revogene Strep A kit lots. Eight (8) strains were detected with 100% positivity (in 9/9 replicates) by the Revogene Strep A assay at a load of 999 CFU/mL of SB. The *S. pyogenes* ATCC® 49399™ strain was detected with 100% positivity at a load of 1667 CFU/mL of SB. Strains tested are described in **Table 4**.

Table 4. *S. pyogenes* Strains Tested for Inclusivity with the Revogene Strep A assay

<i>S. pyogenes</i> strains	Lancefield grouping	<i>emm</i> type
ATCC® 12384™	A	3
ATCC® 49399™	A	N/A
CCUG 33409	A	N/A
CCUG 39158	A	N/A
CCUG 53553	A	N/A
ATCC® 700952™	A	92
ATCC® 700294™	A	1
ATCC® 12357™	A	18
CCUG 65322	A	N/A
ATCC® 19615™ ¹	A	80
ATCC® 12344™ ¹	A	1
ATCC® 700942™ ¹	A	82

¹ Strains used for the LoD determination and therefore not retested

In addition, an *in silico* analysis was performed on August 8th, 2018 to assess inclusivity of the primers and probe of the Revogene Strep A assay target regarding 123 *S. pyogenes* strains listed in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database. This include sequences of *S. pyogenes* strains of significant *emm* types included in candidate vaccines against Group A Streptococci⁹. The alignment results showed no mismatch with 122 sequences. One (1) variant presented a mismatch in the region corresponding to the *S. pyogenes* probe, however, this variant is considered detectable by the Revogene Strep A assay. The analysis predicted the detection of all these *S. pyogenes* strains.

CROSS-REACTIVITY

The cross-reactivity of the Revogene Strep A assay was assessed with high loads of organisms that are not targeted by the assay, or phylogenetically related to *S. pyogenes*, or found in clinical throat swab specimens. The study included 42 bacteria, one (1) yeast, six (6) viruses and human DNA (Table 5). Bacteria and yeast were tested at a load of 10⁶ CFU/mL of SB. Nucleic acids from viruses and human DNA were tested at a load of 10⁵ DNA or RNA copies/mL of SB. These organisms were tested using a quantitated cell culture or nucleic acid solution in presence of *S. pyogenes*-negative throat matrix. Each organism was tested in PCR triplicates.

Under the conditions of the study, all organisms and nucleic acids were found non-reactive with the Revogene Strep A assay.

The cross-reactivity with primers and probes of the Revogene Strep A assay was evaluated by an *in silico* analysis performed on sequences contained in the NCBI database on August 8th, 2018. No other target than *S. pyogenes* was found to have significant level of homology with the *S. pyogenes* primers and probe.

Table 5. List of Organisms Tested for Cross-Reactivity with the Revogene Strep A Assay

Bacteria	
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Streptococcus anginosus</i> subsp. <i>whileyi</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus canis</i>
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Streptococcus constellatus</i> subsp. <i>viborgensis</i>
<i>Haemophilus influenza</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i> *
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>
<i>Legionella jordanis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Legionella micdadei</i> (Tatlockia micdadei)	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Neisseria subflava</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Parvimonas micra</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus suis</i>
<i>Serratia marcescens</i>	<i>Veillonella parvula</i>
Yeast	
<i>Candida albicans</i>	
Viruses	
Adenovirus Type 1	Adenovirus type 11 (Slobitski)
Influenza B/Taiwan/2/62	Influenza A/Aichi/2/68/H3N2
Rhinovirus Type 17	Parainfluenza virus 4b
Human DNA	
Human DNA	

*Different ATCC strain

INTERFERING ORGANISMS

The potentially inhibitory effect of 30 non-target organisms that may be present in the normal flora of the throat, mouth and/or respiratory tract was assessed using organisms selected from the cross-reactivity study (Table 6). Each organism category (i.e. bacteria, yeast, viruses) was represented with special attention to include the most frequent causative agents of respiratory tract infections. Groups of one (1) to four (4) organisms were tested in triplicate with either 999 CFU/mL of SB containing *S. pyogenes* ATCC® 12344™ strain, 3000 CFU/mL of SB containing *S. pyogenes* ATCC® 19615™ strain, or *S. pyogenes*-negative samples in presence of *S. pyogenes*-negative throat matrix to assess their potential interference on detection of *S. pyogenes* or PrC. Each organism within a group was diluted to reach a load of 10⁶ CFU/mL of SB for bacteria and yeast, and 10⁵ copies/mL of SB for virus. The 30 organisms included in the study are presented in Table 6.

Table 6. List of Organisms Tested for Interference with the Revogene Strep A Assay

Group 1	
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>
<i>Haemophilus influenza</i>	<i>Bordetella pertussis</i>
Group 2	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Parvimonas micra</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
Group 3	
<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Streptococcus anginosus</i> subsp. <i>whileyi</i>
<i>Streptococcus constellatus</i> subsp. <i>viborgensis</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>
Group 4	
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>	
Group 5	
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>	
Group 6	
<i>Streptococcus gordonii</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>
Group 7	
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Group 8	
<i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Group 9	
Adenovirus Type 1	Influenza B/Taiwan/2/62
Rhinovirus Type 17	Influenza A/Aichi/2/68/H3N2

None of the 30 organisms present at 10⁶ CFU/mL of SB for bacteria and yeast and 10⁵ copies/mL of SB for viruses interfered with detection of PrC or with *S. pyogenes* strain ATCC® 19615™.

Organisms included in group 5 and group 7 showed a potentially inhibitory effect on detection of *S. pyogenes* strain ATCC® 12344™. Nevertheless, the *S. dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae* strain showed no interference at a load of 10⁵ CFU/mL of SB. When each organism from group 7 was tested individually at a load of 10⁵ CFU/mL of SB in presence of *S. pyogenes* strain ATCC® 12344™, no interference was observed.

INTERFERING SUBSTANCES

The potentially inhibitory effect of 16 exogenous and three (3) endogenous substances that may be present in a throat swab specimen was assessed using *S. pyogenes*-negative samples and *S. pyogenes* strains ATCC® 12344™ and ATCC® 19615™ containing samples at three (3) times the LoD (999 CFU/mL of SB and 3000 CFU/mL of SB, respectively) in presence of *S. pyogenes*-negative throat matrix. Substances were tested at their potentially highest concentration that could be found in a throat swab specimen. The results for the 19 substances are presented in **Table 7**.

Results demonstrated that Analgesic / Antipyretic (Tylenol®), Nonsteroidal anti-inflammatory drug (Aspirin®, Advil®), Bronchodilator (Albuterol sulfate), Whole Blood and Mucin showed a potentially inhibitory effect on the detection of PrC or *S. pyogenes* when any of these substances was present in SBT at a concentration of 4.3% (w/v or v/v). These substances showed no reportable interference with the Revogene Strep A assay when tested at 0.4% (w/v) for Tylenol®, Advil®, Albuterol sulfate and Mucin or at 0.1% (w/v) or 0.1% (v/v) for Aspirin® and Whole Blood, respectively.

Table 7. List of Exogenous and Endogenous Substances Tested with the Revogene Strep A Assay

Exogenous substances	
Substance (commercial name)	Concentration in SB without interference observed ¹
Analgesic/ Antipyretic (Tylenol®)	0.4 % (w/v)*
Nonsteroidal anti-inflammatory drug (Aspirin®)	0.1 % (w/v)*
Nonsteroidal anti-inflammatory drug (Advil®)	0.4 % (w/v)*
Bronchodilator (Albuterol sulfate)	0.4 % (w/v)*
Nasal decongestant (Zicam®)	4.3 % (w/v)
Cough lozenges (Halls Menthon-Lyptus)	4.3 % (w/v)
Cough lozenges (Cépacol® Extra Strength)	4.3 % (w/v)
Cough lozenges (Sucrets® Complete)	4.3 % (w/v)
Toothpaste (Crest® Pro-Health Advanced)	0.56 % (w/v)
Mouthwash (Crest® Scope® Classic)	4.3 % (v/v)
Mouthwash (Listerine® Ultraclean)	4.3 % (v/v)
Cough syrup (NyQuil™ Complete)	4.3 % (v/v)
Cough syrup (Dimetapp®)	4.3 % (v/v)
Cough syrup (Robitussin® Cough Control Extra Strength)	4.3 % (v/v)
Cough syrup (Robitussin Total® Cough, Cold & Flu Extra Strength Nighttime)	4.3 % (v/v)
Antihistamines (Benadryl® Allergy Elixir)	4.3 % (v/v)
Endogenous substances	
Substance	Concentration in SB without interference observed ¹
Human saliva	4.3 % (v/v)
Whole Blood	0.1 % (v/v)*
Mucin from bovine submaxillary glands	0.4 % (w/v)*

*w/v: Weight/Volume; v/v: Volume/Volume
*Concentrations above these numbers may cause interference (see limitations above)

CARRY-OVER AND CROSS-CONTAMINATION

The carry-over (between-run) and cross-contamination (within-run) were assessed using positive samples tested in presence of *S. pyogenes*-negative throat matrix. Positive samples were prepared with *S. pyogenes* ATCC® 12344™ strain at a final concentration of 10⁶ CFU/mL of SB. Negative samples were also tested in presence of *S. pyogenes*-negative throat matrix.

For the carry-over study, a total of ten (10) runs were performed by two (2) operators with the Revogene Strep A assay on one (1) Revogene. Four (4) high positive samples and four (4) negative samples were tested by alternating positive and negative samples in each run. For the cross-contamination study, a run of eight (8) replicates of high positive samples followed by a run of eight (8) replicates of negative samples were performed by two (2) operators, for a total of ten (10) runs on one (1) Revogene.

Absence of carry-over and cross-contamination was demonstrated.

REPRODUCIBILITY

Between-site reproducibility study was performed on three (3) sites, by two (2) operators per site, over five (5) distinct days using one (1) Revogene Strep A kit lot.

Between-lot reproducibility study was performed at one (1) site by two (2) operators, over 15 days using three (3) Revogene Strep A assay kit lots (five (5) days per kit lot). For each reproducibility study, a total of 120 replicates for negative samples and 90 replicates for each category of positive samples were tested in presence of *S. pyogenes*-negative throat matrix. Two (2) *S. pyogenes* strains were used for positive samples: ATCC® 12344™ and ATCC® 19615™.

Sample categories were described as follows:

- Low Positive (LP): *S. pyogenes* ATCC® 12344™ strain was tested at 650 CFU/mL of SB
- Moderate Positive (MP): *S. pyogenes* ATCC® 19615™ strain was tested at 3000 CFU/mL of SB
- Negative (NEG): samples without *S. pyogenes* strain

Results for each sample category tested during the between-site and the between-lot reproducibility studies are shown in **Tables 8 and 9** respectively. For the between-site reproducibility, the overall percent agreement for NEG, LP and MP was 100% (**Table 8**). For the between-lot reproducibility, the overall percent agreement for NEG, LP and MP was 100%, 97.8% and 100% respectively (**Table 9**). Overall mean Cycle Threshold (Ct) values with variance components (SD and %CV) are shown in **Tables 8 and 9**.

Table 8. Between-Site Reproducibility Study Results using One (1) Revogene Strep A Assay Kit Lot

Category	<i>S. pyogenes</i> strain (ATCC® number)	Site 1		Site 2		Site 3		Overall Results/ Total	Overall Percent Agreement ¹	Overall 95% CI	Ct Values ²		
		Results/ Total	Percent Agreement	Results/ Total	Percent Agreement	Results/ Total	Percent Agreement				Overall Mean	SD	%CV
LP	ATCC® 12344™	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	96.7%-100%	36.97	1.88	5.10
MP	ATCC® 19615™	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	96.7%-100%	34.98	0.75	2.15
NEG	N/A	40/40	100%	40/40	100%	40/40	100%	120/120	100%	97.5%-100%	28.52	0.69	2.42

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

Table 9. Between-Lot Reproducibility Study Results on One (1) Site using Three (3) Revogene Strep A Assay Kit Lots

Category	<i>S. pyogenes</i> strain (ATCC® number)	Lot 1		Lot 2		Lot 3		Overall Results/ Total	Overall Percent Agreement ¹	Overall 95% CI	Ct Values ²		
		Results/ Total	Percent Agreement	Results/ Total	Percent Agreement	Results/ Total	Percent Agreement				Overall Mean	SD	%CV
LP	ATCC® 12344™	30/30	100%	29/30	96.6%	29/30	96.7%	88/90	97.8%	92.2%-99.7%	37.85	2.30	6.08
MP	ATCC® 19615™	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	96.7%-100%	35.49	1.61	4.53
NEG	N/A	40/40	100%	40/40	100%	40/40	100%	120/120	100%	97.5%-100%	28.55	0.74	2.61

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

PRECISION

Precision study was performed on one (1) site, by two (2) operators, over 20 days using one (1) Revogene Strep A assay kit lot. For each sample category, two (2) runs per day with two (2) replicates per run were performed for a total of 80 replicates.

For each category, all samples were tested in presence of *S. pyogenes*-negative throat matrix. Two (2) *S. pyogenes* strains were used for positive samples: ATCC® 12344™ and ATCC® 19615™.

Sample categories were described as follows:

- Low Positive (LP): ATCC® 12344™ strain was tested at 650 CFU/mL of SB
- Moderate Positive (MP): ATCC® 19615™ strain was tested at 3000 CFU/mL of SB
- Negative (NEG): samples without *S. pyogenes* strain

Precision study results for NEG, LP and MP demonstrated 97.5%, 100% and 100% agreement, respectively (Table 10).

Table 10. Precision Study Percent Agreement on One (1) Site using One (1) Revogene Strep A Assay Kit Lot

Category	<i>S. pyogenes</i> strain ATCC® number	Overall Percent Agreement ¹	Overall 95% CI
LP	ATCC® 12344™	100%	96.3%-100%
MP	ATCC® 19615™	100%	96.3%-100%
NEG	N/A	97.5%	91.3%-99.7%

¹ For the NEG category, percent agreement was calculated for negative results.

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 numbers listed on the kit box.

revogene®

Strep A

Per l'uso con il Revogene®

REF 410400

IVD Per l'uso diagnostic *in vitro*



R_x Only

USO PREVISTO

La procedura analitica Revogene® Strep A, eseguita con lo strumento Revogene è un test diagnostico qualitativo *in vitro* automatizzato che utilizza la reazione a catena della polimerasi (PCR) in tempo reale per il rilevamento diretto degli acidi nucleici di *Streptococcus pyogenes* (*Streptococcus* β-emolitico del gruppo A) da tamponi faringei di pazienti che presentano segni e sintomi di faringite. La procedura analitica Revogene Strep A trova impiego come ausilio nella diagnosi di infezioni da *Streptococcus* del gruppo A.

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

Streptococcus pyogenes, o *Streptococcus* del gruppo A (GAS) è un cocco anaerobio facoltativo gram-positivo con disposizione a catena, responsabile di numerose infezioni nell'uomo, tra cui faringite, tonsillite, scarlattina, cellulite, erisipela, febbre reumatica, glomerulonefrite post-streptococcica, fascite necrotizzante, mionecrosi e linfangite.

Lo *Streptococcus* del gruppo A (GAS) rimane l'agente eziologico batterico più comune, responsabile del 15-30% dei casi di faringite acuta nei bambini e del 5-20% negli adulti.¹ Poiché i segni e sintomi della faringite da GAS sono ampiamente sovrapponibili a quelli di altre cause di infezione (mal di gola e febbre, spesso con esordio improvviso), risulta difficile giungere a una diagnosi esclusivamente sulla base dei riscontri clinici. Una diagnosi accurata è tuttavia indispensabile per intervenire tempestivamente e adeguatamente con terapia antibiotica ed evitare possibili complicazioni gravi, come febbre reumatica.

I metodi convenzionali di rilevamento dell'infezione da GAS utilizzano i test rapidi di rilevamento dell'antigene (RADT) o le colture di tamponi faringei, seguite da differenziazione in gruppi con il metodo di Lancefield con agglutinazione al lattice. Per quanto altamente specifica, la sensibilità dei RADT può essere anche solo del 31-50%², il che comporta la necessità di ricorrere a colture di backup.^{3,4} D'altro canto la coltura può richiedere anche 48 ore e ciò potrebbe ritardare un adeguato trattamento antibiotico.⁵ La procedura analitica Revogene Strep A è in grado di fornire risultati su 1-8 campioni in soli 42 minuti per campioni positivi e in circa 70 minuti per campioni negativi, senza la necessità di conferma colturale dei risultati negativi. Questa procedura riduce al minimo l'intervento dell'operatore, dal caricamento del campione nella cartuccia microfluidica monouso (PIE) fino al risultato finale.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Il Revogene automatizza l'omogeneizzazione e la diluizione dei campioni, la lisi cellulare, l'amplificazione del DNA e l'identificazione dei prodotti PCR amplificati. L'intervento dell'utente è richiesto solo per rilasciare il campione del paziente nella Sample Buffer Tube (SBT), trasferire il campione dalla SBT nella PIE e inserire le PIE nel carosello del Revogene.

Ogni PIE è un dispositivo chiuso completamente integrato in cui un campione viene distribuito e trattato attraverso vari canali e camere microfluidiche che consentono il trattamento del campione (ovvero, omogeneizzazione e diluizione del campione, lisi cellulare ed estrazione del DNA) e successive fasi di PCR in tempo reale (Figura 1). Il liquido di un singolo campione viene trasferito tramite centrifugazione da una camera alla successiva, in sequenza. Tutti i reagenti specifici per la reazione PCR sono incorporati ed essiccati all'interno del pozzetto PCR. In ogni PIE è incorporato un controllo di processo (PrC) per verificare le fasi di trattamento del campione e di amplificazione, inclusa la verifica di potenziali inibitori, nonché di malfunzionamento dei componenti microfluidici, dello strumento o insuccesso dei reagenti. I prodotti amplificati vengono individuati in tempo reale tramite sonde basate sulla chimica TaqMan® con target specifico. Non è necessario alcun intervento di operatori una volta caricata una PIE nel Revogene.

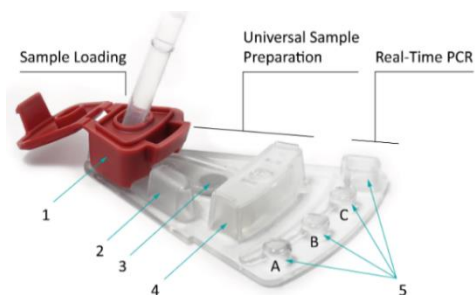


Figura 1. Vista dall'alto di una cartuccia PIE.

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).

Il Revogene è in grado di trattare da uno (1) a otto (8) campioni simultaneamente nella stessa analisi. Il carosello deve contenere otto (8) PIE per mantenere l'equilibrio termodinamico durante l'analisi. Durante e dopo il ciclo di analisi, i risultati vengono calcolati dal sistema in base ai segnali fluorescenti misurati e agli algoritmi di calcolo incorporati. I risultati che vengono visualizzati sul touchscreen possono essere stampati, trasferiti e archiviati dall'utente impiegando la porta USB o l'opzione di connettività.

Una funzione di Esito positivo precoce (E-PRO) fornisce un risultato positivo se il segnale dal DNA target raggiunge una soglia predeterminata anche prima che siano stati completati i cicli PCR. Con E-PRO è possibile ottenere un risultato positivo in circa 42 minuti, per campioni altamente positivi. Per generare i risultati di campioni negativi sono necessari circa 70 minuti.

REAGENTI E MATERIALI FORNITI

Il kit Revogene Strep A contiene una quantità sufficiente di reagenti e materiali per il trattamento di 24 campioni. Il kit contiene i seguenti materiali:

1. 24 **Sample Buffer Tube (SBT)**: provetta contenente soluzione tamponata Tris-HCl pH 8,0/EDTA Na₂ (TE 1X) come tampone di diluizione e conservazione per il campione.
2. 24 **Disposable Transfer Tool (DTT)**: pipetta di trasferimento monouso in plastica, con contrassegni di volume minimo e massimo per il trasferimento del campione dalla SBT alla PIE.
3. 24 buste singole contenenti una (1) **cartuccia microfluidica Strep A (PIE)**: dispositivo integrato contenente i reagenti essiccati che consentono la preparazione dei campioni e le fasi della procedura PCR in tempo reale per l'amplificazione e l'individuazione del DNA per PrC e del DNA del GAS. Ogni PIE contiene PrC, primer specifici per il PrC e sonda basata sulla chimica TaqMan®, primer con gene GAS specifico e sonde basate sulla chimica TaqMan®, dNTP, tampone e polimerasi di DNA.

MATERIALI/APPARECCHIATURE NECESSARI MA NON FORNITI

1. Revogene® (n. cat. 610210)
2. Guanti monouso senza polvere
3. Tamponi in rayon o poliestere con terreni di trasporto Liquid Stuart o Liquid Amies compatibili con la raccolta di campioni faringei (Copan n. cat. 139C, 138C, 140C e 141C; BD n. cat. 220146 e 220149).
4. Mixer Vortex con velocità massima di almeno 3200 giri/min
5. Garze
6. MOCK PIE (n. cat. 610208; opzionale)
7. Supporto per campioni (n. cat. 132539; opzionale)

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Il dosaggio Revogene Strep A può essere utilizzato solo nel Revogene.
2. Non utilizzare il kit se alla consegna l'etichetta che sigilla la confezione esterna non è integra.
3. Non utilizzare le PIE Strep A se alla consegna le buste protettive sono aperte o non integre.
4. Non abbinare DTT, SBT e PIE provenienti da diversi lotti di kit.
5. Ogni DTT e Strep A PIE monouso deve essere utilizzata per il trattamento di un (1) campione. Non riutilizzare DTT o PIE.
6. Non utilizzare i tamponi con terreni di trasporto in gel.
7. Maneggiare sempre i campioni come se fossero contagiosi e conformemente alle Buone pratiche di laboratorio, come quelle descritte nel documento Biosicurezza di laboratori biomedici e microbiologici⁶ e nel documento CLSI M29-A4⁷.
8. Indossare guanti senza polvere monouso quando si maneggiano campioni e lavarsi le mani accuratamente dopo la manipolazione.
9. La PIE Strep A contiene reagenti essiccati. La busta protettiva non deve essere aperta finché non si è pronti a eseguire il test.
10. Smaltire i materiali e i reagenti inutilizzati e i rifiuti conformemente alle normative nazionali, federali, provinciali, statali e locali.
11. Non aprire o disfare la PIE dopo l'uso per evitare la contaminazione con prodotti di amplificazione e/o particelle contagiose.
12. Non utilizzare una PIE che sia stata fatta cadere, agitata o capovolta dopo il caricamento del campione, poiché ciò potrebbe dare risultati non validi.
13. Non usare kit oltre la data di scadenza indicata.
14. Non refrigerare la PIE caricata.
15. Ogni ciclo di analisi deve essere eseguito con otto (8) PIE nel carosello del Revogene, per mantenere l'equilibrio termodinamico e meccanico durante l'analisi. Qualora si debba procedere a testare meno di otto campioni, inserire delle MOCK PIE o delle PIE per nuovi dosaggi caricate con soluzione tamponata nelle posizioni vuote.

DICHIARAZIONI DI PERICOLO E PRUDENZA

Per le nostre attuali conoscenze, non ci sono rischi associate a questo prodotto.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

1. Durante il trasporto i tamponi faringei devono essere conservati a una temperatura tra 2 C e 25 C.
2. I tamponi faringei possono essere conservati a 25 C per un massimo di due (2) giorni o a 2-8 C per un massimo di sette (7) giorni.
3. La SBT inoculata può essere conservata a 25 C per un massimo di tre (3) giorni o a 2-8 C per un massimo di sette (7) giorni.
4. Conservare il kit Revogene Strep A a 2-25 C. La data di scadenza è riportata sull'etichetta della confezione del kit.
5. Non aprire una busta finché non si è pronti a eseguire il test. Usare la PIE entro (1) un'ora dall'apertura della busta.

ISTRUZIONI PER L'USO

RACCOLTA E TRASPORTO DEI CAMPIONI

Tipo di campione: tampone faringeo di pazienti con segni e sintomi di faringite, prelevato mediante tampone in rayon o poliestere con terreni di trasporto Liquid Stuart o Liquid Amies.

1. Strofinare sulla faringe posteriore, le tonsille e altre aree aree infiammate secondo i metodi clinici standard, quindi richiudere il tampone nella provetta di trasporto.
2. Etichettare la provetta di trasporto con il codice del paziente o del campione e inviarlo al laboratorio per il test (consultare la sezione **Conservazione e stabilità**).

PREPARAZIONE DELLA SBT

NOTA 1: accertarsi di aprire una (1) sola SBT per volta e rimuovere un (1) solo tampone dalla provetta di trasporto per volta.

Fase 1

- a. Estrarre dalla scatola il numero necessario di buste.

Fase 2

- a. Per ogni campione da analizzare, prelevare una SBT dalla confezione del kit.

NOTA: aprire la busta solo quando si è pronti a caricare la PIE. Iniziare il test entro (1) un'ora dall'apertura della busta contenente la PIE.

Fase 3

- a. Identificare (o etichettare) la SBT con l'identificazione appropriata del campione senza nascondere o scrivere sul codice a barre.
- b. Collocare la SBT nel supporto per campioni Revogene, se utilizzato.

Fase 4

- a. Svitare il tappo della SBT.
- b. Rimuovere il tampone dalla provetta di trasporto e trasferirlo nella SBT.
- c. Spezzare la parte dello stelo del tampone in eccesso (**Figura 2**):
 - Reggere lo stelo con una garza.
 - Sollevare lo stelo di alcuni millimetri (mm) dal fondo della provetta.
 - Piegare lo stelo contro il bordo della provetta per spezzarlo.
 - Oppure, utilizzare delle forbici pulite per tagliare lo stelo. Disinfettare le forbici dopo ogni campione.
 - Smaltire la provetta di trasporto e lo stelo secondo la prassi standard dell'ospedale.
 - Chiudere saldamente il tappo della SBT.
- d. Ripetere la fase 4 per ogni campione da testare.

NOTA: usare una garza nuova per ogni campione, per evitare la contaminazione incrociata tra i campioni e gli aerosol.

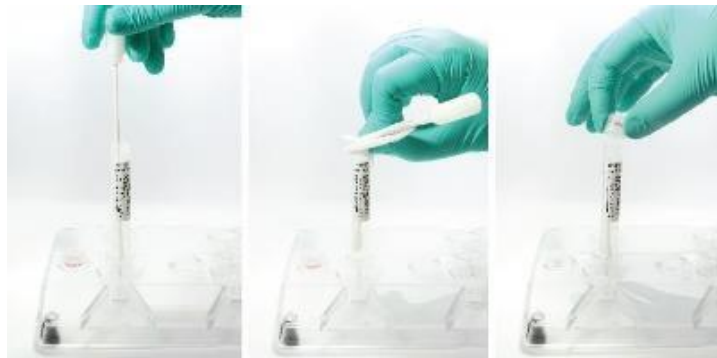


Figura 2. Rompere lo stelo del tampone nella SBT.



Una volta spezzato, lo stelo del tampone deve essere più basso del bordo della SBT, per consentire il rilascio del campione nella SBT. Lo stelo del tampone non deve intralciare la chiusura del tappo della SBT.

PREPARAZIONE DELLA PIE

NOTA 1: trattare un (1) campione alla volta.

NOTA 2: maneggiare la DTT solo dal bulbo per evitare di contaminare il campione.

Fase 5

- a. Agitare la SBT con il mixer Vortex per un minimo di 15 secondi a velocità massima (> 3200 giri/min):

Fase 6

- a. Aprire la busta della PIE ed estrarre la PIE.
- b. Collocare la Strep A PIE nel supporto per campioni Revogene, se utilizzato, oppure su una superficie piana.

NOTA: reggere la PIE per la camera di diluizione o per i lati, per evitare di strisciare sui pozzetti PCR.

Fase 7

- a. Estrarre un DTT dalla confezione del kit e aspirare l'SB (Sample Buffer) inoculato comprimendo l'intero bulbo, posizionando il puntale della pipetta nella soluzione tampone e rilasciando lentamente la pressione sul bulbo. Il liquido deve risalire tra i due (2) contrassegni sulla DTT: **(Figura 3)**. Se il livello del liquido non si trova tra i due (2) contrassegni, rilasciare completamente il liquido nella SBT e ripetere la fase B.

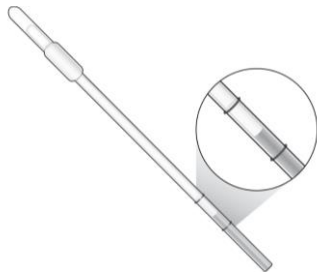


Figura 3. Raffigurazione di un livello corretto di SB (Sample Buffer) utilizzando il DTT (Disposable Transfer Tool)

NOTA: non aspirare bolle.

- b. Rilasciare completamente il volume di soluzione tampone contenuto nella DTT nella camera di caricamento della PIE spremendo il bulbo della DTT **(Figura 3)**. Evitare di toccare i bordi esterni o il fondo della camera di caricamento campione con la DTT.
- c. Smaltire la DTT secondo la prassi standard dell'ospedale. Non riutilizzare la DTT.
- d. Chiudere saldamente il tappo della PIE.
- e. Chiudere saldamente il tappo della SBT.
- f. Ripetere le fasi da 5 a 7 per qualsiasi SBT aggiuntiva preparata, quindi passare alla fase 8.

NOTA: prestare attenzione durante il maneggiamento della PIE. Non capovolgere, scuotere o lasciar cadere. In caso ciò accadesse, scartare la PIE e prepararne una nuova ricominciando dalla fase 5.

FUNZIONAMENTO DEL REVOGENE

NOTA 1: consultare il Manuale dell'utente⁸ del Revogene per ulteriori informazioni riguardanti il funzionamento dell'apparecchio.

Fase 8

- a. Accedere immettendo il <Nome utente> e la <Password> e toccare <Accesso> **(Figura 4)**.
- b. Toccare <Configura analisi> nel menu principale (così facendo si sblocca automaticamente il coperchio, se era chiuso) **(Figura 5)**.
- c. Aprire il coperchio e rimuovere l'anello di ritenuta.

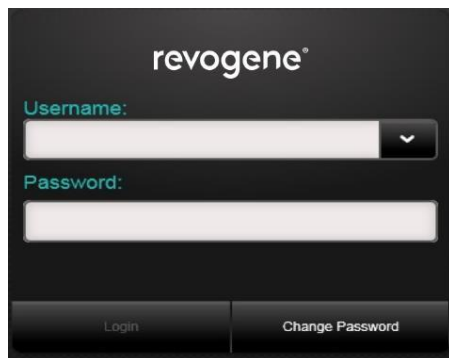


Figura 4. Schermata di accesso



Figura 5. Display del menu principale (cursore sull'icona Configura analisi)

Fase 9

- a. Immettere l'**ID campione** mediante il lettore per codici a barre o la tastiera sullo schermo:
 - per eseguire la scansione della SBT, tenerla verticalmente davanti al lettore.
 - Per immettere manualmente il codice con la tastiera, toccare l'icona della matita. Se si immette l'ID campione manualmente, sarà necessario confermarlo immettendolo una seconda volta.
- b. Eseguire la scansione del codice a barre della SBT e del codice a barre della PIE tenendo la PIE in posizione verticale con il tappo in alto (**Figura 6**).



Figura 6. Scansione della PIE

NOTA: non capovolgere, scuotere o lasciar cadere la PIE caricata. In caso ciò accadesse, scartare la PIE e prepararne una nuova ricominciando dalla fase 5.

- c. (Opzionale) Toccare l'icona **matita** della riga **<ID paziente>** e immettere l'ID del paziente tramite la tastiera sullo schermo.
- d. (Opzionale) Toccare l'icona **matita** della riga **<Aggiungi commenti>** e digitare un commento tramite la tastiera sullo schermo.
- e. Inserire la PIE nel carosello del Revogene tenendola per i lati o per la camera di diluizione (**Figura 7**).
 - Si può usare una qualsiasi delle otto (8) posizioni del carosello. Il software associa automaticamente il campione e la SBT alla PIE corretta.
- f. Toccare **<ok>** nella riga **<Inserire la PIE nello strumento>** per confermare l'avvenuto inserimento.
- g. Ripetere la fase 9 per tutte le PIE caricate.



Figura 7. Inserimento della PIE

Fase 10

- a. Toccare **<Avanti>**.
- b. Se si intende testare meno di otto (8) PIE, caricare delle **MOCK PIE** nelle posizioni restanti del carosello (le **MOCK PIE** non devono essere passate al lettore del codice a barre (**Figura 8**)). Se non vi sono **MOCK PIE** a disposizione, utilizzare **PIE** nuove riempite con **SB** non inoculata (**VUOTO**).
- c. Toccare il pulsante **Conferma**.
- d. Eseguire la scansione dell'anello di ritenuta e collocarlo sul carosello (**Figura 9**).
- e. Chiudere il coperchio dello strumento.
- f. Toccare **<Inizia>** per avviare il test (**Figura 10**).
 - Il timer sullo schermo e le spie sul coperchio del Revogene indicano la progressione del test.
- g. Conservare la SBT inoculata in condizioni adeguate (fare riferimento alla sezione **Conservazione e stabilità**) nel caso fosse necessario ripetere il test.

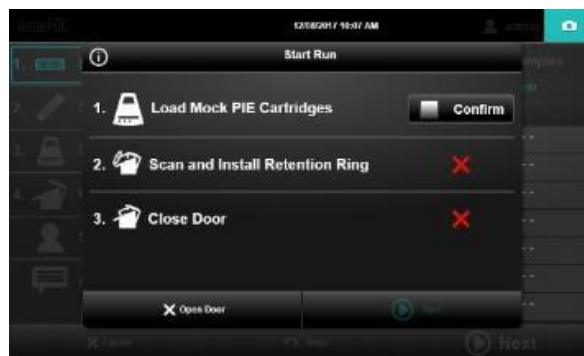


Figura 8. Aggiunta di **MOCK PIE**



Figura 9. Posizionamento dell'anello di ritenuta

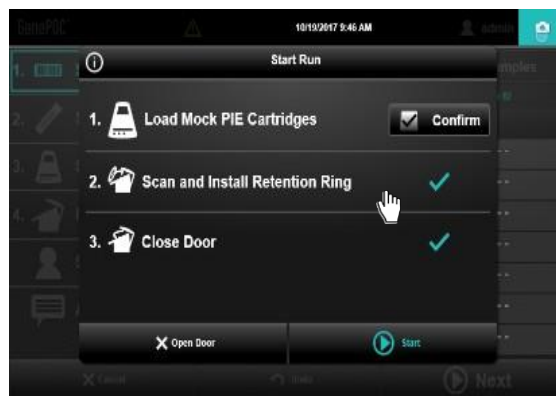


Figura 10. Conferma di avvio di un'analisi

VISUALIZZAZIONE ED ESPORTAZIONE DEI RISULTATI

Fase 11 - Durante l'analisi

- a. Se le spie che indicano la progressione dell'analisi sul coperchio del Revogene iniziano a lampeggiare, significa che l'apparecchio ha generato una notifica di Esito positivo precoce (E-PRO). Anche nella barra del titolo sullo schermo compare un'icona.

L'icona **E-PRO** contiene il simbolo "+" e un numero, che indica il numero di risultati positivi disponibili al momento (Figura 11). Tale numero aumenta se altri campioni risultano positivi.



Figura 11. Icona E-PRO.

- b. Se la sessione utente si è interrotta, immettere il <Nome utente> e la <Password>, quindi toccare <Accesso>.
- c. Toccare l'icona **E-PRO**.
- d. I risultati dell'analisi in corso vengono visualizzati automaticamente sullo schermo (Figura 12). Accanto a ogni riga del campione è presente un simbolo "Positivo" o un simbolo "In corso": quest'ultimo consiste in un'animazione in rotazione e viene visualizzato finché non si ottiene un risultato positivo oppure l'analisi è completata.
- e. Toccare su un simbolo di risultato positivo per aprire il resoconto provvisorio.
- f. (Opzionale) Toccare <Esporta> e salvare il resoconto provvisorio ove appropriato (per es., su chiavetta USB o tramite opzione di connettività).

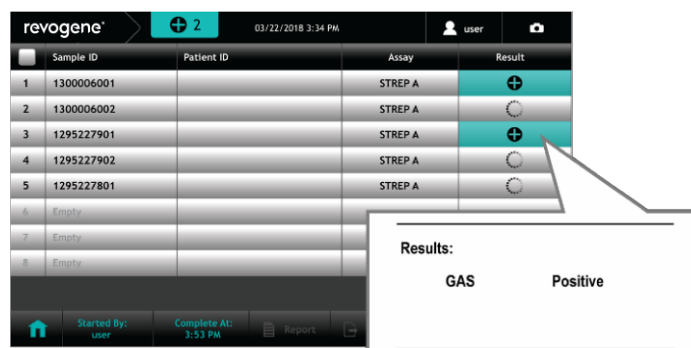


Figura 12. Finestra dei risultati in corso

Dopo aver consultato la schermata dei risultati, le notifiche di E-PRO scompaiono. Nuove notifiche di E-PRO compaiono nel caso vengano individuati altri risultati positivi precoci. I risultati dei campioni visualizzati nel resoconto provvisorio possono essere considerati finali e rimarranno invariati nel resoconto dei risultati finali della procedura.

Fase 12 - Conclusione dell'analisi

- Una volta completata l'analisi, il coperchio si apre automaticamente.
- Se la sessione utente si è interrotta, immettere il <Nome utente> e la <Password>, quindi toccare <Accesso>.
- Toccare l'icona **Risultati** (Figura 13).
- I risultati dell'ultima analisi eseguita vengono visualizzati automaticamente sullo schermo.
- Selezionare i campioni dei quali si desidera esportare il resoconto del risultato:
 - È possibile selezionare tutti i campioni in una volta spuntando la casella nell'angolo in alto a sinistra dello schermo.
- Toccare <Esporta> e salvare il resoconto dei risultati finali ove appropriato (per es., su chiavetta USB o tramite opzione di connettività) (Figura 14).
- Oppure:
 - Toccare <Ricerca> per cercare un campione specifico e i relativi risultati.



Figura 13. Display del menu principale (cursore sull'icona Risultati)

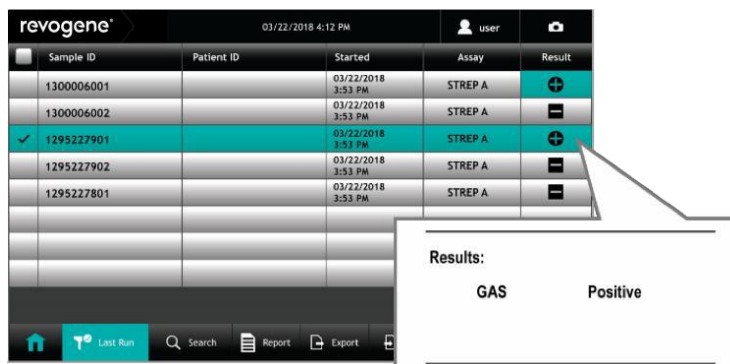


Figura 14. Finestra dei risultati finali

Fase 13

- Rimuovere l'anello di ritenuta.
- Rimuovere le PIE dal Revogene:
 - Smaltire le PIE secondo la prassi standard dell'ospedale.

NOTA: non scartare le MOCK PIE, perché potranno essere riutilizzate. Pulirle e decontaminarle seguendo le istruzioni del relativo foglietto illustrativo.

PROCEDURA DI RIPETIZIONE DEL TEST

RISULTATO IRRISOLTO O INDETERMINATO PER UN CAMPIONE

Quando un campione genera un risultato irrisolto (UNR) o indeterminato (IND), è necessario ripetere il test sulla SBT inoculata corrispondente entro il periodo di tempo specificato indicato nella sezione **Conservazione e stabilità**. È consentito ripetere solo un (1) test con la SBT.

Usare la SBT inoculata corrispondente per caricare una nuova PIE dello stesso lotto del kit. Seguire le istruzioni per la **Preparazione della PIE** della fase 5, quindi seguire le istruzioni della sezione **Funzionamento del Revogene**.

RISULTATO IRRISOLTO O INDETERMINATO PER UN CONTROLLO ESTERNO

Quando un controllo esterno genera un risultato irrisolto (UNR) o indeterminato (IND), l'analisi non è valida. È necessario ripetere il test con entrambi i controlli esterni positivo e negativo sulla SBT inoculata corrispondente entro il periodo di tempo specificato indicato nella sezione **Conservazione e stabilità**. I campioni inclusi nell'analisi devono essere ripetuti con la SBT inoculata corrispondente. È consentito ripetere solo un (1) test con la SBT.

Usare la SBT inoculata corrispondente per caricare una nuova PIE dello stesso lotto del kit. Seguire le istruzioni per la **Preparazione della PIE** della fase 5, quindi seguire le istruzioni della sezione **Funzionamento del Revogene**.

RISULTATO FALSO NEGATIVO O FALSO POSITIVO PER UN CONTROLLO ESTERNO

Quando un controllo esterno genera un risultato falso negativo o falso positivo, l'analisi non è valida. È necessario ripetere entrambi i controlli con un nuovo set di controlli esterni.

Inoltre è necessario ripetere il test di tutti i campioni inclusi nell'analisi, usando la SBT inoculata corrispondente, entro il periodo di tempo specificato indicato nella sezione **Conservazione e stabilità** con un nuovo set di controlli esterni. È consentito ripetere solo un (1) test con la SBT.

Fare riferimento alla sezione **Controllo di qualità** per la preparazione di un nuovo set di controlli esterni.

Usando una nuova busta, seguire le istruzioni per la **Preparazione della PIE** dalla fase 5, quindi seguire le istruzioni della sezione **Funzionamento del Revogene**.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le procedure del controllo di qualità monitorano l'accuratezza e la precisione del processo analitico. Ogni laboratorio deve stabilire la quantità, il tipo e la frequenza dei materiali di controllo per i test in base alle normative applicabili o alle direttive degli enti di accreditamento. La procedura descritta di seguito può essere utilizzata, se pertinente, in base alle regole e alle procedure locali.

CONTROLLO DEL PROCESSO

Ogni PIE di Strep A contiene un controllo di processo (PrC) che verifica l'omogeneizzazione e la diluizione dei campioni, la lisi cellulare, l'inibizione dell'amplificazione del DNA e l'insuccesso dei reagenti della procedura analitica.

CONTROLLI ESTERNI
NOTA 1: utilizzare DTT, SBT e PIE separate per la preparazione di ogni controllo esterno.

- La buona pratica di laboratorio consiglia l'utilizzo di materiali di controllo. L'utente deve attenersi alle linee guida appropriate che riguardano l'esecuzione di controlli esterni. Si consiglia l'esecuzione di un (1) Controllo esterno positivo e di un (1) Controllo esterno negativo almeno quotidianamente, finché non viene raggiunta un'adeguata convalida della procedura analitica Revogene Strep A sul Revogene in ogni ambiente di laboratorio.
- I materiali di controllo esterno non sono forniti da Meridian Bioscience, Inc. I controlli esterni non vengono utilizzati dal software del Revogene per l'interpretazione dei risultati dei test dei campioni. I controlli esterni vengono trattati come se fossero campioni.
- Prima di redigere i rapporti di risultati positivi precoci, verificare di disporre dei risultati di controlli esterni negativi e positivi validi.

Controlli esterni positivi

- Si consiglia di utilizzare come controllo esterno positivo una sospensione cellulare di un ceppo di *Streptococcus pyogenes* da materiale di controllo disponibile in commercio (per es., ATCC® 12344™) preparato a 0,5 ± 0,05 McFarland in soluzione fisiologica diluita 1/100 (per es., soluzione fisiologica preparata BD BBL™, n. cat. 221819).

Controllo esterno negativo

- Si consiglia di utilizzare come controllo esterno negativo una sospensione cellulare di un ceppo di *Streptococcus salivarius* da materiale di controllo disponibile in commercio (per es., ATCC® 13419™) preparato a 0,5 ± 0,05 McFarland in soluzione fisiologica (per es., soluzione fisiologica preparata BD BBL™, n. cat. 221819).

- Trattare e testare le preparazioni di controllo esterne secondo le istruzioni della sezione **Istruzioni per l'uso**.
- Nella fase 4, rimuovere un tampone compatibile non utilizzato dalla sua provetta di trasporto e immergerlo rapidamente nella sospensione del controllo esterno positivo o negativo (accertarsi di immergere completamente la punta del tampone nel liquido).
- Trasferire lo stelo nella SBT.
- Continuare come da istruzioni della sezione **Istruzioni per l'uso**, fase 4-C.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati vengono calcolati dal Revogene in base ai segnali fluorescenti misurati e agli algoritmi di calcolo incorporati e sono disponibili nella finestra "Risultati". I possibili risultati sono:

Campione	Simbolo visualizzato sulla schermata utente	Risultati target nel resoconto	Interpretazione
Campione del paziente		Positivo	DNA di GAS target rilevato.
		Negativo	DNA di GAS target non rilevato.
		Irrisolto	Guasto nell'amplificazione/rilevazione del Controllo di processo e del DNA di GAS target. Potrebbe essere causato da malfunzionamento dei campioni inibitori, dei reagenti o degli elementi microfluidici. Il test deve essere ripetuto (consultare la sezione Procedura di ripetizione del test per ulteriori informazioni).
		Indeterminato	Nessun risultato da segnalare a causa di un possibile errore di rilevazione del Revogene durante la procedura analitica, l'analisi dei dati o se il ciclo viene interrotto dall'utente. Il test deve essere ripetuto (consultare la sezione Procedura di ripetizione del test per ulteriori informazioni).
		In corso	Risultati non ancora disponibili
Controllo esterno positivo		Positivo	Risultato del controllo esterno positivo valido.
		Negativo	Un controllo esterno positivo che genera un risultato negativo indica un problema di trattamento/preparazione del campione. L'analisi non è valida. Rivedere la tecnica di trattamento/preparazione del campione.
		Irrisolto	Risultato del controllo esterno positivo non corretto. L'analisi non è valida. Il test deve essere ripetuto (consultare la sezione Procedura di ripetizione del test per ulteriori informazioni).
		Indeterminato	Risultato del controllo esterno positivo non corretto. L'analisi non è valida. Il test deve essere ripetuto (consultare la sezione Procedura di ripetizione del test per ulteriori informazioni).
		In corso	Risultati non ancora disponibili
Controllo esterno negativo		Positivo	Un controllo esterno negativo che genera un risultato positivo indica un problema di trattamento e/o contaminazione del campione. L'analisi non è valida. Rivedere la tecnica di gestione del campione.
		Negativo	Risultato valido del controllo esterno negativo.
		Irrisolto	Risultato errato del controllo esterno negativo. L'analisi non è valida. Il test deve essere ripetuto (consultare la sezione Procedura di ripetizione del test per ulteriori informazioni).
		Indeterminato	Risultato errato del controllo esterno negativo. L'analisi non è valida. Il test deve essere ripetuto (consultare la sezione Procedura di ripetizione del test per ulteriori informazioni).
		In corso	Risultati non ancora disponibili

LIMITI DELLA PROCEDURA

- La procedura analitica Revogene Strep A non differenzia portatori asintomatici di *Streptococcus* del gruppo A da coloro che mostrano segni di infezione streptococcica.
- Qualora il risultato sia negativo e i sintomi clinici persistano, o in caso di insorgenza di febbre reumatica acuta, sarà necessario eseguire un ulteriore test di controllo con il metodo colturale.
- La procedura analitica Revogene Strep A deve essere utilizzata nel Revogene solo da personale addestrato.
- La procedura analitica Revogene Strep A non fornisce risultati di suscettibilità. Sono necessari isolati di coltura per l'esecuzione di test di suscettibilità.
- Le caratteristiche delle prestazioni cliniche della procedura analitica Revogene Strep A sono state determinate solo con campioni di tamponi faringei raccolti con tamponi in rayon in terreni di trasporto Liquid Stuart o Liquid Amies (Copan n. cat. 138C e 139C). Inoltre, sono stati valutati analiticamente tamponi faringei raccolti con tamponi in rayon o poliestere con terreni di trasporto Liquid Stuart o Liquid Amies (Copan n. cat. 140C e 141C; BD n. cat. 220146 e 220149). Non è consigliato l'uso di tamponi in rayon BD CultureSwab™ MaxV in terreni di trasporto Liquid Amies con la procedura analitica Revogene Strep A (BD n. cat. 220232). L'utilizzo della procedura analitica Revogene Strep A con campioni clinici in sistemi di prelievo/trasporto diversi da quelli specificati non è stato valutato e le caratteristiche di prestazione non sono state stabilite.
- I risultati con la procedura analitica Revogene Strep A devono essere utilizzati in aggiunta alle osservazioni cliniche e ad altre informazioni a disposizione del medico.
- I risultati della procedura analitica possono essere influenzati da una terapia antimicrobica concomitante poiché il DNA di GAS può continuare a essere individuato.
- Un risultato positivo non indica necessariamente la presenza di organismi vitali. Tuttavia, è indicativo di presenza di DNA di GAS.
- Risultati errati della procedura possono essere dovuti alla raccolta, manipolazione o conservazione inappropriate dei campioni, a errori tecnici, allo scambio di campioni oppure a una quantità insufficiente di carico di DNA del batterio per la rilevazione mediante la procedura analitica. Per evitare risultati errati è necessario osservare attentamente le istruzioni in questo inserto, il Manuale dell'utente del Revogene e le linee guida stabilite.
- Contaminazione o risultati negativi possono verificarsi quando il tappo di una PIE non è chiuso correttamente, oppure è caduta una goccia sui bordi della camera di caricamento del campione.
- Mutazioni o polimorfismi in regioni legate al primer o alla sonda possono avere un impatto negativo sull'individuazione di varianti del gene *S. pyogenes*, generando risultati falsi negativi con la procedura analitica Revogene Strep A.
- Analgesici/antipiretici (ad es. Tylenol®), antinfiammatori non steroidei (Advil®), broncodilatatori (ad es. albuterolo solfato) o mucine possono interferire con la procedura analitica Revogene Strep A quando una di queste sostanze è presente nel tampone del campione in concentrazione > 0,4% (p/v).
- Gli antinfiammatori non steroidei (Aspirina®) e il sangue intero possono interferire con la procedura analitica Revogene Strep A quando una delle due sostanze è presente nel tampone del campione in concentrazione > 0,1% (p/v o v/v).
- L'effetto combinato di *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius* e *Moraxella catarrhalis*, a una concentrazione ≥ 10⁶ CFU/mL del tampone del campione, o la presenza di *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae*, a una concentrazione ≥ 10⁶ CFU/mL del tampone del campione può avere un effetto inibitorio sull'individuazione di *S. pyogenes*.

VALORI PREVISTI

In uno studio clinico prospettico, sono stati raccolti circa 767 campioni da tamponi faringei in sette (7) centri in diverse regioni degli Stati Uniti e del Canada, tra febbraio e luglio 2018. Dei 604 campioni che soddisfacevano tutti i criteri di inclusione senza soddisfare alcuno dei criteri di esclusione, 154 erano positivi in base al metodo di riferimento per una prevalenza osservata del 25,5% [154/604; IC 95%, 22,2% - 29,1%]. La percentuale di risultati positivi osservati con la procedura analitica Revogene Strep A nella popolazione dello studio è stata del 29,0% [175/604; IC 95%, 25,5% - 32,7%].

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONI CLINICHE

Le prestazioni della procedura analitica Revogene Strep A sono state determinate mediante uno studio clinico condotto in otto (8) centri in diversi centri (sette [7] centri di raccolta e un [1] centro di riferimento) negli Stati Uniti e in Canada, tra febbraio e luglio 2018.

Sono stati raccolti duplici campioni con tampone faringeo da pazienti che mostravano segni e sintomi di faringite, ad eccezione di pazienti in terapia antibiotica, che potrebbe incidere sulla vitalità del gene di *Streptococcus*. Un (1) tampone è stato analizzato con la procedura analitica Revogene Strep A in uno (1) dei sette (7) centri clinici, mentre il secondo tampone è stato inviato a un (1) laboratorio centrale per ogni Paese (uno [1] in Canada e uno [1] negli Stati Uniti) per l'esecuzione del test secondo il metodo di riferimento. Appena arrivato al laboratorio centrale per il test secondo il metodo di riferimento, il secondo dei due tamponi faringei è stato inoculato su una piastra di agar sangue (BAP). Dopo incubazione, le colonie morfologicamente assimilabili a *S. pyogenes* sono state isolate in una nuova BAP. Gli isolati sono stati ulteriormente caratterizzati e identificati mediante test della catalasi, colorazione di Gram, agglutinazione al lattice e MALDI-TOF.

I valori di sensibilità, specificità, valore predittivo positivo (PPV) e valore predittivo negativo (NPV) sono stati calcolati paragonando i risultati della procedura analitica Revogene Strep A con il metodo di riferimento. L'analisi di discrepanza è stata eseguita su campioni con risultati discrepanti tra la procedura analitica Revogene Strep A e il metodo di riferimento, mediante una PCR alternativa per l'amplificazione e il rilevamento di *S. pyogenes* successivamente a sequenziamento bidirezionale del prodotto amplificato.

RISULTATI

Dei 767 campioni arruolati, 163 sono stati esclusi: tre (3) non erano conformi ai requisiti per le procedure di analisi con Revogene, 13 avevano superato i tempi di spedizione, 23 non soddisfacevano i criteri di inclusione, 27 non avevano risultati completi dai test e 97 non rispondevano al protocollo di riferimento per la cultura.

Sono stati utilizzati in totale 604 campioni, al fine di determinare le prestazioni della procedura analitica Revogene Strep A rispetto alla cultura batterica. I dati demografici della popolazione dello studio sono presentati nella **Tabella 1**.

Tabella 1. Dati demografici della popolazione.

Fascia di età		Tutti i soggetti (N = 604)
> 24 mesi - 12 anni		278 (46,03%)
13-21 anni		80 (13,25%)
22-64 anni		235 (38,91%)
≥ 65 anni		11 (1,82%)
Etnia		
bianca		186 (30,79%)
nera o afro-americana		231 (38,25%)
ispanica		97 (16,06%)
asiatica		5 (0,83%)
sconosciuta		85 (14,07%)

CONFRONTO CON IL METODO DI RIFERIMENTO

Le prestazioni cliniche della procedura analitica Revogene Strep A rispetto ai risultati del metodo di riferimento sono illustrate nella **Tabella 2**.

La procedura analitica Revogene Strep A ha mostrato una sensibilità del 98,1% (151/154; IC 95% 94,4-99,3) e una specificità del 94,7% (426/450; IC 95% 92,2-96,4%) rispetto al metodo di riferimento.

Tabella 2. Caratteristiche di prestazioni complessive della procedura analitica Revogene Strep A rispetto al metodo di riferimento.

Revogene Strep A		Metodo di riferimento		
		Positivo	Negativo	Totale
		151	24 ^a	175
Positivo		151	426	429
Negativo		2 ^b	426	429
Totale		154	450	604
Sensibilità		98,1% [IC 95% 94,4-99,3]		
Specificità		94,7% [IC 95% 92,2-96,4]		
Valore predittivo positivo		86,3% [IC 95% 80,4-90,6]		
Valore predittivo negativo		99,3% [IC 95% 98,0-99,8]		

^a Risultati da PCR alternativo con sequenziamento bidirezionale: 17 su 24 erano positivi a Strep A; sei (6) su 24 erano negativi a Strep A, uno (1) era non conclusivo.

^b Risultati da PCR alternativo con sequenziamento bidirezionale: uno (1) su tre (3) era positivo a Strep A, due (2) erano non conclusivi.

Il tasso totale iniziale di risultati irrisolti era 0,5% (3/610) e 0,2% (1/610) dopo avere ripetuto il test. Il tasso totale iniziale di risultati indeterminati era 1,1% (7/610) e 0,8% (5/610) dopo avere ripetuto il test. Il tasso totale iniziale di risultati non riportabili era 1,6% (10/610) e 1,0% (6/610) dopo avere ripetuto il test.

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONI ANALITICHE

SENSIBILITÀ ANALITICA

La sensibilità analitica (Limite di rivelabilità, Limit of Detection – LoD) per la procedura analitica Revogene Strep A è stata determinata utilizzando una matrice da tampone faringeo clinico (con risultati precedentemente negativi per *S. pyogenes*) a cui sono state aggiunte varie concentrazioni di sospensioni batteriche di *S. pyogenes*. Tre (3) ceppi di *S. pyogenes* (ATCC® 12403™, ATCC® 19615™ e ATCC® 700942™) sono stati testati in 24 replicati per concentrazione. L'LoD viene definito come la concentrazione più bassa alla quale il 95% o più di tutti i replicati ha dato un risultato positivo.

Per quanto riguarda i tre (3) ceppi testati, l'LoD della procedura analitica Revogene Strep A era compreso tra 333 e 1333 CFU/mL di SB (**Tabella 3**). Le concentrazioni preliminari dell'LoD sono state confermate testando venti (20) replicati di ogni ceppo.

Tabella 3. LoD della procedura analitica Revogene Strep A.

Ceppo di <i>S. pyogenes</i> (Numero ATCC®)	LoD (CFU/mL di SB)
ATCC® 12344™	333
ATCC® 19615™	1000
ATCC® 700942™	1333

INCLUSIVITÀ

L'inclusività della procedura analitica Revogene Strep A è stata determinata per 12 ceppi di *S. pyogenes*, che rappresentano sei (6) diversi tipi di sequenza *emm* da diverse regioni geografiche. Nove (9) ceppi sono stati testati da una cultura di cellule quantizzate in presenza di matrice faringea negativa a *S. pyogenes* a un caricamento di 999 CFU/mL di SB, corrispondente a tre (3) volte il valore LoD del ceppo ATCC® 12344™. Nove (9) replicati per ceppo sono stati testati utilizzando tre (3) diversi lotti di kit di Revogene Strep A. Otto (8) ceppi sono stati individuati con positività del 100% (in 9/9 replicati) mediante la procedura analitica Revogene Strep A a un caricamento di 999 CFU/mL di SB. Il ceppo *S. pyogenes* ATCC® 49399™ è stato rilevato con una positività del 100% a un caricamento di 1667 CFU/mL di SB. I ceppi testati sono descritti nella **Tabella 4**.

Tabella 4. Ceppi di *S. pyogenes* testati per inclusività con la procedura analitica Revogene Strep A.

Ceppi di <i>S. pyogenes</i>	Raggruppamento con metodo di Lancefield	Tipo <i>emm</i>
ATCC® 12384™	A	3
ATCC® 49399™	A	n.d.
CCUG 33409	A	n.d.
CCUG 39158	A	n.d.
CCUG 53553	A	n.d.
ATCC® 700952™	A	92
ATCC® 700294™	A	1
ATCC® 12357™	A	18
CCUG 65322	A	n.d.
ATCC® 19615™ ¹	A	80
ATCC® 12344™ ¹	A	1
ATCC® 700942™ ¹	A	82

¹ Ceppi utilizzati per la determinazione di LoD e quindi non ritestati.

Inoltre, un'analisi *in silico* è stata eseguita l'8 agosto 2018 per valutare l'inclusività dei primer e della sonda del target della procedura analitica Revogene Strep A riguardo a 123 ceppi di *S. pyogenes* elencati nel database del Centro Nazionale per Informazioni di Biotecnologia (NCBI). Questa includeva sequenze di ceppi di *S. pyogenes* di tipi *emm* significativi inclusi in vaccini candidati contro gli streptococchi del gruppo A⁹. I risultati di convergenza non hanno mostrato alcuna discrepanza con le 122 sequenze. Una (1) variante presentava una discrepanza nella regione corrispondente alla sonda *S. pyogenes*; tuttavia questa variante è considerata rilevabile dalla procedura analitica Revogene Strep A. L'analisi ha previsto l'individuazione di tutti questi ceppi di *S. pyogenes*.

REATTIVITÀ CROCIATA

La reattività crociata della procedura analitica Revogene Strep A è stata valutata con alti caricamenti di organismi non target della procedura analitica, oppure filogeneticamente correlati a *S. pyogenes*, o rilevati in campioni di tamponi faringei clinici. Lo studio includeva 42 batteri, un (1) lievito, sei (6) virus e DNA umano (**Tabella 5**). I batteri e i lieviti sono stati testati a un caricamento di 10⁶ CFU/mL di SB. Sono stati testati acidi nucleici da virus e DNA umano al caricamento di 10⁵ DNA o RNA copie/mL di SB. Questi organismi sono stati testati utilizzando colture di cellule quantizzate o soluzione di acido nucleico in presenza di una matrice faringea negativa a *S. pyogenes*. Ogni organismo è stato testato in triplicato di PCR.

Alle condizioni dello studio, tutti gli organismi e gli acidi nucleici sono risultati non reattivi con la procedura analitica Revogene Strep A.

La reattività crociata con primer e sonde della procedura analitica Revogene Strep A è stata valutata tramite un'analisi *in silico* eseguita su sequenze contenute nel database NCBI in data 8 agosto 2018. Nessun altro target diverso da *S. pyogenes* è risultato avere un livello di omologia significativo con i primer e la sonda di *S. pyogenes*.

Tabella 5. Elenco di organismi testati per la reattività crociata con la procedura analitica Revogene Strep A.

Batteri	
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Streptococcus anginosus</i> subsp. <i>whileyi</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus canis</i>
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Streptococcus constellatus</i> subsp. <i>viborgensis</i>
<i>Haemophilus influenza</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i> *
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>
<i>Legionella jordanis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Legionella micdadei</i> (Tatlockia micdadei)	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Neisseria subflava</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Parvimonas micra</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus suis</i>
<i>Serratia marcescens</i>	<i>Veillonella parvula</i>
Lievito	
<i>Candida albicans</i>	
Virus	
Adenovirus tipo 1	Adenovirus tipo 11 (Slobitski)
Influenza B/Taiwan/2/62	Influenza A/Aichi/2/68/H3N2
Rinovirus tipo 17	Virus parainfluenzale 4b
DNA umano	
DNA umano	

*Diverso ceppo ATCC

ORGANISMI INTERFERENTI

Il potenziale effetto inibitorio di 30 organismi non target dell'analisi e che possono essere presenti nella normale flora del cavo orofaringeo e/o delle vie respiratorie è stato valutato utilizzando organismi selezionati dallo studio di reattività crociata (**Tabella 6**). Ogni categoria di organismi (ovvero, batteri, lievito, virus) è stata rappresentata prestando particolare attenzione a includere gli agenti causativi più frequenti di infezioni delle vie respiratorie. Sono stati testati in triplicato gruppi composti da un numero variabile tra uno (1) e quattro (4) organismi, con 999 CFU/mL di SB contenente il ceppo *S. pyogenes* ATCC® 12344™, oppure 3000 CFU/mL di SB contenente il ceppo *S. pyogenes* ATCC® 19615™, oppure campioni negativi a *S. pyogenes* in presenza di matrice faringea negativa a *S. pyogenes*, al fine di valutare la loro potenziale interferenza nell'individuazione di *S. pyogenes* o nel PrC. Ogni organismo all'interno di un gruppo è stato diluito per raggiungere un caricamento di 10⁶ CFU/mL di SB per batteri e lievito e di 10⁵ copie/mL di SB per virus. I 30 organismi inclusi nello studio sono indicati nella **Tabella 6**.

Tabella 6. Elenco di organismi testati per interferenza con la procedura analitica Revogene Strep A.

Gruppo 1	
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>
<i>Haemophilus influenza</i>	<i>Bordetella pertussis</i>
Gruppo 2	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Parvimonas micra</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
Gruppo 3	
<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Streptococcus anginosus</i> subsp. <i>whileyi</i>
<i>Streptococcus constellatus</i> subsp. <i>viborgensis</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>
Gruppo 4	
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>	
Gruppo 5	
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>	
Gruppo 6	
<i>Streptococcus gordonii</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>
Gruppo 7	
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Gruppo 8	
<i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Gruppo 9	
Adenovirus tipo 1	Influenza B/Taiwan/2/62
Rinovirus tipo 17	Influenza A/Aichi/2/68/H3N2

Nessuno dei 30 organismi presenti a 10⁶ CFU/mL di SB per batteri e lievito e 10⁵ copie/ml di SB per virus ha interferito con l'individuazione di PrC o con il ceppo di *S. pyogenes* ATCC® 19615™.

Gli organismi inclusi nel gruppo 5 e nel gruppo 7 hanno mostrato un potenziale effetto inibitorio per l'individuazione del ceppo di *S. pyogenes* ATCC® 12344™. Ciò non di meno, il ceppo *S. dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae* non ha mostrato interferenza a un caricamento di 10⁵ CFU/mL di SB. Quando ciascun organismo del gruppo 7 è stato testato individualmente a un caricamento di 10⁶ CFU/mL di SB in presenza del ceppo di *S. pyogenes* ATCC® 12344™, non è stata osservata alcuna interferenza.

SOSTANZE INTERFERENTI

È stato valutato il potenziale effetto inibitorio di 16 sostanze esogene e tre (3) endogene che potrebbero essere presenti in un campione da tampone faringeo usando campioni negativi di *S. pyogenes* e ceppi di *S. pyogenes* ATCC® 12344™ e ATCC® 19615™ contenenti campioni in concentrazione pari a tre (3) volte il LoD (rispettivamente 999 CFU/mL di SB e 3000 CFU/mL di SB) in presenza di matrice faringeo negativa a *S. pyogenes*. Le sostanze sono state testate alla loro concentrazione potenzialmente più elevata riscontrabile in un campione da tampone faringeo. I risultati per le 19 sostanze sono indicati nella **Tabella 7**.

I risultati hanno dimostrato che analgesici/antipiretici (Tylenol®), antinfiammatori non steroidei (Aspirina®, Advil®), broncodilatatori (albuterolo solfato), sangue intero o mucine possono avere un potenziale effetto inibitore sull'individuazione di PrC o *S. pyogenes* qualora queste sostanze siano presenti in SBT a una concentrazione del 4,3% (p/v o v/v). Queste sostanze non hanno mostrato interferenza riferibile con la procedura analitica Revogene Strep A quando testate rispettivamente a una concentrazione pari a 0,4% (p/v) per Tylenol®, Advil®, albuterolo solfato e mucine, oppure pari a 0,1% (p/v) o 0,1% (v/v) per Aspirina® e sangue intero.

Tabella 7. Elenco di sostanze esogene ed endogene testate con la procedura analitica Revogene Strep A.

Sostanze esogene	
Sostanza (nome commerciale)	Concentrazione in SB senza interferenza osservata ¹
Analgesico/antipiretico (Tylenol®)	0,4% (p/v)*
Antinfiammatorio non steroideo (Aspirina®)	0,1% (p/v)*
Antinfiammatorio non steroideo (Advil®)	0,4% (p/v)*
Broncodilatatore (albuterolo solfato)	0,4% (p/v)*
Decongestionante nasale (Zicam®)	4,3% (p/v)
Pastiglie per la tosse (Halls Mentholyptus)	4,3% (p/v)
Pastiglie per la tosse (Cépacol® Extra Strength)	4,3% (p/v)
Pastiglie per la tosse (Screts® Complete)	4,3% (p/v)
Dentifricio (Crest® Pro-Health Advanced)	0,56% (p/v)
Collutorio (Crest® Scope® Classic)	4,3% (v/v)
Collutorio (Listerine® Ultraclean)	4,3% (v/v)
Sciroppo per la tosse (NyQuil™ Complete)	4,3% (v/v)
Sciroppo per la tosse (Dimetapp®)	4,3% (v/v)
Sciroppo per la tosse (Robitussin® Cough Control Extra Strength)	4,3% (v/v)
Sciroppo per la tosse (Robitussin Total® Cough, Cold & Flu Extra Strength Nighttime)	4,3% (v/v)
Antistaminici (Benadryl® Allergy Elixir)	4,3% (v/v)
Saliva umana	4,3% (v/v)
Sangue intero	0,1% (v/v)*
Mucina da ghiandole sottomascellari bovine	0,4% (p/v)*

¹ p/v: peso/volume; v/v: volume/volume
* Concentrazioni superiori a questi valori possono causare interferenza (vedere le limitazioni sopra citate).

TRASFERIMENTO E CONTAMINAZIONE CROCIATA

Il trasferimento (tra un ciclo di analisi e l'altro) e la contaminazione crociata (nello stesso ciclo di analisi) sono stati valutati mediante campioni positivi testati in presenza di matrice da tampone faringeo negativa a *S. pyogenes*. I campioni positivi sono stati preparati con ceppo di *S. pyogenes* ATCC® 12344™ alla concentrazione finale di 10⁵ CFU/mL di SB. I campioni negativi sono stati inoltre testati in presenza di matrice da tampone faringeo negativa a *S. pyogenes*.

Per lo studio di trasferimento sono state eseguite un totale di dieci (10) analisi da due (2) operatori con la procedura analitica Revogene Strep A su un (1) Revogene. Quattro (4) campioni altamente positivi e quattro (4) campioni negativi sono stati testati alternando campioni positivi e negativi in ogni analisi. Per lo studio di contaminazione crociata, è stata eseguita un'analisi di otto (8) replicati di campioni positivi elevati seguita da un'analisi di otto (8) replicati di campioni negativi da parte di due (2) operatori, per un totale di dieci (10) analisi su un (1) Revogene.

È stata dimostrata l'assenza di trasferimento e contaminazione crociata.

RIPRODUCIBILITÀ

Lo studio di riproducibilità tra un centro e l'altro è stato eseguito in tre (3) centri, da due (2) operatori per centro, nell'arco di cinque (5) giorni diversi utilizzando un (1) lotto di kit per procedura analitica Revogene Strep A.

Lo studio di riproducibilità tra un lotto e l'altro è stato eseguito in un (1) centro, da due (2) operatori, nell'arco di 15 giorni utilizzando tre (3) lotti di kit per procedura analitica Revogene Strep A (cinque [5] giorni per lotto di kit). Per ogni studio di riproducibilità è stato testato un totale di 120 replicati per campioni negativi e 90 replicati per ogni categoria di campioni positivi, in presenza di una matrice da tampone faringeo negativa a *S. pyogenes*. Due (2) ceppi di *S. pyogenes* sono stati usati per i campioni positivi: ATCC® 12344™ e ATCC® 19615™.

Le categorie di campioni sono state descritte come segue:

- Bassa positività (LP): ceppo *S. pyogenes* ATCC® 12344™ testato a 650 CFU/mL di SB.
- Positività moderata (MP): ceppo *S. pyogenes* ATCC® 19615™ testato a 3000 CFU/mL di SB.
- Negativo (NEG): campioni senza ceppo *S. pyogenes*.

I risultati per ogni categoria di campione testato durante gli studi di riproducibilità tra un centro e l'altro e tra un lotto e l'altro sono mostrati nelle **Tabelle 8 e 9** rispettivamente. Per la riproducibilità tra un centro e l'altro, la percentuale di concordanza complessiva per NEG, LP ed MP è stata del 100% (**Tabella 8**). Per la riproducibilità tra un lotto e l'altro, la percentuale di concordanza complessiva per NEG, LP ed MP è stata del 100%, del 97,8% e del 100% rispettivamente (**Tabella 9**). I valori della soglia del ciclo (Ct) medi complessivi con componenti di variazione (DS e CV %) sono mostrati nelle **Tabelle 8 e 9**.

Tabella 8. Risultati dello studio di riproducibilità tra un centro e l'altro con un (1) lotto di kit per procedura analitica Revogene Strep A.

Categoria	Ceppo <i>S. pyogenes</i> (numero ATCC®)	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Risultati complessivi/ Totale	Percentuale di concordanza complessiva ¹	IC 95% complessivo	Valori Ct ²		
		Risultati/ Totale	Percentuale di concordanza	Risultati/ Totale	Percentuale di concordanza	Risultati/ Totale	Percentuale di concordanza				Media complessiva	DS	CV %
LP	ATCC® 12344™	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	96,7%-100%	36,97	1,88	5,10
MP	ATCC® 19615™	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	96,7%-100%	34,98	0,75	2,15
NEG	n.d.	40/40	100%	40/40	100%	40/40	100%	120/120	100%	97,5%-100%	28,52	0,69	2,42

¹ Per la categoria NEG, la percentuale di concordanza è stata calcolata per risultati negativi.
² Per le categorie LP ed MP, i valori Ct indicati sono per il GAS target. Per la categoria NEG, i valori Ct indicati sono per il PrC.

Tabella 9. Risultati dello studio di riproducibilità tra un lotto e l'altro in un (1) centro con tre (3) lotti di kit per procedura analitica Revogene Strep A.

Categoria	Ceppo <i>S. pyogenes</i> (numero ATCC®)	Lotto 1		Lotto 2		Lotto 3		Risultati complessivi/ Totale	Percentuale di concordanza complessiva ¹	IC 95% complessivo	Valori Ct ²		
		Risultati/ Totale	Percentuale di concordanza	Risultati/ Totale	Percentuale di concordanza	Risultati/ Totale	Percentuale di concordanza				Media complessiva	DS	CV %
LP	ATCC® 12344™	30/30	100%	29/30	96,6%	29/30	96,7%	88/90	97,8%	92,2%-99,7%	37,85	2,30	6,08
MP	ATCC® 19615™	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	96,7%-100%	35,49	1,61	4,53
NEG	n.d.	40/40	100%	40/40	100%	40/40	100%	120/120	100%	97,5%-100%	28,55	0,74	2,61

¹ Per la categoria NEG, la percentuale di concordanza è stata calcolata per risultati negativi.
² Per le categorie LP ed MP, i valori Ct indicati sono per il GAS target. Per la categoria NEG, i valori Ct indicati sono per il PrC.

PRECISIONE

Lo studio di precisione è stato eseguito in un (1) centro, da due (2) operatori, nell'arco di 20 giorni utilizzando un (1) lotto di kit per procedura analitica Revogene Strep A. Per ogni categoria di campione sono stati eseguiti due (2) cicli di analisi al giorno per due (2) replicati per ciclo, per un totale di 80 replicati.

Per ogni categoria, tutti i campioni sono stati testati in presenza di matrice da tampone faringeo negativa a *S. pyogenes*. Due (2) ceppi di *S. pyogenes* sono stati usati per i campioni positivi: ATCC® 12344™ e ATCC®

19615™. Le categorie di campioni sono state descritte come segue:

- Bassa positività (LP): ceppo ATCC® 12344™ testato a 650 CFU/mL di SB.
- Positività moderata (MP): ceppo ATCC® 19615™ testato a 3000 CFU/mL di SB.
- Negativo (NEG): campioni senza ceppo *S. pyogenes*.

I risultati dello studio di precisione per NEG, LP e MP hanno dimostrato una concordanza pari rispettivamente al 97,5%, al 100% e al 100% (Tabella 10).

Tabella 10. Percentuale di concordanza dello studio di precisione in un (1) centro con un (1) lotto di kit per procedura analitica Revogene Strep A.

Categoria	Ceppo <i>S. pyogenes</i> numero ATCC®	Percentuale di concordanza complessiva ¹	IC 95% complessivo
LP	ATCC® 12344™	100%	96,3%-100%
MP	ATCC® 19615™	100%	96,3%-100%
NEG	n.d.	97,5%	91,3%-99,7%

¹ Per la categoria NEG, la percentuale di concordanza è stata calcolata per risultati negativi.

ETICHETTATURA ELETTRONICA

È possibile accedere online alla documentazione correlate a questo prodotto al sito Web www.meridianbioscience.com/pi. Inoltre, sono disponibili copie cartacee su richiesta contattando il distributore locale o tramite i numeri di telefono elencati sulla scatola del kit.



UTILISATION PRÉVUE

L'essai Revogene® Strep A, réalisé sur l'instrument Revogene, est un test de diagnostic *in vitro* qualitatif et automatisé utilisant une réaction en chaîne par polymérase (PCR) en temps réel pour la détection directe de l'acide nucléique de *Streptococcus pyogenes* (Streptocoque du groupe A β -hémolytique) provenant d'échantillons de gorge prélevés sur des patients présentant des signes et des symptômes de pharyngite. L'essai Revogene Strep A est destiné à être utilisé comme une aide au diagnostic de l'infection à streptocoque du groupe A.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Streptococcus pyogenes, ou streptocoque du groupe A (GAS), est un cocci anaérobie Gram positif facultatif qui se présente sous forme de chaînettes et provoque de nombreuses infections chez l'humain, notamment la pharyngite, la scarlatine, la cellulite, les érysipèles, le rhumatisme articulaire aigu, la glomérulonéphrite post-streptococcique, fasciite nécrosante, myonécrose et lymphangite.

Le streptocoque du groupe A (GAS) demeure l'étiologie bactérienne la plus courante et représente 15 à 30% des cas de pharyngite aiguë chez l'enfant et 5 à 20% chez l'adulte¹. Parce que les signes et symptômes de la pharyngite à streptocoque du groupe A chevauchent largement avec d'autres causes infectieuses (maux de gorge, fièvre avec apparition soudaine), il est difficile de poser un diagnostic uniquement sur la base de résultats cliniques. Cependant, un diagnostic précis est nécessaire pour traiter rapidement et adéquatement la maladie par antibiothérapie et éviter d'éventuelles complications graves telles que le rhumatisme articulaire aigu.

Les méthodes conventionnelles de détection de l'infection à streptocoque du groupe A comprennent l'utilisation de tests de détection rapide d'antigènes (RADT) ou la culture d'échantillons pharyngés sur écouvillons suivis de la différenciation du groupe de Lancefield avec l'agglutination au latex. Bien que très spécifique, la sensibilité des RADT peut être aussi basse que 31 à 50%², ce qui impose de recourir à des cultures de sauvegarde^{3,4}. En revanche, la culture peut durer jusqu'à 48 heures, retardant ainsi le traitement antimicrobien approprié⁵. L'essai Revogene Strep A peut fournir les résultats pour un à huit échantillons aussitôt que 42 minutes pour les échantillons positifs et en environ 70 minutes pour les échantillons négatifs, sans qu'il soit nécessaire de confirmer par la culture les résultats négatifs du test Revogene Strep A. Le test minimise l'intervention de l'opérateur à la suite du chargement de l'échantillon dans la cartouche microfluidique à usage unique (PIE) jusqu'au résultat final.

PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

L'instrument Revogene automatise l'homogénéisation et la dilution des échantillons, la lyse cellulaire, l'amplification d'ADN et la détection des produits de PCR amplifiés. L'intervention de l'utilisateur n'est requise que pour décharger l'échantillon du patient dans le tube de tampon d'échantillon (TTE), transférer l'échantillon du TTE dans le PIE et insérer les PIEs dans le carrousel du Revogene.

Chaque PIE est un dispositif fermé entièrement intégré dans lequel un échantillon est distribué et traité à travers différentes chambres et canaux microfluidiques permettant le traitement des échantillons (homogénéisation des échantillons, dilution des échantillons, lyse cellulaire et extraction de l'ADN) et les étapes suivantes de la PCR en temps réel (Figure 1). Le liquide d'un seul échantillon est transféré par centrifugation d'une chambre à l'autre. Tous les réactifs spécifiques à la réaction PCR sont incorporés et séchés dans les puits PCR. Un contrôle de procédé (PrC) est incorporé dans chaque PIE afin de vérifier les étapes de traitement et d'amplification de l'échantillon, y compris la vérification des substances inhibitrices potentielles, ainsi que des défaillances microfluidiques, de l'instrument ou des réactifs. Les produits amplifiés sont détectés en temps réel à l'aide de sondes basées sur la chimie TaqMan® spécifiques à chaque cible. Aucune intervention de l'opérateur n'est nécessaire une fois qu'un PIE est chargé dans le Revogene.

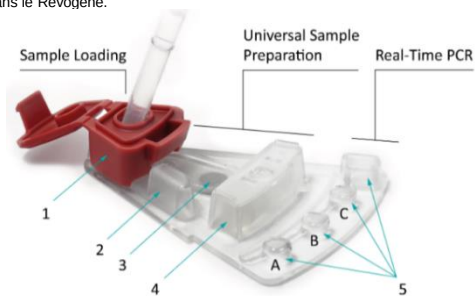


Figure 1. Vue du dessus d'un PIE.
1 : Chambre de chargement de l'échantillon, 2: Chambre de trop-plein, 3: Chambre d'homogénéisation contenant le PrC, 4: Chambre de dilution/lyse, 5: Trois (3) puits PCR (A à C de gauche à droite) et une (1) chambre à déchets (à extrême droite).

Le Revogene peut traiter simultanément entre un (1) et huit (8) échantillons dans la même routine de tests PCR. Le carrousel doit contenir huit (8) PIEs afin de maintenir l'équilibre thermodynamique dans la routine de tests PCR. Au cours ou à la fin de la routine de tests PCR, les résultats sont calculés par le système à partir des signaux fluorescents mesurés et des algorithmes de calcul intégrés. Les résultats affichés sur l'écran tactile peuvent être imprimés, transférés et stockés par l'utilisateur à l'aide du port USB ou de l'option de connectivité.

Une fonction de résultat positif précoce (E-PRO) fournit un résultat positif si le signal de l'ADN cible atteint un seuil prédéterminé avant la fin des cycles PCR complets. Avec la fonctionnalité E-PRO, un résultat positif peut être obtenu en environ 42 minutes pour les échantillons fortement positifs. Pour les échantillons négatifs, le temps nécessaire est environ 70 minutes.

RÉACTIFS ET MATÉRIEL FOURNI

La trousse Revogene Strep A contient suffisamment de réactifs et de matériel pour traiter 24 échantillons. Le kit contient les éléments suivants :

- 24 tubes de tampon d'échantillon Strep A (TTE). Tube contenant une solution tamponnée de Tris-HCl pH 8,0 / EDTA Na₂ (TE 1X) en tant que tampon de dilution et de conservation pour échantillon.
- 24 outils de transfert à usage unique (PTJ) : Pipette en plastique avec repères de volume minimal et maximal pour le transfert de l'échantillon du TTE vers le PIE.
- 24 pochettes individuelles contenant une (1) cartouche microfluidique (PIE) Strep A : Dispositif intégré, composé de réactifs séchés permettant la préparation d'échantillons et la PCR en temps réel pour l'ADN du PrC, l'amplification et la détection de l'ADN GAS. Chaque PIE contient des amorces du PrC, une sonde basée sur la chimie Taqman® spécifique au PrC, des amorces spécifiques du gène GAS et des sondes basées sur la chimie Taqman®, des dNTPs, un tampon et une ADN polymérase.

MATÉRIEL/ÉQUIPEMENT REQUIS MAIS NON FOURNI

- Revogene® (Cat # 610210)
- Gants jetables sans poudre
- Écouvillons en rayonne ou en polyester avec des milieux de transport Liquid Stuart ou Liquid Amies compatibles avec la collecte des échantillons de gorge (cat. Copan n° 139C, 138C, 140C et 141C; BD n° 220146 et 220149).
- Mélangeur Vortex avec une vitesse maximale d'au moins 3 200 rpm.
- Gauzes
- MOCK PIEs (Cat # 610208; en option)
- Portoir d'échantillons (cat # 132539; en option)

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- L'essai Revogene Strep A ne peut être utilisé que sur le Revogene.
- N'utilisez pas la trousse si l'étiquette qui scelle la boîte extérieure est cassée à votre arrivée.
- N'utilisez pas les PIEs Strep A si les sachets de protection sont ouverts ou brisés à votre arrivée.
- Ne pas échanger les PTJ, TTE et PIEs entre les lots de trousse.
- Chaque PTJ à usage unique et PIE Strep A sont utilisés pour traiter un (1) échantillon. Ne pas réutiliser le PTJ ou PIE.
- Ne pas utiliser d'écouvillon avec le milieu de transport en gel.
- Manipulez toujours 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 Laboratories⁶ et dans le document CLSI M29-A4⁷.
- Portez des gants non poudrés jetables lors de la manipulation des échantillons et se laver soigneusement les mains ensuite.
- Le PIE Strep A contient des réactifs séchés. Le sachet de protection ne doit pas être ouvert avant que le test ne soit prêt.
- Éliminez les matériaux non utilisés, les réactifs et les déchets conformément aux réglementations nationales, fédérales, provinciales, locales ou de votre municipalité.
- Ne pas ouvrir, ni briser le PIE après utilisation pour éviter toute contamination par des produits d'amplification et/ou des particules infectieuses.
- N'utilisez pas un PIE qui a été échappé, secoué ou inversé après le chargement de l'échantillon car cela pourrait entraîner des résultats invalides.
- N'utilisez pas une trousse dont la date de péremption est dépassée.
- Ne pas réfrigérer le PIE chargé.
- Chaque routine de tests PCR doit être effectuée avec huit (8) PIEs dans le carrousel du Revogene afin de maintenir l'équilibre thermodynamique et mécanique dans le Revogene. Placez les PIE MOCK ou les nouveaux PIE de test chargés de tampon d'échantillon dans des positions vides si moins de huit échantillons ont été testés.

DANGER ET MISES EN GARDE

A notre connaissance, il n'y a pas de risque connu associé à ce produit.

CONSERVATION ET STABILITÉ

1. Les échantillons prélevés dans la gorge doivent être conservés entre 2 °C et 25 °C pendant le transport.
2. Les écouvillons de prélèvements de gorge peuvent être conservés à 25 °C pendant deux (2) jours ou à 2-8 °C pendant sept (7) jours.
3. Le TTE inoculé peut être conservé à 25 °C pendant trois (3) jours ou à 2-8 °C pendant sept (7) jours.
4. Conserver le kit Revogene Strep A entre 2 et 25 °C. La date d'expiration est indiquée sur l'étiquette de la boîte du kit.
5. Ne pas ouvrir un sachet avant d'être prêt à effectuer le test. Utilisez le PIE dans l'heure qui suit l'ouverture du sachet.

MODE D'EMPLOI

PRÉLÈVEMENT ET TRANSPORT DES ÉCHANTILLONS

Type d'échantillon: écouvillon de gorge prélevé sur des patients présentant des signes et des symptômes de pharyngite, prélevé à l'aide d'un écouvillon en rayonne ou en polyester et du milieu de transport Liquid Stuart ou Liquid Amies.

1. Écouvillonner le pharynx postérieur, les amygdales et les autres zones enflammées en suivant les méthodes cliniques habituelles et conserver le coton-tige dans sa gaine de transport.
2. Étiqueter la gaine de transport avec l'identification de l'échantillon ou du patient (ID) et envoyer-la au laboratoire pour qu'elle soit testée (voir la section **Stockage et Stabilité**).

PRÉPARATION DU SBT

REMARQUE 1: Assurez-vous qu'un seul (1) TTE est ouvert à tout moment et n'enlevez qu'un (1) écouvillon à la fois de sa gaine de transport.

Étape 1

- a. Retirez le nombre approprié de sachets de la boîte.

Étape 2

- a. Pour chaque échantillon à tester, prendre un TTE dans la boîte du kit.

REMARQUE: N'ouvrez la pochette que lorsque vous êtes prêt à charger la cartouche PIE. Commencez le test dans l'heure qui suit l'ouverture du sachet contenant le PIE.

Étape 3

- a. Identifiez (ou étiquetez) le TTE avec l'identification de spécimen appropriée sans masquer ni écrire sur le code à barres.
- b. Placez le TTE sur le portoir d'échantillons le cas échéant.

Étape 4

- a. Dévisser le bouchon du TTE.
- b. Retirez le coton-tige de sa gaine de transport et transférez-le dans le TTE.
- c. Casser la partie excédentaire de la tige du coton-tige (**Figure 2**):
 - Tenez la tige avec une gaze.
 - Soulevez la tige à quelques millimètres (mm) du bas du tube.
 - Pliez la tige contre le bord du tube pour le casser.
 - Vous pouvez également utiliser des ciseaux propres pour couper la tige. Désinfectez les ciseaux entre chaque échantillon.
 - Éliminez la gaine et la tige du coton-tige conformément aux pratiques en vigueur dans votre établissement.
 - Fermez bien le bouchon TTE.
- d. Répétez l'étape 4 pour chaque échantillon à tester.

REMARQUE: Une nouvelle gaze doit être utilisée pour chaque échantillon afin d'éviter toute contamination croisée entre les échantillons et les aérosols.

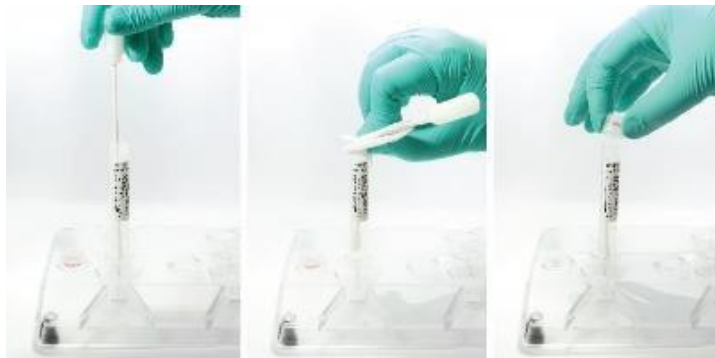


Figure 2. Casser le coton-tige dans le TTE



Une fois cassé, la tige de l'écouvillon doit être plus courte que le bord du SBT afin de décharger correctement l'échantillon dans le TTE. Le bouchon du TTE doit se fermer sans être gêné par la tige du coton-tige.

PRÉPARATION DU PIE

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

REMARQUE 2: Manipulez le PTJ uniquement par le bulbe pour éviter la contamination de l'échantillon.

Étape 5

- a. Mélangez le TTE pendant au moins 15 secondes à la vitesse maximale (> 3200 rpm) à l'aide d'un mélangeur vortex.

Étape 6

- a. Ouvrir la pochette de la cartouche PIE et en extraire la cartouche PIE.
- b. Placez le PIE Strep A sur le portoir d'échantillons Revogene, s'il est utilisé ou sur une surface plane.

REMARQUE: Tenez le PIE par la chambre de dilution ou par ses côtés pour éviter les bavures sur les puits de PCR.

Étape 7

- Prendre une PTJ dans la boîte du kit et aspirer le tampon pour échantillon (TE) inoculé en pressant l'ensemble de la poire, en plaçant le bout de la pipette dans le tampon pour échantillon et en relâchant lentement la pression sur la poire. Le liquide doit monter entre les deux (2) marques du PTJ. (**Figure 3**). Si le niveau de liquide ne se situe pas entre les deux (2) marques, déchargez complètement le tampon dans le SBT et répétez l'étape B.

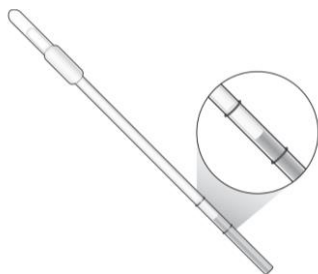


Figure 3. Représentation d'un niveau de tampon pour échantillon (TE) approprié à l'aide de la pipette de transfert jetable (PTJ)

REMARQUE: N'aspirez pas les bulles.

- Déchargez complètement le volume de tampon contenu dans le PTJ dans la chambre de chargement d'échantillons du PIE en pressant le bulbe du PTJ (**Figure 3**). Veillez à ne pas toucher les bords extérieurs ou le fond de la chambre de chargement des échantillons avec le PTJ.
- Éliminez le PTJ conformément aux pratiques standards de votre institution. Ne pas réutiliser le PTJ.
- Fermez bien le bouchon du PIE.
- Fermez bien le bouchon du TTE.
- Répétez les étapes 5 à 7 pour tous les SBT supplémentaires, puis passez à l'étape 8.

REMARQUE: soyez prudents lorsque vous manipulez un PIE chargé. Ne pas inverser, secouer ou laisser tomber. Si cela se produit, jetez et préparez un nouveau PIE à partir de l'étape 5.

OPERATION DU REVOGENE

REMARQUE 1: Reportez-vous au Manuel de l'utilisateur Revogene® pour plus d'informations sur son utilisation.

Étape 8

- Connectez-vous en entrant <Nom d'utilisateur> et <Mot de passe> et tapez sur <Connexion> (**Figure 4**).
- Appuyez sur <Setup Run> dans le menu principal (le couvercle sera automatiquement déverrouillé s'il est fermé) (**Figure 5**).
- Ouvrez le couvercle et retirez l'anneau de retenue.



Figure 4. Ecran initial

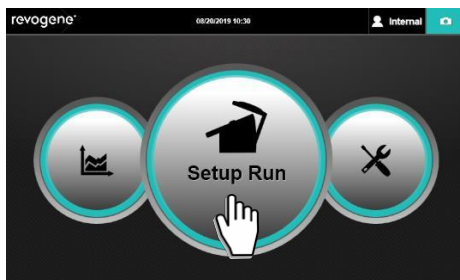


Figure 5. Menu Principal

Étape 9

- Entrez l'**Identification (ID) de l'échantillon** à l'aide du lecteur de code à barres ou du clavier à l'écran:
 - Pour scanner le TTE, tenez-le verticalement devant le scanner.
 - Pour utiliser le clavier à l'écran, appuyez sur l'icône du crayon. L'identifiant d'échantillon saisi manuellement devra être confirmé en le saisissant une seconde fois.
- Scanner le code-barres du TTE et le code-barres de la cartouche PIE en tenant la cartouche PIE verticalement avec le capuchon en haut (**Figure 6**).



Figure 6. Scan du PIE REMARQUE:

Ne pas inverser, secouer ou échapper le PIE chargé. Si cela se produit, jetez et préparez un nouveau PIE à partir de l'étape 5.

- (Facultatif) Appuyez sur l'**icône en forme de crayon** présent sur la ligne **<ID patient>** et entrez l'ID patient à l'aide du clavier à l'écran.
- (Facultatif) Appuyez sur l'**icône en forme de crayon** présent sur la ligne **<Ajouter des commentaires>** et tapez un commentaire à l'aide du clavier à l'écran.
- Insérez le PIE dans le carrousel de Revogene en le tenant par les côtés ou par la chambre de dilution (**Figure 7**).
 - L'une des huit (8) positions du carrousel peut être utilisée. Le logiciel associera automatiquement l'échantillon et le TTE correspondant au bon PIE.
- Tapez sur **<ok>** sur la ligne **<insérer PIE dans l'instrument>** pour confirmer que le PIE est inséré.
- Répétez l'étape 9 pour tous les PIE chargés.



Figure 7. Insertion die PIE

Étape 10

- Tapez sur **<Suivant>**.
- Si moins de huit (8) PIEs sont testés, chargez les MOCK PIE dans les positions restantes du carrousel (il n'est pas nécessaire de scanner les MOCK PIE) (**Figure 8**). Si les MOCK PIE ne sont pas disponibles, utilisez de nouveaux PIEs de test remplis de SB non inoculé (BLANC).
- Appuyez sur la case à cocher **Confirmer**.
- Scannez l'anneau de retenue et placez-le sur le carrousel (**Figure 9**).
- Fermez le couvercle de l'instrument.
- Appuyez sur **<Démarrer>** pour lancer le test (**Figure 10**).
 - Une minuterie sur l'écran et des voyants sur le couvercle du Revogene indiqueront la progression du test.
- Entreposez le TTE inoculé dans les conditions appropriées (reportez-vous à la section **Stockage et Stabilité**) pour une reprise du test, si nécessaire.

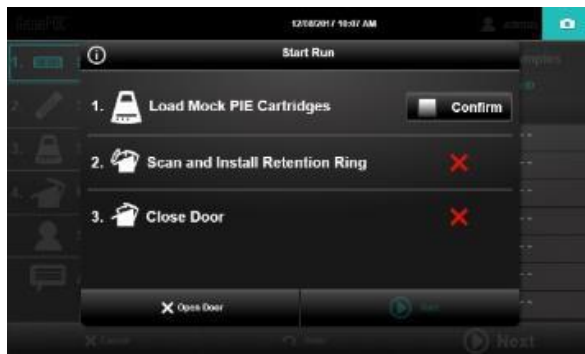


Figure 8. Ajout de MOCK PIE



Figure 9. Placer l'anneau de retenue

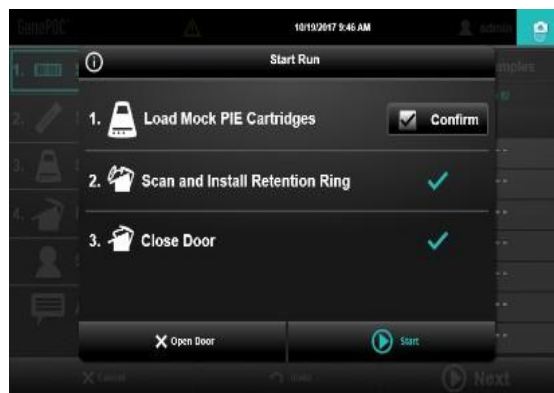


Figure 10. Confirmer le démarrage du test

VISUALIER ET EXPORTER LES RESULTATS

Étape 11 – Durant la routine de tests PCR

- a. Si les voyants indiquant la progression de l'exécution sur le couvercle du Revogene commencent à clignoter, ceci est une notification pour un résultat positif précoce (E-PRO). Une icône apparaîtra également sur la barre de titre de l'écran.

L'icône **E-PRO** comprend le symbole «+» et un nombre représentant le nombre de résultats positifs disponibles à ce moment (**Figure 11**). Le nombre augmentera si d'autres résultats positifs deviennent disponibles.



Figure 11. L'icône E-PRO

- b. Entrez <Nom d'utilisateur> et <Mot de passe> et appuyez sur <Connexion> si la session de l'utilisateur s'est déconnectée.
c. Appuyez sur l'icône **E-PRO**.
d. Les résultats de la routine de tests PCR en cours sont automatiquement listés à l'écran (**Figure 12**). Pour chaque ligne d'échantillon, il y aura un symbole positif ou un symbole « en cours ». Le symbole « en cours », consistant en une animation rotative, est affiché jusqu'à l'obtention d'un résultat positif ou jusqu'à la fin du test.
e. Appuyez sur un symbole de résultat positif pour ouvrir le rapport intermédiaire.
f. (Facultatif) Appuyez sur <Exporter> et enregistrez le rapport intermédiaire le cas échéant (par exemple, clé USB ou option de connectivité).

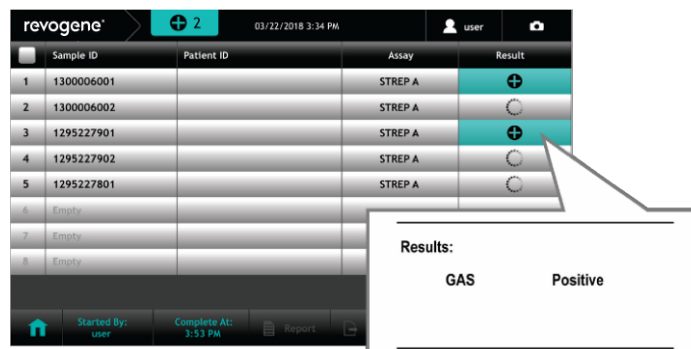


Figure 12. Affichage des résultats en cours

Une fois que l'écran de résultats a été consulté, les notifications E-PRO disparaissent. De nouvelles notifications E-PRO apparaîtront lors de la détection d'un résultat positif précoce supplémentaire. Tout résultat d'échantillon affiché dans le rapport intermédiaire est final et restera inchangé dans le rapport final de résultats.

Étape 12 – À la fin de la routine de tests PCR

- Une fois la routine de tests PCR terminée, le couvercle s'ouvre automatiquement.
- Entrez <Nom d'utilisateur> et <Mot de passe> et tapez sur <Connexion> si la session de l'utilisateur s'est déconnectée.
- Touchez l'icône Résultats (Figure 13).
- Les résultats de la dernière exécution sont automatiquement listés à l'écran.
- Sélectionner des échantillons pour lesquels le(s) rapport(s) de résultats doit (doivent) être exporté(s):
 - Tous les échantillons peuvent être sélectionnés simultanément en cochant la case située dans le coin supérieur gauche de l'écran.
- Appuyez sur <Exporter> et enregistrez le rapport de résultats final, le cas échéant (par exemple, clé USB ou via l'option de connectivité) (Figure 14).
- Alternativement:
 - Appuyez sur <Recherche> pour trouver un échantillon spécifique et son résultat.



Figure 13. Menu Principal

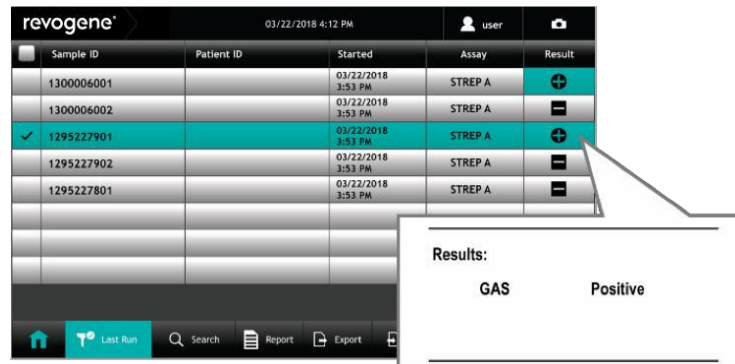


Figure 14. Affichage des résultats finaux

Étape 13

- Retirez l'anneau de retenue.
- Retirez les PIEs du Revogene:
 - Éliminez les PIEs conformément aux pratiques standards de votre établissement.

REMARQUE: Ne pas jeter les MOCK PIE car ils peuvent être réutilisés. Nettoyez et décontaminez les MOCK PIE conformément à la notice du produit MOCK PIE.

PROCÉDURE DE REPRISE DE TEST

RÉSULTAT NON RESOLU OU INDETERMINÉ POUR UN SPECIMEN Lorsqu'un résultat non résolu (UNR) ou indéterminé (IND) est obtenu pour un spécimen, un test de reprise à partir du TTE inoculé correspondant doit être effectué dans les délais spécifiés dans la section **Stockage et Stabilité**. Un seul (1) test de reprise du SBT est autorisé.

Utilisez le TTE inoculé correspondant pour charger un nouveau PIE du même lot de trousse. Suivez la section **Préparation du PIE** à l'étape 5, puis suivez la section **Opération du Revogene**.

RÉSULTAT NON RESOLU OU INDETERMINÉ POUR UN CONTRÔLE EXTERNE

Lorsqu'un résultat non résolu (UNR) ou indéterminé (IND) est obtenu pour un contrôle externe, la routine de tests PCR n'est pas valide. Un test de reprise doit être effectué pour les contrôles externes positifs et négatifs à partir du TTE inoculé correspondant dans les délais spécifiés dans la section **Stockage et Stabilité**. Les échantillons inclus dans la routine de tests doivent être répétés en utilisant le TTE inoculé correspondant. Un seul (1) test de reprise du TTE est autorisé.

Utilisez le TTE inoculé correspondant pour charger un nouveau PIE du même lot de trousse. Suivez la section **Préparation du PIE** à l'étape 5, puis suivez la section **Opération du Revogene**.

RÉSULTAT FAUX NÉGATIF OU FAUX POSITIF POUR UN CONTRÔLE EXTERNE

Lorsqu'un résultat Faux Négatif ou Faux Positif est obtenu pour un contrôle externe, la routine de tests PCR n'est pas valide. Les deux contrôles doivent être répétés en utilisant un nouvel ensemble de contrôles externes.

De plus, un test doit être répété pour tous les échantillons inclus dans la routine de tests, en utilisant le SBT inoculé correspondant dans les délais spécifiés dans la section **Stockage et stabilité** avec un nouvel ensemble de contrôles externes. Un seul (1) test de reprise du TTE est autorisé.

Reportez-vous à la section **Contrôle de la qualité** pour la préparation d'un nouvel ensemble de contrôles externes.

En utilisant un nouveau sachet, suivez la section **Préparation du PIE** à l'étape 5, puis suivez la section **Opération du Revogene**.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les procédures de contrôle de la qualité vérifient l'exactitude et la précision du processus analytique. Chaque laboratoire doit établir le nombre, le type et la fréquence des matériels de contrôle des tests conformément à la réglementation ou aux organismes d'accréditation applicables. La procédure décrite ci-dessous peut être utilisée, le cas échéant, en fonction des règles et procédures locales.

CONTRÔLE DE PROCÉDÉ

Chaque PIE Strep A contient un contrôle de procédé (PrC) qui vérifie l'homogénéisation, la dilution, la lyse cellulaire, l'inhibition de l'amplification de l'ADN et l'échec des réactifs.

CONTROLES EXTERNES

NOTE 1: Il convient d'utiliser des PTJ, des TTE et des PIE distincts pour la préparation de chaque contrôle externe.

- Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l'utilisation de matériel de contrôle. L'utilisateur doit suivre les directives appropriées concernant l'exécution des contrôles externes. Il est recommandé qu'un (1) contrôle externe positif et un (1) contrôle externe négatif soient exécutés au moins une fois par jour jusqu'à ce que le processus soit validé de manière adéquate avec l'essai Revogene Strep A sur le Revogene dans chaque laboratoire.
- Le matériel de contrôle externe n'est pas fourni par Meridian Bioscience, Inc. Les contrôles externes ne sont pas utilisés par le logiciel Revogene pour l'interprétation des résultats des tests. Les contrôles externes sont traités comme s'il s'agissait d'échantillons.
- Avant de signaler des résultats positifs précoces d'échantillons, assurez-vous d'obtenir des résultats de contrôles externes positifs et négatifs valides.

Contrôles externes positifs

- Une suspension cellulaire d'une souche de *Streptococcus pyogenes* provenant d'une souche disponible dans le commerce (par exemple, ATCC® 12344™) préparée à $0,5 \pm 0,05$ McFarland diluée à 1/100 dans une solution saline (par exemple, la solution saline préparée BD BBL™, n° de catalogue 221819) est recommandée en tant que contrôle externe positif.

Contrôle externe négatif

- Une suspension cellulaire d'une souche de *Streptococcus salivarius*, provenant d'une souche disponible dans le commerce (par exemple, ATCC® 13419™), préparée à $0,5 \pm 0,05$ McFarland dans une solution saline (par exemple, la solution saline préparée BD BBL™, n° de catalogue 221819) est recommandée en tant que contrôle externe négatif.

- Traitez et testez les préparations des contrôles externes conformément à la section **Instructions d'utilisation**.
- À l'étape 4, retirez un coton-tige compatible et non utilisé de sa gaine de transport et plongez-le rapidement dans la suspension du contrôle externe positif ou négatif (veillez à immerger complètement la pointe du coton-tige dans le liquide).
- Transférez le coton-tige dans le TTE.
- Suivez les instructions de la section **Instructions d'utilisation** à l'étape 4-C.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS
Les résultats sont calculés par l'instrument Revogene à partir de signaux de fluorescence mesurés et d'algorithmes de calcul intégrés et sont disponibles dans la fenêtre "Résultats". Les résultats possibles sont:

Échantillon	Symbole affiché sur l'écran	Résultat rapporté par cible	Interprétation
Échantillon patient		Positif	ADN de la cible GAS détecté.
		Négatif	ADN de la cible GAS non détecté.
		Non résolu	Erreur d'amplification/de détection pour le contrôle de procédé ainsi que pour l'ADN de la cible GAS. Peut être causée par des échantillons inhibiteurs, ou une défaillance au niveau microfluidique ou des réactifs. Il convient de répéter les tests (reportez-vous à la section Procédure de reprise de test pour obtenir d'autres directives).
		Indéterminé	Aucun résultat à signaler en raison d'éventuelles erreurs de détection de l'instrument Revogene durant le traitement ou l'analyse des données, ou à cause de l'interruption du test par l'utilisateur. Il convient de répéter les tests (reportez-vous à la section Procédure de reprise de test pour obtenir d'autres directives).
		En cours	Résultats non disponibles pour le moment.
Contrôle externe positif		Positif	Résultat du contrôle externe positif valide.
		Négatif	Un contrôle externe positif qui produit un résultat négatif indique un problème au niveau de la manipulation ou de la préparation des échantillons. La routine de tests PCR n'est pas valide. Il convient de revoir la technique de manipulation ou de préparation des échantillons.
		Non résolu	Résultat du contrôle externe positif incorrect. La routine de tests PCR n'est pas valide. Il convient de répéter les tests (reportez-vous à la section Procédure de reprise de test pour obtenir d'autres directives).
		Indéterminé	Résultat du contrôle externe positif incorrect. La routine de tests PCR n'est pas valide. Il convient de répéter les tests (reportez-vous à la section Procédure de reprise de test pour obtenir d'autres directives).
		En cours	Résultats non disponibles pour le moment.
Contrôle externe négatif		Positif	Un contrôle externe négatif qui produit un résultat positif évoque un problème de manipulation des échantillons ou de contamination. La routine de tests PCR n'est pas valide. Il convient de revoir la technique de manipulation des échantillons.
		Négatif	Résultat du contrôle externe négatif valide.
		Non résolu	Résultat du contrôle externe négatif incorrect. La routine de tests PCR n'est pas valide. Il convient de répéter les tests (reportez-vous à la section Procédure de reprise de test pour obtenir d'autres directives).
		Indéterminé	Résultat du contrôle externe négatif incorrect. La routine de tests PCR n'est pas valide. Il convient de répéter les tests (reportez-vous à la section Procédure de reprise de test pour obtenir d'autres directives).
		En cours	Résultats non disponibles pour le moment.

- LIMITES DE LA PROCÉDURE**
1. L'essai Revogene Strep A ne différencie pas les porteurs asymptomatiques du streptocoque du groupe A de ceux présentant une infection à streptocoque.
 2. Des tests de suivi supplémentaires utilisant la méthode de culture sont nécessaires si le résultat est négatif et les symptômes cliniques persistents ou en cas d'épidémie de rhumatisme articulaire aigu.
 3. L'essai Revogene Strep A doit être utilisé seulement avec le Revogene et que par du personnel qualifié.
 4. L'essai Revogene Strep A ne fournit pas de résultats de susceptibilité. Les isolats de culture sont nécessaires pour effectuer des tests de susceptibilité.
 5. Les caractéristiques de performance clinique de l'essai Revogene Strep A ont été établies uniquement avec des échantillons de prélèvements de gorge collectés avec des écouvillons de rayonne dans un milieu de transport Liquid Stuart ou Liquid Amies (Copan, n° 138C et 139C). De plus, les échantillons de gorge prélevés avec des écouvillons de rayonne ou de polyester dans les milieux de transport Liquid Stuart ou Liquid Amies ont été évalués de manière analytique (Copan, n° 140C et 141C; BD n° 220146 et 220149). L'utilisation du coton tige BD CultureSwab™ MaxV dans le milieu de transport Liquid Amies n'est pas recommandée avec l'essai Revogene Strep A (BD cat. N° 220232). L'utilisation de l'essai Revogene Strep A avec un échantillon clinique dans des systèmes de collecte / transport autres que ceux spécifiés n'a pas été évaluée et les caractéristiques de performance ne sont pas établies.
 6. Les résultats de l'essai Revogene Strep A doivent être utilisés en complément des observations cliniques et des autres informations mises à la disposition du médecin.
 7. Les résultats de l'essai peuvent être affectés par un traitement antimicrobien concomitant, car l'ADN GAS peut continuer à être détecté.
 8. Un résultat positif n'indique pas nécessairement la présence d'organismes viables. Il est cependant indicatif de la présence d'ADN GAS.
 9. Des résultats d'analyse erronés peuvent résulter d'une collecte, d'une manipulation ou d'une conservation incorrecte des échantillons, d'une erreur technique, d'une confusion entre échantillons ou que l'échantillon ne contient pas une charge d'ADN bactérien suffisante pour être détectée par l'essai. Le respect scrupuleux des instructions de cette notice, du manuel de l'utilisateur du Revogene et des directives établies est nécessaire pour éviter des résultats erronés.
 10. Une contamination ou des résultats faussement négatifs peuvent survenir si un bouchon du PIE est mal fermé ou si une gouttelette est tombée sur les bords de la Chambre de chargement de l'échantillon.
 11. Des mutations ou des polymorphismes dans les régions de liaison aux amorces ou aux sondes pourraient affecter la détection des variants du gène de *S. pyogenes*, ce qui pourrait entraîner un résultat faux négatif avec l'essai Revogene Strep A.
 12. Les analgésiques / antipyrétiques (Tylenol®, par exemple), les anti-inflammatoires non stéroïdiens (Advil®), les bronchodilatateurs (sulfate d'albutérol) ou la mucine peuvent potentiellement interférer avec l'essai Revogene Strep A lorsque l'une ou l'autre de ces substances est présente dans le tampon d'échantillon à une concentration > 0,4% (p/v).
 13. Un anti-inflammatoire non stéroïdien (Aspirine®) ou du sang total peuvent potentiellement interférer avec l'essai Revogene Strep A lorsque l'une ou l'autre de ces substances est présente dans le tampon d'échantillon à une concentration > 0,1% (p/v ou v/v).
 14. Un effet combinatoire de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius* et *Moraxella catarrhalis*, à $\geq 10^6$ UFC/mL de tampon d'échantillon ou la présence de *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae*, à $\geq 10^6$ UFC/mL de tampon d'échantillon, peut avoir un effet inhibiteur sur la détection de *S. pyogenes*.

VALEURS ATTENDUES
Au cours de l'essai clinique prospectif, un total de 767 échantillons de prélèvements de gorge ont été collectés sur sept (7) sites géographiques différents aux États-Unis et au Canada de février à juillet 2018. Sur les 604 échantillons répondants à tous les critères d'inclusion sans rencontrer aucun des critères d'exclusion, 154 étaient positifs sur la base de la Méthode de Référence pour une prévalence observée de 25,5% [154/604; IC 95% 22,2% - 29,1%]. Le pourcentage de résultats positifs observés avec l'essai Revogene Strep A dans la population étudiée était de 29,0% [175/604; IC 95% 25,5% - 32,7%].

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE CLINIQUE
La performance de l'essai Revogene Strep A a été établie dans le cadre d'un essai clinique prospectif mené dans huit (8) sites géographiquement divers (sept (7) sites de collecte et un (1) centre de référence) aux États-Unis et au Canada de février à juillet 2018.

Des prélèvements d'échantillons de gorge faits en utilisant des écouvillons doubles ont été collectés chez des patients présentant des signes et des symptômes de pharyngite, à l'exception des patients sous antibiothérapie pouvant affecter la viabilité du genre *Streptococcus*. Un (1) écouvillon a été testé avec l'essai Revogene Strep A dans un (1) des sept (7) sites cliniques, tandis que le second a été envoyé à un (1) laboratoire central par pays (un (1) au Canada et un (1) aux États-Unis) pour la réalisation de la Méthode de Référence. À son arrivée au laboratoire central pour la réalisation de la Méthode de Référence, une plaque de gélose sang (BAP) a été inoculée avec le deuxième écouvillon. Après incubation, des colonies ressemblant morphologiquement à *S. pyogenes* ont été isolées sur un nouveau BAP. Les isolats ont ensuite été caractérisés et identifiés par le test à la catalase, la coloration de Gram, l'agglutination au latex et le MALDI-TOF.

Les valeurs de sensibilité, de spécificité, de valeur prédictive positive (PPV) et de valeur prédictive négative (NPV) ont été calculées en comparant les résultats de l'essai Revogene Strep A avec la Méthode de Référence. Une analyse de discordance a été effectuée sur des échantillons avec des résultats discordants entre l'essai Revogene Strep A et la Méthode de Référence, en utilisant un PCR alternatif pour l'amplification et la détection de *S. pyogenes* suivie d'un séquençage bidirectionnel du produit amplifié.

RÉSULTATS

Sur les 767 spécimens inscrits, 163 ont été exclus: trois (3) n'ont pas respecté les procédures de test sur le Revogene, 13 ont dépassé le délai d'expédition, 23 ne répondaient pas aux critères d'inclusion, 27 n'avaient pas de résultats de test complets et 97 ont échoué à se conformer au protocole de culture de référence.

Au total, 604 échantillons ont été utilisés pour établir la performance de l'essai Revogene Strep A par rapport à la culture bactérienne. Les données démographiques de l'étude sont présentées au **Tableau 1**.

Tableau 1. Données démographiques de la population à l'étude

Groupe d'âge	Tous les Sujets (N = 604)
> 24 mois – 12 ans	278 (46,03%)
13 – 21 ans	80 (13,25%)
22 – 64 ans	235 (38,91%)
≥ 65 ans	11 (1,82%)
Ethnie	
Blanc	186 (30,79%)
Noir or Africain Américains	231 (38,25%)
Hispanique	97 (16,06%)
Asiatique	5 (0,83%)
Inconnu	85 (14,07%)

COMPARAISON AVEC MÉTHODE DE RÉFÉRENCE

Les performances cliniques de l'essai Revogene Strep A comparées aux résultats de la Méthode de Référence sont présentées dans le **Tableau 2**.

L'essai Revogene Strep A a démontré une sensibilité de 98,1% (151/154; IC95%: 94,4-99,3) et une spécificité de 94,7% (426/450; IC95%: 92,2-96,4) par rapport à la Méthode de Référence.

Tableau 2. Caractéristiques de performance globale de l'essai Revogene Strep A en comparaison avec la Méthode de Référence.

		Méthode de Référence		
		Positif	Négatif	Total
Revogene Strep A	Positif	151	24 ^a	175
	Négatif	2 ^b	426	429
	Total	154	450	604
Sensibilité		98,1% [95% CI: 94,4-99,3]		
Spécificité		94,7% [95% CI: 92,2-96,4]		
Valeur prédictive positive		86,3% [95% CI: 80,4-90,6]		
Valeur prédictive négative		99,3% [95% CI: 98,0-99,8]		

^a Résultats du PCR alternatif avec séquençage bidirectionnel : 17 des 24 ont obtenu un résultat Strep A Positif; six (6) des 24 ont obtenu un résultat Strep A Négatif et un (1) a obtenu un résultat non concluant.

^b Résultats du PCR alternatif avec séquençage bidirectionnel: un (1) des trois (3) a obtenu un résultat Strep A Positif et deux (2) ont obtenu un résultat non concluant.

Le taux global initial d'échantillons avec résultats non résolus était de 0,5% (3/610) et 0,2% (1/610) après reprise des tests. Le taux global initial d'échantillons avec résultats indéterminés était de 1,1% (7/610) et de 0,8% (5/610) après reprises. Le taux global initial d'échantillons avec résultats non rapportables était de 1,6% (10/610) et de 1,0% (6/610) après des reprises.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

ANALYTIQUES SENSIBILITÉ ANALYTIQUE

La sensibilité analytique (limite de détection ou LoD) de l'essai Revogene Strep A a été déterminée à l'aide d'une matrice d'échantillons cliniques de gorge (testée précédemment négative pour *S. pyogenes*) inoculée de diverses concentrations de suspensions bactériennes de *S. pyogenes*. Trois (3) souches de *S. pyogenes* (ATCC® 12344™, ATCC® 19615™, ATCC® 700942™) ont été testées en 24 réplicats par concentration. La limite de détection est définie comme la concentration la plus basse à laquelle 95% ou plus de tous les réplicats testés sont positifs.

En ce qui concerne les trois (3) souches testées, la limite de détection de l'essai Revogene Strep A variait de 333 à 1333 UFC/ mL de tampon d'échantillon (**Tableau 3**). Les concentrations préliminaires de LoD ont été confirmées en testant vingt (20) réplicats de chaque souche.

Tableau 3. Limite de Détection de l'Essai Revogene Strep A

Souche <i>S. pyogenes</i> (Numéro ATCC®)	LoD (UFC/mL de tampon échantillon)
ATCC® 12344™	333
ATCC® 19615™	1000
ATCC® 700942™	1333

INCLUSIVITÉ

Inclusivité de l'essai Revogene Strep A a été déterminée pour 12 souches de *S. pyogenes* représentant six (6) types différents de séquences *emm* provenant de diverses origines géographiques. Neuf (9) souches ont été testées à partir d'une culture cellulaire quantifiée en présence de matrice négative pour *S. pyogenes* à une charge de 999 UFC / mL de tampon d'échantillon, correspondant à trois (3) fois la valeur de LoD de la souche ATCC® 12344™. Neuf (9) réplicats par souche ont été testés avec trois (3) lots différents de trousses Revogene Strep A. Huit (8) souches ont été détectées avec une positivité de 100% (sur 9 réplicats) par l'essai Revogene Strep A à une charge de 999 UFC mL de tampon d'échantillon. La souche ATCC® 49399™ de *S. pyogenes* a été détectée avec une positivité de 100% à une charge de 1667 UFC/mL de tampon d'échantillon. Les souches testées sont décrites dans le **Tableau 4**.

Tableau 4. Souches *S. pyogenes* Testées pour Évaluer l'Inclusivité de l'essai Revogene Strep A

Souches <i>S. pyogenes</i>	Groupe Lancefield	Type <i>emm</i>
ATCC® 12384™	A	3
ATCC® 49399™	A	N/A
CCUG 33409	A	N/A
CCUG 39158	A	N/A
CCUG 53553	A	N/A
ATCC® 700952™	A	92
ATCC® 700294™	A	1
ATCC® 12357™	A	18
CCUG 65322	A	N/A
ATCC® 19615™ ¹	A	80
ATCC® 12344™ ¹	A	1
ATCC® 700942™ ¹	A	82

¹ Souches utilisées pour la détermination de la LoD et par conséquent non retestées.

De plus, une analyse *in silico* a été réalisée le 8 août 2018 pour évaluer l'inclusivité des amorces et de la sonde de la cible de l'essai Revogene Strep A concernant 123 souches de *S. pyogenes* répertoriées dans la base de données du National Center for Biotechnology Information (NCBI). Cela comprenait des séquences de souches de *S. pyogenes* de types *emm* significatifs incluses dans les vaccins candidats contre les streptocoques du groupe A⁹. Les résultats de l'alignement n'ont montré aucune différence d'appariement avec les 122 séquences. Un (1) variant présentait une différence d'appariement dans la région correspondant à la sonde de *S. pyogenes*. Toutefois, ce variant est considéré comme détectable par l'essai Revogene Strep A. L'analyse a prédit la détection de toutes ces souches *S. pyogenes*.

RÉACTIVITÉ CROISÉE

La réactivité croisée de l'essai Revogene Strep A a été évaluée avec des charges élevées d'organismes non ciblés par l'essai, ou apparentés phylogénétiquement à *S. pyogenes*, ou trouvés dans des échantillons cliniques de prélèvements de gorge. L'étude comprenait 42 bactéries, une (1) levure, six (6) virus et de l'ADN humain (**Tableau 5**). Les bactéries et les levures ont été testées à une charge de 10⁶ UFC/mL de tampon d'échantillon. Les acides nucléiques de virus et l'ADN humain ont été testés à une charge de 10⁵ copies d'ADN ou d'ARN/mL de tampon d'échantillon. Ces organismes ont été testés en utilisant une culture cellulaire ou une solution d'acide nucléique quantifiée en présence d'une matrice de gorge négative pour *S. pyogenes*. Chaque organisme a été testé en triplicats PCR.

Dans les conditions de l'étude, tous les organismes et acides nucléiques ont été trouvés non réactifs avec l'essai Revogene Strep A.

La réactivité croisée avec les amorces et les sondes de l'essai Revogene Strep A a été évaluée par une analyse *in silico* effectuée sur les séquences contenues dans la base de données NCBI du 8 août 2018. Aucune autre cible que *S. pyogenes* ne s'est avérée avoir un niveau d'homologie significatif avec les amorces et la sonde de *S. pyogenes*.

Tableau 5. Liste des Organismes Testés pour Évaluer la Réactivité Croisée avec l'essai Revogene Strep A

Bactéries	
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Streptococcus anginosus</i> subsp. <i>whileyi</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus canis</i>
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Streptococcus constellatus</i> subsp. <i>viborgensis</i>
<i>Haemophilus influenza</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i> *
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>
<i>Legionella jordanis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Legionella micdadei</i> (<i>Tatlockia micdadei</i>)	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Neisseria subflava</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Parvimonas micra</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus suis</i>
<i>Serratia marcescens</i>	<i>Veillonella parvula</i>
Levure	
<i>Candida albicans</i>	
Virus	
Adenovirus Type 1	Adenovirus type 11 (Slobitski)
Influenza B/Taiwan/2/62	Influenza A/Aichi/2/68/H3N2
Rhinovirus Type 17	Parainfluenza virus 4b
ADN Humain	
ADN humain	

*Souche ATCC différente

ORGANISMES INTERFERENTS

L'effet potentiellement inhibiteur de 30 organismes non ciblés pouvant être présents dans la flore normale de la gorge, de la bouche et/ou des voies respiratoires a été évalué à l'aide d'organismes sélectionnés dans l'étude de réactivité croisée (**Tableau 6**). Chaque catégorie d'organismes (bactéries, levures, virus) a été représentée avec une attention particulière pour inclure les agents causatifs les plus fréquents des infections des voies respiratoires. Des groupes de un (1) à quatre (4) organismes ont été testés en triplicat avec soit 999 UFC/mL de tampon d'échantillon contenant la souche de *S. pyogenes* ATCC® 12344™, 3000 UFC/mL de tampon d'échantillon contenant la souche de *S. pyogenes* ATCC® 19615™, ou des échantillons négatifs pour *S. pyogenes* en présence d'une matrice de gorge négative pour *S. pyogenes* afin d'évaluer leur interférence potentielle lors de la détection de *S. pyogenes* ou du PrC. Chaque organisme dans un groupe a été dilué pour atteindre une charge de 10⁶ UFC/mL de tampon d'échantillon pour les bactéries et les levures, et 10⁵ copies/mL de tampon d'échantillon pour les virus. Les 30 organismes inclus dans l'étude sont présentés dans le **Tableau 6**.

Table 6. Liste des Organismes Testés pour l'Interférence avec l'essai Revogene Strep A

Groupe 1	
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>
<i>Haemophilus influenza</i>	<i>Bordetella pertussis</i>
Groupe 2	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Parvimonas micra</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
Groupe 3	
<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Streptococcus anginosus</i> subsp. <i>whileyi</i>
<i>Streptococcus constellatus</i> subsp. <i>viborgensis</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>
Groupe 4	
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>	
Groupe 5	
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>	
Groupe 6	
<i>Streptococcus gordonii</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>
Groupe 7	
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Groupe 8	
<i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Groupe 9	
Adenovirus Type 1	Influenza B/Taiwan/2/62
Rhinovirus Type 17	Influenza A/Aichi/2/68/H3N2

Aucun des 30 organismes présents à 10⁶ UFC/mL de tampon d'échantillon pour les bactéries et les levures et à 10⁵ copies / mL de tampon d'échantillon pour les virus n'a interféré avec la détection du PrC ou de la souche *S. pyogenes* ATCC® 19615™.

Les organismes inclus dans les groupes 5 et 7 ont montré un effet potentiellement inhibiteur sur la détection de la souche *S. pyogenes* ATCC® 12344™. Néanmoins, la souche *S. dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae* n'a montré aucune interférence à une charge de 10⁵ UFC/mL de tampon d'échantillon. Lorsque chaque organisme du groupe 7 a été testé individuellement à une charge de 10⁵ UFC/mL de tampon d'échantillon en présence de la souche *S. pyogenes* ATCC® 12344™, aucune interférence n'a été observée.

SUBSTANCES INTERFÉRANTES

L'effet potentiellement inhibiteur de 16 substances exogènes et de trois (3) substances endogènes susceptibles d'être présentes dans un échantillon prélevé de gorge a été évalué à l'aide d'échantillons négatifs pour *S. pyogenes* et de souches de *S. pyogenes* ATCC® 12344™ et ATCC® 19615™ testées à (3) fois la LoD (999 UFC/mL de tampon d'échantillon et 3000 UFC/mL de tampon d'échantillon, respectivement) en présence d'une matrice négative pour *S. pyogenes*. Les substances ont été testées à la concentration potentiellement la plus élevée que l'on puisse trouver dans un prélèvement de gorge. Les résultats pour les 19 substances sont présentés dans le **Tableau 7**.

Les résultats ont montré que les analgésiques / antipyrétiques (Tylenol®), les anti-inflammatoires non stéroïdiens (Aspirin®, Advil®), les bronchodilatateurs (sulfate d'albutérol), le sang total et la mucine avaient un effet potentiellement inhibiteur sur la détection du PrC ou de *S. pyogenes* lorsque présentes dans le SBT à une concentration de 4,3% (p/v ou v/v). Ces substances ne présentaient aucune interférence signalable avec l'essai Revogene Strep A lorsqu'elles étaient testées à 0,4% (p/v) pour Tylenol®, Advil®, le sulfate d'albutérol et la mucine ou à 0,1% (p/v) ou 0,1% (v/v) pour l'aspirine et le sang total respectivement.

Tableau 7. Liste des Substances Exogènes and Endogènes Testées avec l'Essai Revogene Strep A

Substances Exogènes	
Substance (nom commercial)	Concentration dans le tampon d'échantillon sans interférence observée¹
Analgésique/ Antipyrétiques (Tylenol®)	0,4 % (p/v)*
Anti-inflammatoires non stéroïdiens (Aspirin®)	0,1 % (p/v)*
Anti-inflammatoires non stéroïdiens (Advil®)	0,4 % (p/v)*
Bronchodilatateur (Albuterol sulfate)	0,4 % (p/v)*
Décongestionant nasal (Zicam®)	4,3 % (p/v)
Pastilles pour la gorge (Halls Mentho-Lyptus)	4,3 % (p/v)
Pastilles pour la gorge (Cépacol® Extra Strength)	4,3 % (p/v)
Pastilles pour la gorge (Suctrets® Complete)	4,3 % (p/v)
Pâte à dent (Crest® Pro-Health Advanced)	0,56 % (p/v)
Rince-bouche (Crest® Scope® Classic)	4,3 % (v/v)
Rince-bouche (Listerine® Ultraclean)	4,3 % (v/v)
Sirop contre la toux (NyQuil™ Complete)	4,3 % (v/v)
Sirop contre la toux (Dimetapp®)	4,3 % (v/v)
Sirop contre la toux (Robitussin® Cough Control Extra Strength)	4,3 % (v/v)
Sirop contre la toux (Robitussin Total® Cough, Cold & Flu Extra Strength Nighttime)	4,3 % (v/v)
Antihistaminiques (Benadryl® Allergy Elixir)	4,3 % (v/v)
Substances endogènes	
Substance	Concentration dans le tampon d'échantillon sans interférence observée¹
Salive humaine	4,3 % (v/v)
Sang total	0,1 % (v/v)*
Mucine de glandes sous maxillaires bovines	0,4 % (p/v)*

¹ p/v: Poids/Volume; v/v: Volume/Volume
*Concentrations supérieures à ces valeurs peuvent causer de l'interférence (voir limitations présentées ci-haut).

TRANSFERT DE CONTAMINATION et CONTAMINATION CROISÉE

Le transfert de contamination (entre les routines de tests PCR) et les contaminations croisées (au sein d'une routine de tests PCR) ont été évalués à l'aide d'échantillons positifs testés en présence d'une matrice de gorge négative pour *S. pyogenes*. Des échantillons positifs ont été préparés avec la souche *S. pyogenes* ATCC® 12344™ à une concentration finale de 10⁵ UFC/mL de tampon d'échantillon. Des échantillons négatifs ont également été testés en présence d'une matrice de gorge négative pour *S. pyogenes*.

Pour l'étude de transfert de contamination, un total de dix (10) routines de tests PCR ont été effectuées par deux (2) opérateurs avec l'essai Revogene Strep A sur un (1) Revogene. Quatre (4) échantillons fortement positifs et quatre (4) échantillons négatifs ont été testés en alternant des échantillons positifs et négatifs dans chaque routine de tests PCR. Pour l'étude de contamination croisée, une routine de tests PCR de huit (8) réplicats d'échantillons fortement positifs, suivie d'une routine de tests PCR de huit (8) réplicats d'échantillons négatifs ont été réalisées par deux (2) opérateurs, pour un total de dix (10) routines de tests PCR sur un (1) Revogene.

L'absence de transfert de contamination et de contamination croisée a été démontrée.

REPRODUCTIBILITÉ

Une étude de reproductibilité inter-sites a été réalisée sur trois (3) sites, par deux (2) opérateurs par site, sur cinq (5) jours distincts, à l'aide d'un (1) lot de trousse Revogene Strep A.

Une étude de reproductibilité inter-lots a été réalisée sur un (1) site par deux (2) opérateurs, sur une période de 15 jours, à l'aide de trois (3) lots de trousse Revogene Strep A (cinq (5) jours par lot). Pour chaque étude de reproductibilité, un total de 120 réplicats pour des échantillons négatifs et 90 réplicats pour chaque catégorie d'échantillons positifs ont été testés en présence d'une matrice de gorge négative pour *S. pyogenes*. Deux (2) souches de *S. pyogenes* ont été utilisées pour les échantillons positifs: ATCC® 12344™ et ATCC® 19615™.

Les catégories d'échantillons ont été décrites comme suit:

- Faible Positif (FP): la souche *S. pyogenes* ATCC® 12344™ a été testée à 650 UFC/mL de tampon d'échantillon.
- Modéré positif (MP): la souche *S. pyogenes* ATCC® 19615™ a été testée à 3000 UFC/mL de tampon d'échantillon
- Négatif (NEG): échantillons sans souche *S. pyogenes*.

Les résultats pour chaque catégorie d'échantillons testée au cours des études de reproductibilité inter-sites et inter-lots sont présentés dans les **Tableaux 8 et 9** respectivement. Pour la reproductibilité entre les sites, le pourcentage de concordance global pour NEG, FP et MP était de 100% (**Tableau 8**). Pour la reproductibilité entre les lots, le pourcentage de concordance global pour NEG, FP et MP était respectivement de 100%, 97,8% et 100% (**Tableau 9**). Les valeurs moyennes globales du seuil de cycle (Ct) avec les composantes de la variance (écart-type et % CV) sont présentées dans les **Tableaux 8 et 9**.

Tableau 8. Résultats de l'Étude de Reproductibilité Inter-Sites Réalisée avec Un (1) Lot de Trousse Revogene Strep A

Catégorie	Souche <i>S. pyogenes</i> (Numéro ATCC®)	Site 1		Site 2		Site 3		Résultats globaux/ Total	% concordance global¹	IC 95% global	Valeurs Ct²		
		Résultats/ Total	% de concordance	Résultats/ Total	% de concordance	Résultats/ Total	% de concordance				Moyenne globale	Écart-type	%CV
FP	ATCC® 12344™	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	96,7%-100%	36,97	1,88	5,10
MP	ATCC® 19615™	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	96,7%-100%	34,98	0,75	2,15
NEG	N/A	40/40	100%	40/40	100%	40/40	100%	120/120	100%	97,5%-100%	28,52	0,69	2,42

¹ Pour la catégorie NEG, le pourcentage de concordance a été calculé pour les résultats négatifs.
² Pour les catégories FP and MP, les valeurs de Ct sont rapportées pour la cible GAS. Pour la catégorie NEG, les valeurs de Ct sont rapportées pour le PrC.

Tableau 9. Résultats de l'Étude de Reproductibilité Inter-Lots Réalisée sur Un (1) Site avec Trois (3) Lots de Trousse Revogene Strep A

Catégorie	Souche <i>S. pyogenes</i> (Numéro ATCC®)	Lot 1		Lot 2		Lot 3		Résultats globaux/ Total	% concordance global¹	IC 95% global	Valeurs Ct²		
		Résultats/ Total	% de concordance	Résultats/ Total	% de concordance	Résultats/ Total	% de concordance				Moyenne globale	Écart-type	%CV
FP	ATCC® 12344™	30/30	100%	29/30	96.6%	29/30	96,7%	88/90	97,8%	92,2%-99,7%	37,85	2,30	6,08
MP	ATCC® 19615™	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	96,7%-100%	35,49	1,61	4,53
NEG	N/A	40/40	100%	40/40	100%	40/40	100%	120/120	100%	97,5%-100%	28,55	0,74	2,61

¹ Pour la catégorie NEG, le pourcentage de concordance a été calculé pour les résultats négatifs.
² Pour les catégories FP and MP, les valeurs de Ct sont rapportées pour la cible GAS. Pour la catégorie NEG, les valeurs de Ct sont rapportées pour le PrC.

PRÉCISION

Une étude de précision a été réalisée sur un (1) site, par deux (2) opérateurs, sur une période de 20 jours en utilisant un (1) lot de trousse Revogene Strep A. Pour chaque catégorie d'échantillons, deux (2) routines de tests PCR par jour avec deux (2) réplicats par routines de tests PCR ont été effectuées pour un total de 80 réplicats.

Pour chaque catégorie, tous les échantillons ont été testés en présence de matrice de gorge négative pour *S. pyogenes*. Deux (2) souches *S. pyogenes* ont été utilisées pour les échantillons positifs: ATCC® 12344™ et ATCC® 19615™.

Les catégories d'échantillons ont été décrites comme suit:

- Faible Positif (FP): la souche ATCC® 12344™ a été testée à 650 UFC/mL de tampon d'échantillon.
- Modérée positive (MP): la souche ATCC® 19615™ a été testée à 3000 UFC/mL de tampon d'échantillon.
- Négatif (NEG): échantillons sans souche *S. pyogenes*

Les résultats de l'étude de précision pour NEG, FP et MP ont montré une concordance de 97,5%, 100% et 100% respectivement (Tableau 10).

Tableau 10. Pourcentage de Concordance de l'Étude de Precision Réalisée sur Un (1) Site avec Un (1) Lot de Trousse Revogene Strep A

Catégorie	Souche <i>S. pyogenes</i> (Numéro ATCC®)	% concordance global ¹	IC 95%global
FP	ATCC® 12344™	100%	96,3%-100%
MP	ATCC® 19615™	100%	96,3%-100%
NEG	N/A	97,5%	91,3%-99,7%

¹ Pour la catégorie NEG, le pourcentage de concordance a été calculé pour les résultats négatifs

ÉTIQUETAGE ÉLECTRONIQUE

Les documents liés à ce produit sont accessibles en ligne à l'adresse suivante: www.meridianbioscience.com/pi. De plus, vous pouvez obtenir des exemplaires papier de ces documents en communiquant avec votre distributeur local ou en composant le numéro de téléphone inscrit sur la boîte du kit.

revogene®

Strep A

Para uso con Revogene®

REF 410400

IVD Para uso diagnóstico *in vitro*

Rx Only

USO PREVISTO

El ensayo Revogene® Strep A, que se realiza en el equipo Revogene, es una prueba diagnóstica cualitativa *in vitro* automatizada, que utiliza reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real, para la detección directa de ácidos nucleicos de *Streptococcus pyogenes* (*Streptococcus* β-hemolítico del grupo A) a partir de muestras faríngeas obtenidas en pacientes con signos y síntomas de faringitis. El ensayo Revogene Strep A está previsto para su uso en el diagnóstico de infección por *Streptococcus* del grupo A.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El *Streptococcus pyogenes*, o *Streptococcus* del grupo A (GAS), es un coco grampositivo anaerobio facultativo, que crece en cadenas y provoca numerosas infecciones en humanos, como faringitis, amigdalitis, escarlatina, celulitis, erisipela, fiebre reumática, glomerulonefritis postestreptocócica, fascitis necrosante, mionecrosis y linfangitis.

El *Streptococcus* del grupo A (GAS) sigue siendo la etiología bacteriana más común y es la causa del 15 % al 30 % de los casos de faringitis aguda en niños y del 5 % al 20 % de los casos en adultos.¹ Debido a que los signos y síntomas de faringitis por GAS se superponen ampliamente con otras causas de infecciones (dolor de garganta, aparición repentina de fiebre alta), dificulta llegar a un diagnóstico basado solamente en resultados clínicos. No obstante, se necesita un diagnóstico preciso para tratar la enfermedad de manera rápida y adecuada, mediante terapia con antibióticos, y evitar posibles complicaciones graves, como la fiebre reumática.

Los métodos convencionales para la detección de infección por GAS incluyen el uso de una prueba rápida de detección de antígeno (RADT) o el cultivo de muestras de exudado faríngeo, seguido por la diferenciación de grupo de Lancefield con aglutinación de látex. Pese a su alto nivel de especificidad, la sensibilidad de RADT puede ser tan baja como del 31 % al 50 %², lo que provoca la necesidad de realizar cultivos de respaldo.^{3,4} Por otro lado, el cultivo puede llevar hasta 48 horas, lo que retrasa el tratamiento antimicrobiano adecuado.⁵ El ensayo Revogene Strep A puede brindar resultados de hasta ocho muestras, en solo 42 minutos para muestras positivas y en 70 minutos, aproximadamente, para muestras negativas, sin necesidad de confirmar los resultados negativos del ensayo Revogene Strep A. El ensayo reduce a un mínimo la intervención del operador, desde la carga de la muestra en el cartucho de microfluidos de una sola uso (PIE) hasta el resultado final.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El Revogene automatiza la homogeneización y dilución de muestras, la lisis celular, la amplificación de ADN y la detección de productos de PCR amplificados. Solamente se necesita la intervención del usuario para descargar las muestras del paciente en el tubo de tampón para muestras (TTM), transferir la muestra desde el TTM al PIE y cargar o descargar los PIE de la cinta de Revogene.

Cada PIE es un dispositivo cerrado totalmente integrado, en el que una muestra se dispensa y se procesa mediante distintas cámaras y canales microfluidicos, que permiten procesar las muestras (esto es, homogeneización y dilución de muestras y lisis celular y extracción de ADN) y realizar los pasos subsiguientes de la PCR en tiempo real (Figura 1). El líquido de una única muestra se transfiere mediante centrifugación, de una cámara a la siguiente en la secuencia. Todos los reactivos específicos para la PCR se incorporan y secan dentro de la cámara de PCR. Se integra un control de proceso (CdP) en cada PIE para verificar el procesamiento de muestras y los pasos de amplificación, incluida la verificación de sustancias potencialmente inhibitorias, así como los fallos en los microfluidos, los reactivos o el equipo. Los productos amplificados se detectan en tiempo real, utilizando sondas químicas TaqMan® específicas de la diana. Después de cargar el PIE en Revogene, no se necesita ninguna intervención por parte del operador.

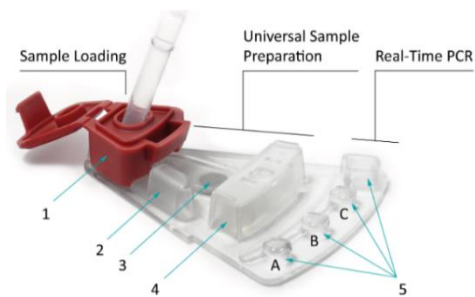


Figura 1. Vista superior de una PIE.
1: Cámara de carga de la muestra, 2: Cámara de desbordamiento, 3: Cámara de homogeneización con CPR en su interior, 4: Cámara de dilución/lisis, 5: Tres (3) pocillos de PCR (A a C de izquierda a derecha) y una (1) Cámara de residuos (en la lado derecho).

El Revogene puede procesar entre una (1) y ocho (8) muestras simultáneamente en una sola serie analítica. La cinta debe contener ocho (8) PIE para mantener el equilibrio termodinámico durante la serie analítica. Durante la serie analítica y una vez que se ha completado, el sistema computa los resultados a partir de las señales de fluorescencia medidas y los algoritmos de cálculo integrados. El usuario puede imprimir, transferir o almacenar los resultados que se muestran en la pantalla táctil mediante el puerto USB o la opción de conectividad.

Una función de resultado positivo temprano (E-PRO) brinda un resultado positivo si la señal del ADN diana alcanza un umbral predeterminado, antes de que hayan finalizado los ciclos de PCR completos. Con E-PRO, se puede obtener un resultado positivo en 42 minutos, aproximadamente, para muestras marcadamente positivas. Para las muestras negativas, el tiempo necesario para obtener el resultado es de 70 minutos.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

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

- 24 tubos de tampón para muestras (SBT): tubo que contiene una solución tampón de TE 1X (Tris-HCl pH 8.0/EDTA.Na₂) como tampón de dilución y conservación para la muestra.
- 24 herramientas desechable de transferencia (DTT): pipeta plástica con marcas de volumen mínimo y máximo, para transferir la muestra del TTM al PIE.
- 24 bolsas individuales, cada una de ellas con un (1) cartucho microfluidico Strep A (PIE): dispositivo integrado que contiene reactivos secos, para permitir el procesamiento de muestras y pasos de PCR en tiempo real, para la amplificación y detección de ADN de CdP y ADN de GBS. Cada PIE incluye un CdP, cebadores específicos de CdP y sonda química TaqMan®, cebadores específicos del gen GBS y sondas químicas TaqMan®, dNTPs, tampón y ADN polimerasa.

MATERIALES/EQUIPOS NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS

- Revogene® (n.º de cat. 610210).
- Guantes desechables sin polvo.
- Torundas de rayón o poliéster, con medios de transporte líquidos Stuart o Amies, compatibles con la recogida de muestras de garganta (Copan n.º de cat 139C, 138C, 140C y 141C; BD n.º de cat. 220146 y 220149).
- Agitadora vortical con una velocidad máxima de al menos 3200 rpm.
- Gasas.
- PIE MOCK (n.º de cat. 610208; opcional).
- Gradilla de muestras (núm. cat. 132539; opcional).

AVISO Y PRECAUCIONES

- El ensayo Revogene Strep A solamente se puede utilizar con Revogene.
- No use el kit si la etiqueta que sella la caja externa está rota al recibir el producto.
- No utilice los PIE Strep A si las bolsitas protectoras están abiertas o rotas al recibir el producto.
- No intercambie DTD, tubo de tampón para muestras ni PIE entre lotes de kits.
- Cada DTD y PIE Strep A de un solo uso sirven para procesar una (1) sola muestra. No reutilice el DTD ni el PIE.
- No utilice la torunda con medios de transporte de gel.
- Manipule todas las muestras como si fueran infecciosas, de acuerdo con las prácticas recomendadas de laboratorio que se describen en Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁶ y en el documento M29-A4 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)⁷.
- Use guantes desechables sin polvo al manipular las muestras y lávese las manos minuciosamente después de hacerlo.
- El PIE Strep A contiene reactivos secos. No se debe abrir la bolsita protectora hasta que todo esté listo para realizar la prueba.
- Deseche los materiales y reactivos no utilizados y los desechos de acuerdo con la legislación local, estatal, provincial, federal o nacional aplicable.
- No abra ni rompa el PIE después de usarlo, de manera de evitar la contaminación con productos de amplificación o partículas infecciosas.
- No utilice un PIE que se haya caído, que haya recibido sacudidas o que se haya invertido después de cargar la muestra, ya que esto puede provocar resultados no válidos.
- No utilice kits que hayan superado la fecha de caducidad indicada.
- No refrigerar los PIE cargados.
- Cada serie analítica se debe realizar con ocho (8) PIE en la cinta del Revogene, de manera de mantener un equilibrio termodinámico y mecánico durante la ejecución de la serie. Coloque los PIE MOCK o los nuevos PIE de ensayo cargados con el tampón de muestra en posiciones vacías, si se están analizando menos de ocho muestras.

DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN

No se conoce ningún riesgo asociado con este producto.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Durante el transporte, las muestras faríngeas se deben almacenar a una temperatura comprendida entre 2 C y 25 C.
2. Las muestras faríngeas pueden almacenarse a 25 C durante un máximo de dos (2) días o a una temperatura comprendida entre 2 C y 8 C durante un máximo de siete (7) días.
3. El TTM inoculado se puede almacenar a 25 C durante un máximo de tres (3) días o a una temperatura comprendida entre 2 C y 8 C durante un máximo de siete (7) días.
4. Almacene el kit Revogene Strep A a una temperatura de 2-25 C. La fecha de caducidad se indica en la etiqueta de la caja del kit.
5. No abra las bolsitas hasta que no esté todo listo para realizar las pruebas. Una vez abierta la bolsita, los PIE se deben utilizar en menos de una (1) hora.

INSTRUCCIONES DE USO

RECOGIDA Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

Tipo de muestra: muestra faríngea de pacientes con signos y síntomas de faringitis, recogida con torundas de rayón o poliéster, con medios de transporte líquidos Stuart o Amies.

1. Con ayuda de la torunda, tome una muestra de la faringe posterior, las amígdalas y otras zonas inflamadas, respetando los métodos clínicos estándar, y coloque la torunda de forma segura en su funda de transporte.
2. Etiquete la funda de transporte con la identificación (ID) de la muestra o del paciente, y envíelo al laboratorio para realizar las pruebas (consulte el apartado **Almacenamiento y estabilidad**).

PREPARACIÓN DEL SBT

NOTA 1: Asegúrese de abrir solo un (1) TTM a la vez y retire solo una (1) torunda por vez de su funda de transporte.

Paso 1

- a. Retire la cantidad adecuada de bolsitas de la caja.

Paso 2

- a. Saque un TTM de la caja del kit por cada muestra que se vaya a analizar.

NOTA: No abra la bolsa hasta que esté listo para cargar el PIE. Comience la prueba antes de que haya pasado (1) hora desde que se abrió la bolsita del PIE.

Paso 3

- a. Identifique (o etiquete) el TTM con la identificación adecuada de la muestra, sin tapar ni escribir sobre los códigos de barras.
- b. Ponga el TTM en la gradilla de muestras de Revogene, en su caso.

Paso 4

- a. Desenrosque la tapa del TTM.
- b. Retire la torunda de su funda de transporte y transfírala al TTM.
- c. Rompa la parte excedente del palillo de la torunda (**Figura 2**):
 - Sostenga el palillo con una gasa.
 - Levante la varilla unos pocos milímetros (mm) del fondo del tubo.
 - Doble el palillo contra el borde del tubo, para romper el palillo.
 - De manera alternativa, use un par de tijeras limpias para cortar el palillo. Desinfecte las tijeras entre una muestra y otra.
 - Deseche la funda de la torunda y el palillo según las prácticas estándar de la institución.
 - Cierre firmemente la tapa del TTM.
- d. Repita el paso 4 para cada muestra que se vaya a analizar.

NOTA: Se debe utilizar una nueva gasa para cada muestra, para evitar la contaminación cruzada entre muestras y aerosoles.



Figura 2. Rompa la torunda en el TTM



Una vez roto, el palillo de la torunda debe ser más corto que el borde del TTM, para descargar correctamente la muestra en el TTM. La tapa del TTM debe cerrarse sin obstáculos desde el palillo de la torunda.

PREPARACIÓN DEL PIE

NOTA 1: Procese de a una (1) muestra a la vez.

NOTA 2: Manipule la DTD solo por la perilla, para evitar la contaminación de la muestra.

Paso 5

- a. Agite el TTM durante al menos 15 segundos a velocidad máxima (> 3200 rpm) con una agitadora vortical.

Paso 6

- a. Abra el precinto de la bolsa del PIE y saque el PIE.
- b. Coloque el PIE Strep A en la gradilla de muestras de Revogene, en su caso, o sobre una superficie plana.

NOTA: Sostenga el PIE por la cámara de dilución o por sus lados, para evitar que se manchen los pocillos de PCR.

Paso 7

- a. Saque un DTD de la caja del kit y aspire el tampón de muestra (TM) inoculado; para ello, apriete del todo el bulbo, coloque la punta de la pipeta en el tampón de muestra y vaya soltando lentamente el bulbo.

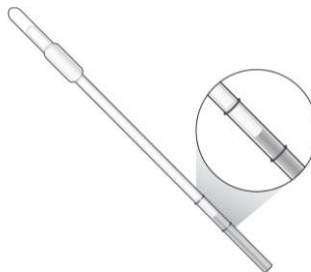


Figura 3. Ejemplo de una nivel adecuado de tampón de muestra (TM) utilizando el dispositivo de transferencia desechable (DTD)

NOTA: No aspire las burbujas.

- b. Apriete la perilla hasta el final para descargar completamente el volumen del tampón de la muestra contenida en la DTD en la cámara de carga de la muestra del PIE (**Figura 8**). Asegúrese de no tocar los bordes externos ni el fondo de la cámara de carga de la muestra con la DTD.
- c. Deseche la DTD según las prácticas estándar de la institución. No reutilice la DTD.
- d. Cierre la tapa del PIE firmemente.
- e. Cierre firmemente la tapa del TTM.
- f. Repita el paso 5 al 7 para las TTM adicionales que haya preparado y, a continuación, vaya al paso 8.

NOTA: Tenga cuidado cuando manipule un PIE cargado. No lo invierta, ni lo agite, ni lo deje caer. En caso de que ocurra esto, deséchelo y prepare un nuevo PIE, comenzando desde el paso 5.

FUNCIONAMIENTO DE REVOGENE
NOTA 1: Consulte el Manual del usuario de Revogene® para obtener más información sobre el funcionamiento de Revogene.

- Paso 8**
- a. Para iniciar sesión, introduzca el **<Nombre de usuario>** y la **<Contraseña>** y toque **<Iniciar sesión>** (Figura 4).
 - b. Toque **<Config. serie analítica>** en el menú principal (se desbloqueará automáticamente la tapa, si es que está cerrada) (Figura 5).
 - c. Abra la tapa y quite el anillo de retención.



Figura 4. Pantalla Iniciar sesión



Figura 5. Pantalla Menú principal (mano sobre el icono Config. Serie analítica)

- Paso 9**
- a. Introduzca la **ID de la muestra** con ayuda del escáner de códigos de barras o del teclado en pantalla:
 - Para escanear el TTM, sosténgalo en posición vertical delante del escáner.
 - Para utilizar el teclado en pantalla, toque el icono del lápiz. Deberá introducir, por segunda vez, la ID de la muestra que introdujo manualmente.
 - b. Escanee el código de barras del TTM y del PIE colocando el PIE en vertical con la tapa en la parte superior (Figura 6).



Figura 6. Escaneo de PIE

NOTA: No invierta, ni agite ni deje caer el PIE cargado. En caso de que ocurra esto, deséchelo y prepare un nuevo PIE, comenzando desde el paso 5.

- c. (Opcional) Toque el icono del **lápiz** de la línea **<ID del paciente>** y escriba el número de ID del paciente con el teclado en pantalla.
- d. (Opcional) Toque el icono del **lápiz** de la línea **<Añadir comentarios>** y escriba un comentario con ayuda del teclado en pantalla.
- e. Introduzca el PIE en la cinta de Revogene tomándolo por sus lados o por la cámara de dilución (Figura 7).
 - Se puede utilizar cualquiera de las ocho (8) posiciones de la cinta. El software asociará automáticamente la muestra y el tubo de tampón para muestras con el PIE correcto.
- f. Toque **<Aceptar>** en la línea **<Insertar el PIE en el instrumento>** para confirmar que se ha insertado el PIE.
- g. Repita el paso 9 para todos los PIE cargados.



Figura 7. Inserción de PIE

Paso 10

- Pulse **<Siguiete>**.
- Si se analizan menos de ocho (8) PIE, cargue los PIE MOCK en las posiciones restantes de la cinta (no es necesario escanear los PIE MOCK) (**Figura 8**). Si no hay ningún PIE MOCK disponible, utilice otros PIE de ensayo sin usar, rellenos con tampón para muestras no inoculado (NEUTRO).
- Toque la **Casilla de verificación Confirmar**.
- Escanee la anilla de sujeción y colóquela en la cinta (**Figura 9**).
- Cierre la tapa del equipo.
- Toque **<Iniciar>** para comenzar con la prueba (**Figura 10**).
 - Un temporizador en la pantalla y luces en la tapa de Revogene mostrarán el avance de la prueba.
- Almacene el SBT inoculado en condiciones adecuadas (consulte el apartado **Almacenamiento y estabilidad**) para reiterar la prueba, si fuera necesario.

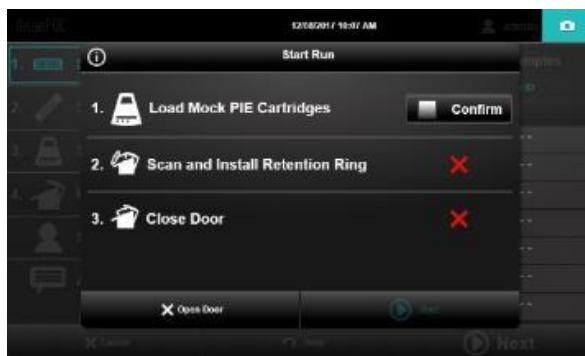


Figura 8. Añadir PIE MOCK



Figura 9. Colocar anilla de sujeción

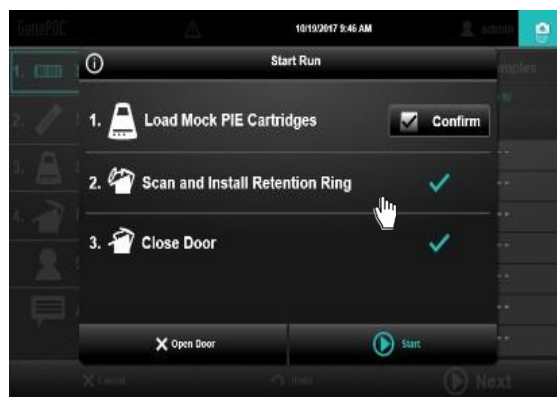


Figura 10. Confirmar inicio de serie analítica

VISUALIZAR EXPORTAR RESULTADOS

Paso 11 - Durante la serie

- Si las luces que indican el avance de la serie analítica en Revogene comienzan a parpadear, se trata de la notificación de un resultado positivo temprano (E-PRO). También aparecerá 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 este momento (Figura 11). Este número aumentará si se obtienen otros resultados positivos.



Figura 11. Icono de E-PRO

- Introduzca <Nombre de usuario> y <Contraseña> y toque <Iniciar sesión> si se ha cerrado la sesión de usuario.
- Toque el icono **E-PRO**.
- Los resultados de la serie analítica actual se enumeran automáticamente en la pantalla (Figura 12). Para cada línea de muestra habrá un símbolo que indique "Positivo" o un símbolo que indique "En curso". El símbolo correspondiente a "En curso", que consiste en una animación rotativa, se muestra hasta que se obtiene un resultado positivo o hasta que se completa la serie.
- Toque un símbolo de resultado positivo para abrir el informe provisional.
- (Opcional) Toque <Exportar> y guarde el informe provisional donde corresponda (por ej. en una llave USB o en una opción de conectividad).

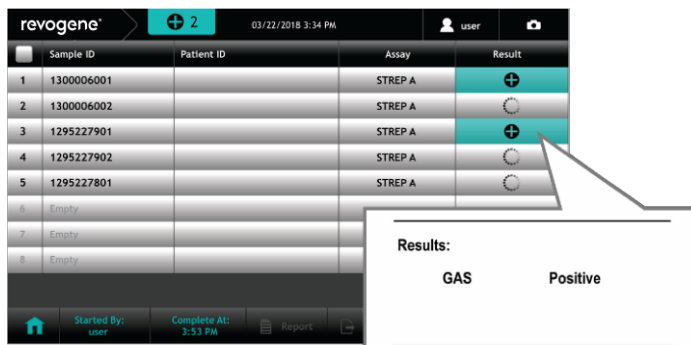


Figura 12. Pantalla Resultados en curso

Una vez que se consulta la pantalla de resultados, desaparecen las notificaciones de E-PRO. Al detectar un nuevo resultado positivo temprano, aparecerán nuevas notificaciones de E-PRO.

Todo resultado de muestra que aparezca en el informe provisional es un resultado final y permanecerá sin cambios en el informe final del resultado del ensayo.

Paso 12 - Al final de la serie

- Una vez finalizada la serie analítica, la tapa se abre automáticamente.
- Introduzca <Nombre de usuario> y <Contraseña> y toque <Iniciar sesión> si se ha cerrado la sesión de usuario.
- Toque el icono **Resultados** (Figura 13).
- Los resultados de la última serie analítica se enumeran automáticamente en la pantalla.
- Seleccione muestras para las que se deben exportar informes de resultados:
 - Para seleccionar todas las muestras a la vez, haga clic en la casilla ubicada en la esquina superior izquierda de la pantalla.
- Toque <Exportar> y guarde el informe final del resultado del ensayo donde corresponda (por ej., en una llave USB o en una opción de conectividad) (Figura 14).
- De forma alternativa:
 - Toque <Buscar> para buscar una muestra determinada y su resultado.

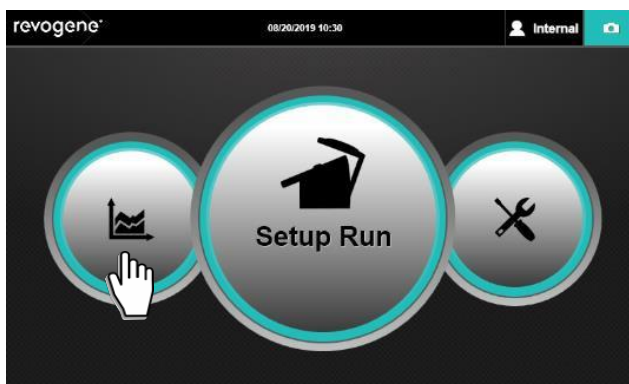


Figura 13. Pantalla Menú principal (mano sobre el icono Resultados)



Figura 14. Pantalla Resultados finales

Paso 13

- Quite la anilla de sujeción.
- Saque los PIE del Revogene:
 - Deseche los PIE según las prácticas estándar de la institución.

NOTA: No deseche los PIE MOCK, porque se pueden reutilizar. Limpie y descontamine el PIE MOCK siguiendo las instrucciones del folleto del envase del PIE MOCK.

REPETIR PROCEDIMIENTO DE PRUEBAS

MUESTRAS CON RESULTADO NO RESUELTO O INDETERMINADO

Quando se obtiene el resultado no resuelto (NOR) o indeterminado (IND) para una muestra, se debe repetir la prueba con el TTM inoculado correspondiente, dentro del tiempo especificado que se describe en el apartado Almacenamiento y estabilidad. Solo se puede realizar una (1) prueba repetida con el TTM.

Utilice el TTM inoculado correspondiente para cargar un nuevo PIE desde el mismo lote de kit. Siga las instrucciones del apartado Preparación del PIE desde el paso 5 y, a continuación, pase al apartado Funcionamiento de Revogene.

RESULTADO NO RESUELTO O INDETERMINADO PARA UN CONTROL EXTERNO

Quando se obtiene un resultado no resuelto (UNR) o indeterminado (IND) para un control externo, la serie analítica no es válida. Se debe repetir la prueba para los controles externos positivo y negativo, con el TTM inoculado correspondiente, dentro del tiempo especificado que se describe en el apartado Almacenamiento y estabilidad. Las muestras incluidas en la serie analítica se deben repetir utilizando el TTM inoculado correspondiente. Solo se puede realizar una (1) prueba repetida con el TTM.

Utilice el TTM inoculado correspondiente para cargar un nuevo PIE desde el mismo lote de kit. Siga las instrucciones del apartado Preparación del PIE desde el paso 5 y, a continuación, pase al apartado Funcionamiento de Revogene.

RESULTADO FALSO NEGATIVO O FALSO POSITIVO PARA UN CONTROL EXTERNO

Quando se obtiene un resultado falso negativo o falso positivo para un control externo, la serie analítica no es válida. Ambos controles se deben repetir utilizando un nuevo juego de controles externos.

Asimismo, se debe proceder a repetir las pruebas con todas las muestras de la serie analítica, con el TTM inoculado correspondiente, dentro del tiempo especificado que se describe en el apartado Almacenamiento y estabilidad, con un nuevo juego de controles externos. Solo se puede realizar una (1) prueba repetida con el TTM.

Consulte las instrucciones del apartado Control de calidad para preparar controles externos nuevos.

Con una bolsita nueva, siga las instrucciones del paso 5 del apartado Preparación del PIE y, a continuación, pase al apartado Funcionamiento de Revogene.

CONTROL DE CALIDAD

Los procedimientos de control de calidad supervisan la exactitud y la precisión del proceso de análisis. Cada laboratorio debe establecer el número, el tipo y la frecuencia de uso de los materiales de control de los ensayos según las normas aplicables o las agencias acreditadoras. En su caso, se puede aplicar el procedimiento descrito a continuación, en función de los procedimientos y políticas locales.

CONTROL DE PROCESO

Cada PIE Strep A contiene un control de proceso (CdP) que permite verificar la homogeneización y dilución de muestras, la lisis celular, la inhibición de la amplificación de ADN y los fallos de reactivos de ensayo.

CONTROLES EXTERNOS

NOTA 1: Para cada preparación de control externo, se debe utilizar una DTD, un tubo de tampón para muestras y PIE independientes.

1. Las prácticas recomendadas de laboratorio incluyen el uso de materiales de control. El usuario debe seguir las directrices adecuadas en relación con la realización de controles externos. Se recomienda realizar un (1) control externo positivo y un (1) control externo negativo al menos una vez al día, hasta conseguir la validación de procesos adecuada con el ensayo Revogene Strep A en Revogene, con todas las configuraciones de laboratorio.

2. Meridian Bioscience, Inc. no suministra materiales de control externo. El software de Revogene no utiliza los controles externos para la interpretación de resultados de pruebas de muestras. Los controles externos se manejan como si fueran muestras.

3. Antes de informar los resultados positivos tempranos de la muestra, procure contar con resultados de controles externos positivos y negativos válidos.

Controles externos positivos

Se recomienda utilizar una suspensión celular de una cepa de Streptococcus pyogenes, a partir de una cepa disponible comercialmente (por ejemplo, ATCC® 12344™) preparada a 0,5 ± 0,05 de McFarland diluida 1/100 en solución salina (por ejemplo, solución salina preparada BD BBL™, n.º de cat. 221819), como control externo positivo.

Control externo negativo

Se recomienda utilizar una suspensión celular de una cepa de Streptococcus salivarius, a partir de una cepa disponible comercialmente (por ejemplo, ATCC® 13419™), preparada a 0,5 ± 0,05 de McFarland en solución salina (por ejemplo, solución salina preparada BD BBL™, n.º de cat. 221819), como control externo negativo.

1. Procese y analice las preparaciones de control externo de acuerdo con el apartado Instrucciones de uso.

2. En el paso 4, retire una torunda compatible nueva de su funda de transporte y sumérjala rápidamente en la suspensión de control externo positivo o negativo (procure sumergir completamente la punta de la torunda en el líquido).

3. Transfiera la torunda al SBT.

4. Continúe con el procedimiento, siguiendo las instrucciones del apartado Instrucciones de uso, en el paso 4-C.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El equipo Revogene computa los resultados a partir de las señales de fluorescencia medidas mediante algoritmos de cálculo integrados. Los resultados están disponibles en la ventana "Resultados". Estos son los posibles resultados:

Muestra	Símbolo que se muestra en la pantalla del usuario	Resultado diana notificado	Interpretación
Muestra del paciente		Positivo	Se ha detectado ADN del GBS diana.
		Negativo	No se ha detectado ADN del GBS diana.
		No resuelto	Error de amplificación/detección en el control de proceso, así como en el ADN del GBS diana. Se puede deber a la presencia de sustancias inhibidoras, o a fallos de microfluidos o reactivos. Se debe repetir la prueba (consulte las instrucciones en el apartado Repetir procedimiento de pruebas).
		Indeterminado	No se puede informar un resultado, probablemente debido a un error detectado en Revogene durante el procesamiento del ensayo, el análisis de los datos o si el usuario interrumpe la serie analítica. Se debe repetir la prueba (consulte las instrucciones en el apartado Repetir procedimiento de pruebas).
		En curso	Los resultados aún no están disponibles.
Control externo positivo		Positivo	Resultado válido en el control positivo externo.
		Negativo	Si un control positivo externo arroja un resultado negativo, significa que ha habido algún problema con la preparación o el manejo de la muestra. La serie analítica no es válida. Revise la técnica de manejo y preparación de la muestra.
		No resuelto	Resultado incorrecto en el control positivo externo. La serie analítica no es válida. Se debe repetir la prueba (consulte las instrucciones en el apartado Repetir procedimiento de pruebas).
		Indeterminado	Resultado incorrecto en el control positivo externo. La serie analítica no es válida. Se debe repetir la prueba (consulte las instrucciones en el apartado Repetir procedimiento de pruebas).
		En curso	Los resultados aún no están disponibles.
Control externo negativo		Positivo	Si un control negativo externo arroja un resultado positivo, significa que ha habido contaminación en el manejo de la muestra. La serie analítica no es válida. Revise la técnica de manejo de la muestra.
		Negativo	Resultado válido en el control negativo externo.
		No resuelto	Resultado incorrecto en el control externo negativo. La serie analítica no es válida. Se debe repetir la prueba (consulte las instrucciones en el apartado Repetir procedimiento de pruebas).
		Indeterminado	Resultado incorrecto en el control externo negativo. La serie analítica no es válida. Se debe repetir la prueba (consulte las instrucciones en el apartado Repetir procedimiento de pruebas).
		En curso	Los resultados aún no están disponibles.

39

- LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**
1. El ensayo Revogene Strep A no puede distinguir entre portadores asintomáticos de *Streptococcus* del grupo A y quienes sufren una infección debida a estreptococos.
 2. Es necesario realizar otras pruebas de seguimiento con el método de cultivo, si el resultado es negativo y persisten los síntomas clínicos, o en el caso de un brote de fiebre reumática aguda (ARF).
 3. El ensayo Revogene Strep A solo debe utilizarse en Revogene y solo debe realizarlo personal con la formación adecuada.
 4. El ensayo Revogene Strep A no proporciona resultados de susceptibilidad. Para realizar pruebas de susceptibilidad se requieren aislamientos en medio de cultivo.
 5. Las características de rendimiento clínico del ensayo Revogene Strep A se establecieron solo con muestras faríngeas recogidas con torundas de rayón, en medios de transporte líquidos Stuart o Amies (Copan n.º de cat. 138C y 139C). Por otra parte, se analizaron analíticamente las muestras faríngeas recogidas con torundas de rayón o poliéster, en medios de transporte líquidos Stuart o Amies (Copan n.º de cat. 140C y 141C; BD n.º de cat. 220146 y 220149). No se recomienda el uso de torunda de rayón BD CultureSwab™ MaxV en medios de transporte líquidos Amies, con el ensayo Revogene Strep A (BD n.º de cat. 220232). No se ha evaluado el uso del ensayo Revogene Strep A con muestras clínicas, en sistemas de recogida y transporte que no sean los especificados y no se han establecido las características de rendimiento correspondientes.
 6. Los resultados del ensayo Revogene Strep A se deben utilizar como complemento a las observaciones clínicas y a otra información disponible para el médico.
 7. Los resultados del ensayo pueden verse afectados por un tratamiento antimicrobiano simultáneo, puesto que el posible que se siga detectando ADN de GBS.
 8. Un resultado positivo del ensayo no indica de forma necesaria la presencia de organismos viables. Sin embargo, sí indica la presencia de ADN de GBS.
 9. Las pruebas pueden ofrecer resultados erróneos por una recogida, manipulación o almacenamiento incorrectos de las muestras, errores técnicos, mezcla de muestras, o porque la prueba no contiene una carga de ADN bacteriano suficiente para que el ensayo lo detecte. Para evitar errores en los resultados, es necesario seguir cuidadosamente las instrucciones de este folleto y las directrices establecidas en el Manual del usuario de Revogene.
 10. Si un PIE no está cerrado correctamente, o si se ha caído una gota en los bordes de la cámara de carga de muestras, puede haber contaminación o falsos negativos.
 11. La presencia de mutaciones o polimorfismos en las regiones de unión de las sondas o de los cebadores puede afectar a la detección de variantes del gen *S. pyogenes* y dar como resultado un falso negativo con el ensayo Revogene Strep A.
 12. Sustancias como analgésico / antipirético (por ejemplo, Tylenol®), medicamento antiinflamatorio no esteroideo (Advil®), broncodilatador (por ejemplo, sulfato de albuterol) o mucina pueden interferir, potencialmente, con el ensayo Revogene Strep A, cuando alguna de ellas se encuentra presente en el tampón de la muestra, a una concentración de > 0,4 % (P/V).
 13. El medicamento antiinflamatorio no esteroideo (Aspirin®) o la sangre entera pueden interferir, potencialmente, con el ensayo Revogene Strep A, con la presencia de alguna de estas sustancias en el tampón de la muestra, a una concentración de > 0,1 % (P/V o V/V).
 14. Un efecto combinatorio de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius* y *Moraxella catarrhalis*, en $\geq 10^6$ CFU/mL de tampón para muestras o la presencia de *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae*, en $\geq 10^6$ CFU/mL de tampón para muestras, puede tener un efecto inhibitorio en la detección de *S. pyogenes*.

VALORES ESPERADOS

En un ensayo clínico prospectivo, se recogió un total de 767 muestras faríngeas en siete (7) centros geográficamente diversos en Estados Unidos y Canadá, de febrero a julio de 2018. De las 604 muestras que cumplieron todos los criterios de inclusión sin cumplir ninguno de los criterios de exclusión, 154 fueron positivas en función del método de referencia, para una prevalencia observada del 25,5 % [154/604; 95 %CI 22,2 % - 29,1 %]. El porcentaje de resultados positivos que se observaron con el ensayo Revogene Strep A en la población del estudio fue de 29,0 % [175/604; 95 %CI 25,5 % - 32,7 %].

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO CLÍNICO

El rendimiento del ensayo Revogene Strep A se estableció en un ensayo clínico prospectivo realizado en ocho (8) centros geográficamente diversos (siete (7) centros de recogida y un (1) centro de referencia) en Estados Unidos y Canadá, de febrero a julio de 2018.

Se recogieron muestras faríngeas dobles en pacientes con signos y síntomas de faringitis, con la excepción de pacientes bajo terapia con antibióticos, que pueden afectar la viabilidad del género *Streptococcus*. Una (1) torunda se analizó con el ensayo Revogene Strep A en uno (1) de los siete (7) centros clínicos, mientras que la segunda torunda se envió a un (1) laboratorio central por país (uno (1) en Canadá y uno (1) en Estados Unidos) para la prueba del método de referencia. Cuando llegó al laboratorio central para la prueba del método de referencia, se inoculó una placa de agar sangre (BAP) con la segunda torunda de las muestras faríngeas dobles. Después de la incubación, las colonias que se asemejan morfológicamente a *S. pyogenes* se aislaron en una nueva BAP. Los aislados se caracterizaron e identificaron nuevamente mediante prueba de catalasa, tinción de gram, aglutinación de látex y MALDI-TOF.

Se calcularon los valores de sensibilidad, especificidad, valor de predictivo positivo (PPV) y valor predictivo negativo (NPV) por comparación de los resultados del ensayo Revogene Strep A con el método de referencia. Se realizó un análisis de discrepancias en muestras en las que se obtuvieron resultados con discrepancias, entre el ensayo Revogene Strep A y el método de referencia, con una PCR alternativa, para la amplificación y detección de *S. pyogenes*, seguido por una secuenciación bidireccional del producto amplificado.

RESULTADOS

De las 767 muestras participantes, 163 muestras quedaron excluidas: tres (3) no cumplían con los procedimientos de pruebas de Revogene, 13 se retrasaron demasiado en el envío, 23 no cumplían con los criterios de inclusión, 27 no tenían resultados completos de las pruebas y 97 no cumplían con el protocolo de cultivo de referencia.

Se utilizó un total de 604 muestras para establecer el rendimiento del ensayo Revogene Strep A, en comparación con el cultivo bacteriano. La demografía de la población del estudio se muestra en la **Tabla 1**.

Grupo etario		Todos los sujetos (N = 604)
Mayor de 24 meses a 12 años		278 (46,03 %)
13 a 21 años		80 (13,25 %)
22 a 64 años		235 (38,91 %)
65 años en adelante		11 (1,82 %)
Origen étnico		
Blanco		186 (30,79 %)
Negro o afroamericano		231 (38,25 %)
Hispano		97 (16,06 %)
Asiático		5 (0,83 %)
Desconocido		85 (14,07 %)

COMPARACIÓN CON EL MÉTODO DE REFERENCIA

El rendimiento clínico del ensayo Revogene Strep A, comparado con los resultados del método de referencia, se muestra en la **Tabla 2**.

El ensayo Revogene Strep A demostró 98,1 % de sensibilidad (151/154; 95 % CI: 94,4 - 99,3) y 94,7 % de especificidad (426/450; 95 % CI: 92,2 - 96,4) en comparación con el método de referencia.

Tabla 2. Características de rendimiento general del ensayo Revogene Strep A en comparación con el método de referencia

		Método de referencia		
		Positivo	Negativo	Total
Revogene Strep A	Positivo	151	24 ^a	175
	Negativo	3 ^b	426	429
	Total	154	450	604
Sensibilidad		98,1 % [95 % CI: 94,4 - 99,3]		
Especificidad		94,7 % [95 % CI: 92,2 - 96,4]		
Valor de predictivo positivo		86,3 % [95 % CI: 80,4 - 90,6]		
Valor predictivo negativo		99,3 % [95 % CI: 98,0 - 99,8]		

^a Resultados de la PCR alternativa con secuenciación bidireccional: 17 de 24 fueron Strep A positivo; seis (6) de 24 fueron Strep A negativo y uno (1) fue no concluyente.

^b Resultados de la PCR alternativa con secuenciación bidireccional: uno (1) de tres (3) fue Strep A positivo y dos (2) fueron no concluyentes.

La tasa inicial general de no resolución fue de 0,5 % (3/610) y 0,2 % (1/610) después de reiterar la prueba. La tasa inicial general de no determinación fue de 1,1 % (7/610) y de 0,8 % (5/610) después de reiterar la prueba. La tasa no informable inicial general fue de 1,6 % (10/610) y 1,0 % (6/610) luego de la repetición del ensayo.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO ANALÍTICO

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

La sensibilidad analítica (límite de detección, LdD) del ensayo Revogene Strep A se determinó con una matriz de muestras faríngeas clínicas (cuyo resultado anterior había sido negativo para *S. pyogenes*) y adicionada con diferentes concentraciones de suspensiones bacterianas de *S. pyogenes*. Se analizaron tres (3) cepas de *S. pyogenes* (ATCC® 12344™, ATCC® 19615™, ATCC® 700942™) en 24 réplicas por concentración. El LdD se define como la concentración más baja a la que es 95 % o más de todas las réplicas dieron un resultado positivo en la prueba.

En cuanto a las tres (3) cepas analizadas, el LdD del ensayo Revogene Strep A fluctuó entre 333 y 1333 CFU/mL de SB (**Tabla 3**). Las concentraciones preliminares de LdD se confirmaron analizando veinte (20) réplicas de cada cepa.

Cepas de <i>S. pyogenes</i> (Número de ATCC®)	LdD (UFC/mL de SB)
ATCC® 12344™	333
ATCC® 19615™	1000
ATCC® 700942™	1333

INCLUSIÓN

Se determinó la inclusión del ensayo Revogene Strep A para 12 cepas de *S. pyogenes* que representan seis (6) tipos diferentes de secuencia *emm* de diversos orígenes geográficos. Se analizaron nueve (9) cepas de una cultivo de célula cuantificado, en presencia de una matriz de muestra faríngea *S. pyogenes* negativa, con una carga de 999 CFU/mL de SB, que corresponde a tres (3) veces el valor de LdD de la cepa ATCC® 12344™. Se analizaron nueve (9) réplicas por cepa con tres (3) lotes de kit Revogene Strep A distintos. Se detectaron ocho (8) cepas con 100 % de positividad (en 9/9 réplicas), mediante el ensayo Revogene Strep A, con una carga de 999 CFU/mL de SB. La cepa de *S. pyogenes* ATCC® 49399™ se detectó con 100 % de positividad con una carga de 1667 CFU/mL de SB. Las cepas analizadas se describen en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Cepas de *S. pyogenes* analizadas para inclusión con el ensayo Revogene Strep A

Cepas de <i>S. pyogenes</i>	Grupo de Lancefield	Tipo <i>emm</i>
ATCC® 12384™	A	3
ATCC® 49399™	A	N/D
CCUG 33409	A	N/D
CCUG 39158	A	N/D
CCUG 53553	A	N/D
ATCC® 700952™	A	92
ATCC® 700294™	A	1
ATCC® 12357™	A	18
CCUG 65322	A	N/D
ATCC® 19615™ ¹	A	80
ATCC® 12344™ ¹	A	1
ATCC® 700942™ ¹	A	82

¹ Cepas utilizadas para la determinación de LdD y que, por lo tanto, no se volvieron a analizar.

Además, se realizó un análisis *in silico*, el 8 de agosto de 2018, para evaluar la inclusión de los cebadores y la sonda de la diana del ensayo Revogene Strep A, con respecto a las cepas de *S. pyogenes* 123 incluidas en la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI). Este análisis incluyó secuencias de cepas *S. pyogenes* de tipos *emm* significativos, incluidas en vacunas candidatas frente a Streptococci del grupo A⁹. Los resultados de alineación no mostraron coincidencia con las 122 secuencias. Una (1) variante presentó una falta de coincidencia en la región correspondiente a la sonda de *S. pyogenes*. No obstante, esta variante se considera detectable por el ensayo Revogene Strep A. El análisis predijo la detección de todas estas cepas de *S. pyogenes*.

REACTIVIDAD CRUZADA

La reactividad cruzada del ensayo Revogene Strep A se evaluó con cargas elevadas de organismos que no son la diana del ensayo o que tienen relación filogenética con *S. pyogenes*, o que se encuentran en muestras faríngeas clínicas. El estudio incluyó 42 bacterias, una (1) levadura, seis (6) virus y ADN humano (**Tabla 5**). Las bacterias y la levadura se analizaron con una carga de 10⁸ UFC/mL de SB. Se analizaron ácidos nucleicos de virus y ADN humano con una carga de 10⁵ copias de ADN o ARN/mL de SB. Estos organismos se analizaron mediante cultivos de células cuantificados o soluciones de ácido nucleico, en presencia de una matriz de muestra faríngea *S. pyogenes* negativa. Cada organismo se analizó en triplicados PCR.

En las condiciones del estudio, todos los organismos y ácidos nucleicos resultaron no reactivos al ensayo Revogene Strep A.

La reactividad cruzada con cebadores y sondas del ensayo Revogene Strep A se evaluó mediante un análisis *in silico* realizado en secuencias incluidas en la base de datos del NCBI, el 8 de agosto de 2018. No se encontró una diana diferente a *S. pyogenes* con un nivel significativo de homología con los cebadores y sondas de *S. pyogenes*.

Tabla 5. Lista de organismos analizados para pruebas de reactividad cruzada con el ensayo Revogene Strep A

Bacterias	
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Streptococcus anginosus</i> subsp. <i>whitleyi</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus canis</i>
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Streptococcus constellatus</i> subsp. <i>viborgensis</i>
<i>Haemophilus influenza</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i> *
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>
<i>Legionella jordanis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Legionella micdadei</i> (<i>Tatlockia micdadei</i>)	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Neisseria subflava</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Parvimonas micra</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus suis</i>
<i>Serratia marcescens</i>	<i>Veillonella parvula</i>
Levadura	
<i>Candida albicans</i>	
Virus	
Adenovirus tipo 1	Adenovirus tipo 11 (Slobitski)
Influenza B/Taiwan/2/62	Influenza A/Aichi/2/68/H3N2
Rinovirus tipo 17	Virus de la parainfluenza 4b
ADN humano	
ADN humano	

*Cepa ATCC diferente

ORGANISMOS DE INTERFERENCIA

Se evaluó el efecto potencialmente inhibidor de 30 organismos que pueden estar presentes en la flora normal de la garganta, la boca o el tracto respiratorio, y no son la diana del ensayo, utilizando organismos seleccionados del estudio de reactividad cruzada (Tabla 6). Cada categoría de los organismos (es decir, bacterias, levaduras, virus) se representó con una atención especial para incluir los agentes causantes de infecciones al tracto respiratorio más frecuentes. Se realizaron tres pruebas en grupos de uno (1) a cuatro (4) organismos, con 999 CFU/mL de SB que contenía la cepa ATCC® 12344™ de *S. pyogenes*, 3000 CFU/mL de SB que contenía la cepa ATCC® 19615™ de *S. pyogenes* o muestras negativas de *S. pyogenes* en presencia de una matriz de muestra faríngea *S. pyogenes* negativa para evaluar su posible interferencia en la detección de *S. pyogenes* o CdP. Cada organismo dentro del grupo se diluyó para alcanzar una carga de 10⁶ CFU/mL de SB para bacteria y levadura y 10⁵ copias/mL de SB para virus. Los 30 organismos incluidos en el estudio se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Lista de organismos sometidos a pruebas para interferencia con el ensayo Revogene Strep A

Grupo 1	
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>
<i>Haemophilus influenza</i>	<i>Bordetella pertussis</i>
Grupo 2	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Parvimonas micra</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
Grupo 3	
<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Streptococcus anginosus</i> subsp. <i>whileyi</i>
<i>Streptococcus constellatus</i> subsp. <i>viborgensis</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>
Grupo 4	
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>	
Grupo 5	
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>	
Grupo 6	
<i>Streptococcus gordonii</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>
Grupo 7	
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Grupo 8	
<i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Grupo 9	
Adenovirus tipo 1	Influenza B/Taiwan/2/62
Rinovirus tipo 17	Influenza A/Aichi/2/68/H3N2

Ninguno de los 30 organismos presentes en 10⁶ UFC/mL de SB para bacterias y levadura y 10⁵ copias/mL de SB para virus interfirió con la detección de CdP o con la cepa ATCC® 19615™ de *S. pyogenes*.

Los organismos incluidos en el grupo 5 y en el grupo 7 mostraron un efecto potencialmente inhibidor en la detección de la cepa ATCC® 12344™ de *S. pyogenes*. No obstante, la cepa *S. dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae* no mostró interferencia con una carga de 10⁵ CFU/mL de SB. Cuando cada organismo del grupo 7 se sometió a pruebas individualmente con una carga de 10⁶ UFC/ mL de SB en presencia de la cepa ATCC® 12344™ de *S. pyogenes*, no se observó ninguna interferencia.

SUSTANCIAS DE INTERFERENCIA

Se evaluó el efecto potencialmente inhibidor de 16 sustancias exógenas y tres (3) endógenas que pueden estar presentes en una muestra faríngea, utilizando muestras negativas de *S. pyogenes* y cepas ATCC® 12344™ y ATCC® 19615™ de *S. pyogenes*, que contenían muestras de tres (3) veces el LdD (999 CFU/mL de SB y 3000 CFU/mL de SB, respectivamente), en presencia de la matriz de muestra faríngea *S. pyogenes* negativa. Las sustancias se sometieron a pruebas en la concentración potencialmente más alta que puede encontrarse en una muestra faríngea. Los resultados para las 19 sustancias se muestran en la Tabla 7.

Los resultados demostraron que el analgésico / antipirético (Tylenol®), el medicamento antiinflamatorio no esteroideo (Aspirin®, Advil®), el broncodilatador (sulfato de albuterol), la sangre entera y la mucina mostraron un efecto potencialmente inhibidor en la detección de CdP o *S. pyogenes* cuando alguna de estas sustancias se encontraba presente en el SBT, a una concentración de 4,3 % (P/V o V/V). Estas sustancias no mostraron interferencia informable con el ensayo Revogene Strep A cuando se analizaron en 0,4 % (P/V) para Tylenol®, Advil®, sulfato de albuterol y mucina, o en 0,1 % (P/V) o 0,1 % (V/V) para Aspirin® y sangre entera, respectivamente.

Tabla 7. Lista de sustancias exógenas y endógenas analizadas con el ensayo Revogene Strep A

Sustancias exógenas	
Sustancia (nombre comercial)	Concentración en SB sin interferencia observada ¹
Analgésico / antipirético (Tylenol®)	0,4 % (P/V)*
Medicamento antiinflamatorio no esteroideo (Aspirin®)	0,1 % (P/V)*
Medicamento antiinflamatorio no esteroideo (Advil®)	0,4 % (P/V)*
Broncodilatador (sulfato de albuterol)	0,4 % (P/V)*
Descongestivo nasal (Zicam®)	4,3 % (P/V)
Pastillas para la tos (Halls Mentho-Lyptus)	4,3 % (P/V)
Pastillas para la tos (Cépacol® Extra Strength)	4,3 % (P/V)
Pastillas para la tos (Screts® Complete)	4,3 % (P/V)
Dentífrico (Crest® Pro-Health Advanced)	0,56 % (P/V)
Enjuague bucal (Crest® Scope® Classic)	4,3 % V/V)
Enjuague bucal (Listerine® Ultraclean)	4,3 % V/V)
Jarabe para la tos (NyQuil™ Complete)	4,3 % V/V)
Jarabe para la tos (Dimetapp®)	4,3 % V/V)
Jarabe para la tos (Robitussin® Cough Control Extra Strength)	4,3 % V/V)
Jarabe para la tos (Robitussin Total® Cough, Cold & Flu Extra Strength Nighttime)	4,3 % V/V)
Antihistamínicos (Benadryl® Allergy Elixir)	4,3 % V/V)
Sustancias endógenas	
Sustancia	Concentración en SB sin interferencia observada ¹
Saliva humana	4,3 % (V/V)
Sangre entera	0,1 % V/V)*
Mucina de la glándula submaxilar de bovino	0,4 % (P/V)*

¹ P/V: Peso/Volumen; V/V: Volumen/Volumen

*Las concentraciones superiores a estos valores pueden causar interferencias (consultar limitaciones indicadas más arriba).

CONTAMINACIÓN REMANENTE Y CRUZADA

Se evaluó la contaminación remanente y cruzada, dentro de una misma serie y entre distintas series, utilizando muestras positivas analizadas en presencia de la matriz de muestra faríngea *S. pyogenes* negativa. Se prepararon muestras positivas con la cepa ATCC® 12344™ de *S. pyogenes* a una concentración final de 10⁶ CFU/mL de SB. Se analizaron, además, muestras negativas en presencia de la matriz de muestra faríngea *S. pyogenes* negativa.

Para el estudio remanente, dos (2) operadores llevaron a cabo diez (10) series con el ensayo Revogene Strep A en un (1) Revogene. Se analizaron cuatro (4) muestras positivas altas y cuatro (4) muestras negativas, alternando muestras positivas y negativas en cada serie analítica. Para el estudio de contaminación cruzada, dos (2) operadores llevaron a cabo una serie de ocho (8) réplicas de muestras positivas altas, seguida de una serie de ocho (8) réplicas de muestras negativas, para un total de diez (10) series en un (1) Revogene.

Se demostró la ausencia de contaminación remanente y cruzada.

REPRODUCIBILIDAD

Se ha realizado un estudio de reproducibilidad entre centros en tres (3) centros, con dos (2) operadores por centro, en cinco (5) días distintos, con un (1) lote de kit de ensayo Revogene Strep A.

El estudio de reproducibilidad entre lotes se ha realizado en un (1) centro, con dos (2) operadores, en 15 días con tres (3) lotes de kit de ensayo Revogene Strep A (cinco (5) días por lote de kit). Para cada estudio de reproducibilidad, se ha analizado un total de 120 réplicas de muestras negativas y 90 réplicas de cada categoría de muestras positivas, en presencia de la matriz de muestra faríngea *S. pyogenes* negativa. Se utilizaron dos (2) cepas de *S. pyogenes* para muestras positivas: ATCC® 12344™ y ATCC® 19615™.

Las categorías de las muestras se describieron de la siguiente manera:

- Positivo bajo (LP): la cepa ATCC® 12344™ de *S. pyogenes* se analizó a 650 CFU/mL de SB.
- Positivo moderado (MP): se analizó una cepa ATCC® 19615™ de *S. pyogenes* a 3000 CFU/mL de SB.
- Negativo (NEG): muestras sin cepa de *S. pyogenes*

Los resultados de cada categoría de muestras analizadas durante los estudios de reproducibilidad entre centros y entre lotes se muestran en las **Tablas 8 y 9** respectivamente. Para la reproducibilidad entre centros, la coincidencia porcentual general para NEG, LP y MP fue del 100 % (**Tabla 8**). Para la reproducibilidad entre lotes, la coincidencia porcentual general para NEG, LP y MP fue de 100 %, 97,8 % y 100 % respectivamente (**Tabla 9**). Los valores de umbral de ciclo (Ct) medios generales con componentes de variación (SD y CV%) se muestran en las **Tablas 8 y 9**.

Tabla 8. Resultados del estudio de reproducibilidad entre centros, con un (1) lote de kit de ensayo Revogene Strep A

Categoría	Cepa de <i>S. pyogenes</i> (número de ATCC®)	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Resultados generales/ Total:	Coincidencia porcentual general ¹	95 % CI general	Valores de Ct ²		
		Resultados/ Total	Coincidencia porcentual	Resultados/ Total	Coincidencia porcentual	Resultados/ Total	Coincidencia porcentual				Medio general	SD	% CV
LP	ATCC® 12344™	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %	96,7 % a 100 %	36,97	1,88	5,10
MP	ATCC® 19615™	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %	96,7 % a 100 %	34,98	0,75	2,15
NEG	N/D	40/40	100 %	40/40	100 %	40/40	100 %	120/120	100 %	97,5 % a 100 %	28,52	0,69	2,42

¹ Para la categoría NEG, el porcentaje de coincidencia se ha calculado para los resultados negativos.

² Para las categorías LP y MP, los valores de Ct informados corresponden al GBS diana. Para la categoría NEG, los valores de Ct informados corresponden al CdP.

Tabla 9. Resultados del estudio de reproducibilidad entre lotes en un (1) centro con tres (3) lotes de kit de ensayo Revogene Strep A

Categoría	Cepa de <i>S. pyogenes</i> (número de ATCC®)	Lote 1		Lote 2		Lote 3		Resultados generales/ Total:	Coincidencia porcentual general ¹	95 % CI general	Valores de Ct ²		
		Resultados/ Total	Coincidencia porcentual	Resultados/ Total	Coincidencia porcentual	Resultados/ Total	Coincidencia porcentual				Medio general	SD	% CV
LP	ATCC® 12344™	30/30	100 %	29/30	96,6 %	29/30	96,7 %	88/90	97,8 %	92,2 % - 99,7 %	37,85	2,30	6,08
MP	ATCC® 19615™	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %	96,7 % a 100 %	35,49	1,61	4,53
NEG	N/D	40/40	100 %	40/40	100 %	40/40	100 %	120/120	100 %	97,5 % a 100 %	28,55	0,74	2,61

¹ Para la categoría NEG, el porcentaje de coincidencia se ha calculado para los resultados negativos.

² Para las categorías LP y MP, los valores de Ct informados corresponden al GBS diana. Para la categoría NEG, los valores de Ct informados corresponden al CdP.

PRECISIÓN

Se ha realizado un estudio de precisión en un (1) centro, con dos (2) operadores, en 20 días, con un (1) lote de kit de ensayo Revogene Strep A. Para cada categoría simple, se llevaron a cabo dos (2) series por día con dos (2) réplicas por serie, para un total de 80 réplicas.

Para cada categoría, todas las muestras se analizaron en presencia de la matriz de muestra faríngea *S. pyogenes* negativa. Se utilizaron dos (2) cepas de *S. pyogenes* para muestras positivas: ATCC® 12344™ y ATCC® 19615™.

Las categorías de las muestras se describieron de la siguiente manera:

- Positivo bajo (LP): la cepa ATCC® 12344™ se analizó a 650 CFU/mL de SB.
- Positivo moderado (MP): se analizó una cepa ATCC® 19615™ a 3000 CFU/mL de SB.
- Negativo (NEG): muestras sin cepa de *S. pyogenes*

Los resultados del estudio de precisión para NEG, LP y MP demostraron coincidencia de 97,5 %, 100 % y 100 %, respectivamente (**Tabla 10**).

Tabla 10. Coincidencia porcentual del estudio de precisión en un (1) centro con un (1) lote de kit de ensayo Revogene Strep A.

Categoría	Cepa de <i>S. pyogenes</i> Número de ATCC®	Coincidencia porcentual general ¹	95 % CI general
LP	ATCC® 12344™	100 %	96,3 % - 100 %
MP	ATCC® 19615™	100 %	96,3 % - 100 %
NEG	N/D	97,5 %	91,3 % - 99,7 %

¹ Para la categoría NEG, el porcentaje de coincidencia se ha calculado para los resultados negativos.

ETIQUETADO ELECTRÓNICO

Puede acceder en línea a la documentación relativa a este producto en www.meridianbioscience.com/jpi. Asimismo, se le pueden proporcionar copias en papel previa solicitud a su distribuidor local o mediante los números de teléfono que figuran en la caja delkit.

**VERWENDUNGSZWECK**

Der Revogene® Strep A Assay ist ein mithilfe des Revogene Instruments durchgeführter, automatisierter, qualitativer Test zur *In-vitro*-Diagnostik unter Verwendung der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) in Echtzeit. Er dient zum direkten Nachweis von Nukleinsäuren des Bakteriums *Streptococcus pyogenes* (beta-hämolyisierende Streptokokken der Gruppe A) in Rachenabstrichproben von Patienten mit Anzeichen und Symptomen von Pharyngitis. Der Revogene Strep A Assay unterstützt die Diagnose von Streptokokkeninfektionen der Gruppe A.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Streptococcus pyogenes oder Gruppe-A-Streptokokkus (GAS) ist eine fakultativ anaerobe, grampositive Kokke, die kettenförmig wächst und zahlreiche Infektionen bei Menschen verursacht, u. a. Pharyngitis, Mandelentzündung, Scharlach, Zellulitis, Erysipel, rheumatisches Fieber, Poststreptokokken-Glomerulonephritis, nekrotisierende Faszitis, Myonekrose und Lymphangitis.

Gruppe-A-Streptokokken (GAS) sind nach wie vor die häufigsten bakteriellen Krankheitserreger und machen 15 bis 30 % der Fälle akuter Rachenentzündung (Pharyngitis) bei Kindern und 5 bis 20 % bei Erwachsenen aus.¹ Da die Anzeichen und Symptome der GAS-Pharyngitis sich weitgehend mit anderen infektiösen Ursachen decken (Halsschmerzen, plötzlich auftretendes Fieber), ist es schwierig, eine Diagnose ausschließlich aufgrund eines klinischen Befundes zu stellen. Eine richtige Diagnose ist jedoch notwendig, um die Krankheit rasch und gezielt mit Antibiotikatherapie zu behandeln und mögliche schwere Komplikationen wie z. B. rheumatisches Fieber zu vermeiden.

Zu den herkömmlichen Methoden für die Erkennung einer GAS-Infektion gehört der Rapid Antigen Detection Test (RADT), ein Schnelltest für den Antigen-Nachweis, oder die Kultivierung von Rachenabstrichproben, gefolgt von einer Lancefield-Gruppendifferenzierung mit Latexagglutination. Der RADT ist zwar hochspezifisch, doch seine Empfindlichkeit kann so niedrig wie 31 bis 50 % sein², weshalb oft Ersatzkulturen benötigt werden.^{3,4} Andererseits kann die Kultivierung bis zu 48 h dauern, wodurch eine angemessene antimikrobielle Behandlung verzögert wird.⁵ Der Revogene Strep A Assay liefert Ergebnisse aus einer bis zu acht Proben in nur 42 Minuten für positive und in ca. 70 Minuten für negative Proben. Dabei ist keine Kulturbestätigung für negative Ergebnisse des Revogene Strep A Assay notwendig. Der Assay minimiert die Intervention durch den Benutzer vom Laden der Probe in die mikrofluidische Einweg-Kartusche (PIE) bis hin zum endgültigen Ergebnis.

VERFAHRENSPRINZIP

Das Revogene automatisiert die Arbeitsschritte zur Probenhomogenisierung und -verdünnung, Zellyse, DNA-Amplifikation und Erkennung der amplifizierten PCR-Produkte. Eine Intervention des Benutzers ist nur zur Verbringung der Patientenprobe in das Probenpufferföhrchen (Sample Buffer Tube, SBT), zum Transfer der Probe vom SBT in das PIE und zum Einsetzen der PIEs in das Revogene-Karussell erforderlich.

Jede PIE-Kartusche ist eine vollständig integrierte geschlossene Vorrichtung, in der eine Probe ausgegeben und über verschiedene mikrofluidische Kammern und Kanäle verarbeitet wird. Diese Kammern ermöglichen Verarbeitungsschritte wie Probenhomogenisierung, Probenverdünnung, Zellyse und DNA-Extraktion, sowie nachfolgende PCR-Schritte in Echtzeit (**Abbildung 1**). Die Flüssigkeit einer einzelnen Probe wird durch Zentrifugierung der Reihe nach von einer Kammer zur nächsten transferiert. Alle für PCR-Reaktionen spezifischen Reagenzien werden aufgenommen und innerhalb des PCR-Well getrocknet. Jedes PIE beinhaltet eine Verfahrenskontrolle (Process Control, PrC) zur Verifizierung der Probenbearbeitungs- und Amplifizierungsschritte, einschließlich der Verifizierung potenzieller inhibitorischer Stoffe sowie eines eventuellen Mikrofluid-, Instrumenten- oder Reagenzienversagens. Die amplifizierten Produkte werden in Echtzeit mit den zielspezifischen chemischen TaqMan® Sonden nachgewiesen. Nach dem Einsetzen eines PIE in das Revogene ist keine Intervention durch den Benutzer mehr erforderlich.

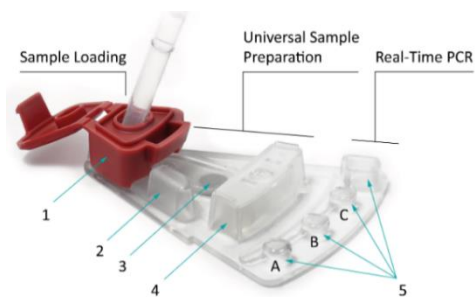


Abbildung 1. Draufsicht auf ein PIE.
1: Kammer zur Probenladung, 2: Überlaufkammer, 3: Homogenisierungskammer mit PrC,
4: Verdünnungs-/Lysekammer, 5: Drei (3) PCR-Vertiefungen (A bis C von links nach rechts) und eine (1) Abfallkammer (am rechten Ende).

Das Revogene kann in einem Lauf eine (1) bis acht (8) Proben gleichzeitig verarbeiten. Das Karussell muss acht (8) PIEs enthalten, um das thermodynamische Gleichgewicht innerhalb des Laufs aufrechtzuerhalten. Während des Durchlaufs und nach seiner Beendigung werden die Ergebnisse vom System anhand von gemessenen Fluoreszenzsignalen und eingebetteten Berechnungsalgorithmen kalkuliert. Die auf dem Touchscreen angezeigten Ergebnisse können vom Benutzer ausgedruckt, transferiert und mit Hilfe des USB-Anschlusses oder der Konnektivitätsoption gespeichert werden.

Die E-PRO-Funktion (Early Positive Result Outcome) liefert ein positives Ergebnis, wenn das Signal der Ziel-DNA vor Abschluss der vollständigen PCR-Zyklen einen vorgegebenen Grenzwert erreicht. Mit E-PRO kann ein positives Ergebnis bei stark positiven Proben in etwa 42 Minuten geliefert werden. Bei negativen Proben dauert es etwa 70 Minuten bis zum Vorliegen eines Ergebnisses.

BEREITGESTELLTE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

Revogene Strep-A-Set mit ausreichend Reagenzien und Material zur Verarbeitung von 24 Proben. Das Kit enthält die folgenden Materialien:

- 24 **Strep-A-Probenpufferföhrchen (Sample Buffer Tubes, SBT)**: Ein mit Barcode versehenes Röhrchen, das Tris-HCl pH 8,0/EDTA Na₂ (TE 1X) Pufferlösung als Verdünnung und Aufbewahrungspuffer für die Probe enthält.
- 24 **Transferhilfsmittel zum Einmalgebrauch (Disposable Transfer Tools, DTT)**: Eine Kunststoffpipette mit Markierungen des minimalen und maximalen Flüssigkeitspegels für den Transfer der Probe vom SBT zum PIE.
- 24 Beutel mit jeweils einer (1) **Strep A mikrofluidischen Kartusche (PIE)**: Integrierte Vorrichtung mit getrockneten Reagenzien zur Probenverarbeitung und für Echtzeit-PCR-Schritte zur Amplifikation und Erkennung von PCR-DNA und GAS-DNA. Jedes PIE enthält eine PrC, PrC-spezifische Primer und eine chemische Taqman® Sonde, genspezifische Primer für GAS und chemische Taqman® Sonden, dNTPs, Puffer und DNA-Polymerase.

ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHE MATERIALIEN/AUSRÜSTUNG (NICHT MITGELIEFERT)

- Revogene® (Kat. Nr. 610210)
- Einmalhandschuhe, puderfrei
- Kunstseide- oder Polyester-Tupfer mit Liquid Stuart oder Liquid Amies als Transportmedium, kompatibel mit Entnahme von Rachenabstrichproben (Copan-Kat. Nr. 139C, 138C, 140C und 141C; BD-Kat. Nr. 220146 und 220149).
- Vortex-Mixer mit einer Maximaldrehzahl von mindestens 3200 U/min
- Müll
- MOCK PIEs (Kat. Nr. 610208; optional)
- Probenteller (Kat. Nr. 132539; optional)

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Der Revogene Strep A Assay kann nur mit dem Revogene verwendet werden.
- Das Set nicht verwenden, wenn das Etikett, mit dem die Verpackung versiegelt wurde, bei Erhalt beschädigt ist.
- Strep-A-PIEs nicht verwenden, wenn die Schutzbeutel bei Erhalt offen oder beschädigt sind.
- Keine DTTs, SBTs und PIEs zwischen Set-Chargen vertauschen.
- Alle DTLs, DTTs und Strep-A-PIEs werden nur zur Bearbeitung einer (1) einzelnen Probe verwendet. DTTs und PIEs dürfen nicht wiederverwendet werden.
- Tupfer nicht mit Gel-Transportmedien verwenden.
- Proben sind stets als infektiös und in Übereinstimmung mit bewährten Laborpraktiken zu handhaben (siehe z. B. „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“⁶ und CLSI-Dokument M29-A4⁷).
- Bei der Handhabung von Proben puderfreie Einmalhandschuhe tragen und anschließend gründlich Hände waschen.
- Das Strep-A-PIE enthält getrocknete Reagenzien. Der Schutzbeutel darf erst geöffnet werden, wenn alles für die Durchführung des Tests bereit ist.
- Ungenutzte Materialien, Reagenzien und Abfälle sind in Übereinstimmung mit den nationalen, bundesweiten, regionalen und örtlichen Bestimmungen zu entsorgen.
- PIEs nach Gebrauch weder öffnen noch auseinanderbrechen, um eine Kontamination mit Amplifikationsprodukten und/oder infektiösen Partikeln zu verhindern.
- PIEs, die nach dem Laden der Probe heruntergefallen sind, geschüttelt oder umgedreht wurden, dürfen nicht mehr verwendet werden, da dies zu ungültigen Testergebnissen führen könnte.
- Keine Sets verwenden, deren Haltbarkeitsdatum überschritten ist.
- Geladene PIEs nicht kühlen.
- Jeder Lauf muss mit acht (8) PIEs im Revogene-Karussell durchgeführt werden, um das thermodynamische und mechanische Gleichgewicht innerhalb des Laufs aufrechtzuerhalten. Wenn weniger als acht Proben getestet werden, sind die leeren Stellen mit Mock PIEs oder neuen Assay-PIEs mit Probenpuffer zu füllen.

GEFAHREN UND SICHERHEITSHINWEISE

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

LAGERUNG UND STABILITÄT

1. Rachenabstrichproben sind während des Transports bei 2 C bis 25 C aufzubewahren.
2. Rachenabstrichproben können bei 25 C max. zwei (2) Tage oder bei 2–8 C max. sieben (7) Tage lang aufbewahrt werden.
3. Inokulierte SBTs können bei 25 C max. drei (3) Tage oder bei 2–8 C max. sieben (7) Tage lang aufbewahrt werden.
4. Das Revogene Strep A-Kit bei 2–25 C lagern. Das Verfallsdatum ist auf dem Etikett der Kit-Verpackung angegeben.
5. Den Beutel erst öffnen, wenn alles zur Durchführung des Tests vorbereitet ist. Das PIE nach dem Öffnen des Beutels innerhalb von einer (1) Stunde verwenden.

GEBRAUCHSANWEISUNG

PROBENNAHME UND TRANSPORT

Probenart: Rachenabstriche von Patienten mit Anzeichen und Symptomen einer Rachenentzündung; Entnahme erfolgt mit Kunstseide- oder Polyester-Tupfern mit Liquid Stuart oder Liquid Amies als Transportmedium.

1. Unter Anwendung herkömmlicher klinischer Verfahren einen Abstrich vom hinteren Rachen, den Mandeln und anderen entzündeten Bereichen nehmen und den Abstrichtupfer in die Transporthülle geben.
2. Die Transporthülle mit der Proben- oder Patienten-ID kennzeichnen und zum Testen an das Labor schicken (siehe Abschnitt zur **Lagerung und Stabilität**).

SBT-VORBEREITUNG

HINWEIS 1: Es darf jeweils nur eine (1) SBT auf einmal offen sein und jeweils nur ein (1) Tupfer aus der Transporthülle entnommen werden.

Schritt 1

- a. Die angemessene Anzahl Beutel aus der Box nehmen.

Schritt 2

- a. Entnehmen Sie aus der Kit-Verpackung ein SBT für jede zu testende Probe.

HINWEIS: Öffnen Sie den Beutel erst, wenn Sie bereit sind, die PIE zu beladen.

Schritt 3

- a. Das SBT mit der entsprechenden Probenidentifikationsnummer identifizieren (oder kennzeichnen), ohne dabei den Barcode zu überschreiben oder unkenntlich zu machen.
- b. Das SBT in den Revogene Probenteller einsetzen, falls verwendet.

Schritt 4

- a. Die SBT-Kappe aufschrauben.
- b. Den Abstrichtupfer aus der Transporthülle nehmen und in das SBT geben.
- c. Den überschüssigen Teil des Tupferstiels abbrechen (**Abbildung 2**):
 - Den Stiel mit einem Stück Mull festhalten.
 - Den Stiel einige Millimeter (mm) vom Boden des Röhrchens anheben.
 - Den Stiel gegen den Rand des Röhrchens drücken, um ihn abzubreaken.
 - Hilfsweise kann der Stiel auch mit einer sauberen Schere durchgeschnitten werden. Die Schere ist nach jeder Probe zu desinfizieren.
 - Die Tupferhülle und den Stiel gemäß den gängigen Verfahren Ihrer Institution entsorgen.
 - Die SBT-Kappe fest verschließen.
- d. Schritt 4 für jede zu testende Probe wiederholen.

HINWEIS: Es muss für jede Probe ein neues Stück Mull benutzt werden, um Kreuzkontamination zwischen Proben und Schwebstoffen zu vermeiden.



Abbildung 2. Den Tupfer im SBT abbrechen



Nach dem Abbrechen sollte der Tupferstiel kürzer als der Rand des SBT sein, damit die Probe angemessen in das SBT verbracht werden kann. Die SBT-Kappe sollte ohne Behinderung durch den Tupferstiel geschlossen werden können.

PIE-VORBEREITUNG

HINWEIS 1: Jeweils nur eine (1) Probe verarbeiten.

HINWEIS 2: Das DTT nur am Saugball anfassen, um eine Kontamination der Probe zu vermeiden.

Schritt 5

- a. Den Inhalt des SBT mindestens 15 Sekunden bei höchster Geschwindigkeit (> 3200 U/min) im Vortex-Mischer mischen:

Schritt 6

- a. Öffnen Sie den Beutel, der die PIE enthält und entnehmen Sie sie.
- b. Das Strep-A-PIE in den Revogene Probenteller einsetzen, falls verwendet, oder auf eine ebene Ablage stellen.

HINWEIS: Das PIE an der Verdünnungskammer oder den Seiten festhalten, um ein Beschmieren der PCR-Wellen zu vermeiden.

Schritt 7

- a. Nehmen Sie ein DTT aus der Verpackung des Kits und aspirieren Sie den inokulierten Probenpuffer (SB, Sample Buffer) durch Zusammendrücken des gesamten Ballons, Platzieren der Pipettenspitze im Probenpuffer und langsames Verringern des Drucks auf den Ballon.

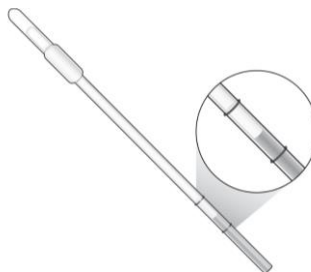


Abbildung 3. Darstellung eines ordnungsgemäßen Probenpuffer(SB)-Füllstands bei Verwendung des Einweg-Übertragungswerkzeugs (DTT).

HINWEIS: Keine Blasen ansaugen.

- b. Die Probenpuffermenge im DTT durch Zusammendrücken des DTT-Saugballs vollständig in die Probenaufnahmekammer des PIE verbringen (**Abbildung 3**). Die Außenkanten oder die Unterseite der Probenaufnahmekammer dürfen dabei nicht mit dem DTT berührt werden.
- c. Das DTT gemäß den gängigen Verfahren Ihrer Institution entsorgen. DTTs dürfen nicht wiederverwendet werden.
- d. Die Kappe des PIE fest verschließen.
- e. Die SBT-Kappe fest verschließen.
- f. Die Schritte 5 bis 7 für alle weiteren präparierten SBTs wiederholen und anschließend mit Schritt 8 fortfahren.

HINWEIS: Mit geladenen PIEs muss vorsichtig umgegangen werden. Sie dürfen nicht umgedreht, geschüttelt oder fallen gelassen werden. Sollte dies geschehen, muss das betroffene PIE entsorgt und ein neues PIE ab Schritt 5 präpariert werden.

BETRIEB DES REVOGENE

HINWEIS 1: Weitere Informationen zum Betrieb des Revogene finden Sie im Revogene-Benutzerhandbuch.⁸

Schritt 8

- a. Zur Anmeldung Ihren <Benutzernamen> und Ihr <Passwort> eingeben und auf <Anmelden> tippen (**Abbildung 4**).
- b. Im Hauptmenü auf <Setup Run> tippen (der Deckel wird automatisch geöffnet, falls er geschlossen ist) (**Abbildung 5**).
- c. Den Deckel öffnen und den Retentionsring entfernen.

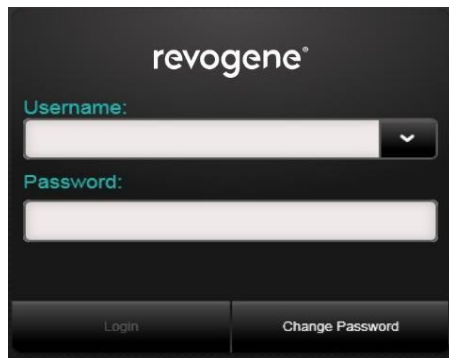


Abbildung 4. Anmeldebildschirm

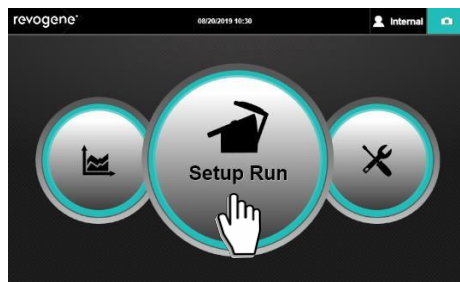


Abbildung 5. Hauptmenü (Hand auf Symbol für Setup Run)

Schritt 9

- a. Mithilfe des Barcode-Scanners oder der Bildschirmtastatur die **Proben-ID** eingeben:
 - Das SBT vertikal vor dem Scanner platzieren, um es zu scannen.
 - Auf das Bleistiftsymbol tippen, um die Bildschirmtastatur zu nutzen. Eine manuell eingegebene Proben-ID muss durch eine zweite Eingabe bestätigt werden.
- b. Scannen Sie die Barcodes von SBT und PIE, halten Sie dafür die PIE senkrecht mit der Kappe nach oben (**Abbildung 6**).



Abbildung 6. Scannen des PIE

HINWEIS: Das geladene PIE darf nicht umgedreht, geschüttelt oder fallen gelassen werden. Sollte dies geschehen, muss das betroffene PIE entsorgt und ein neues PIE ab Schritt 5 präpariert werden.

- c. (Optional) Auf das **Bleistift**-Symbol der Zeile <Patienten-ID> tippen und die Patienten-ID mithilfe der Bildschirmtastatur eingeben.
- d. (Optional) Auf das **Bleistift**-Symbol der Zeile <Kommentare hinzufügen> tippen und mithilfe der Bildschirmtastatur einen Kommentar eingeben.
- e. Das PIE an den Seiten oder der Verdünnungskammer festhalten und ins Karussell des Revogene einsetzen (**Abbildung 7**).
 - Es kann jede beliebige der acht (8) Positionen des Karussells benutzt werden. Die Software ordnet die Probe und das SBT automatisch dem richtigen PIE zu.
- f. In der Zeile <Das PIE in das Instrument einsetzen> auf <ok> tippen, um zu bestätigen, dass das PIE eingesetzt ist.
- g. Schritt 9 für alle geladenen PIEs wiederholen.



Abbildung 7. Einsetzen des PIE

Schritt 10

- a. Auf **<Weiter>** tippen.
- b. Wenn weniger als acht (8) PIEs getestet werden, sind die leeren Stellen im Karussell mit Mock PIEs zu füllen. (MOCK PIEs müssen nicht gescannt werden) (**Abbildung 8**). Wenn keine MOCK PIEs verfügbar sind, neue Assay- PIEs verwenden, die mit nicht inokulierten Probenpuffern (LEER) gefüllt sind.
- c. Das Kästchen **Bestätigen** markieren.
- d. Den Retentionsring scannen und auf dem Karussell anbringen (**Abbildung 9**).
- e. Den Instrumentendeckel schließen.
- f. Auf **<Start>** tippen, um den Test zu starten (**Abbildung 10**).
 - Ein Timer am Bildschirm und LEDs im Deckel des Revogene zeigen den Verlauf des Tests an.
- g. Das inokulierte SBT für Wiederholungstests (falls nötig) unter angemessenen Bedingungen lagern (siehe Abschnitt zur **Lagerung und Stabilität**).

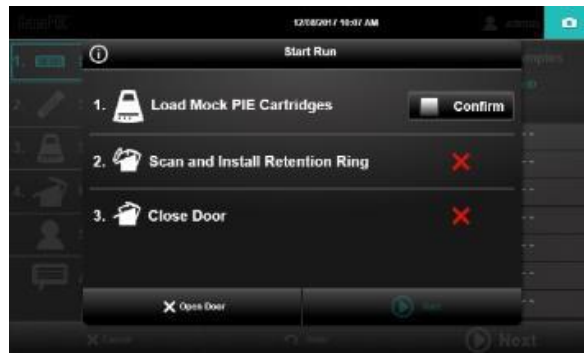


Abbildung 8. Hinzufügen von MOCK PIE-Kartuschen



Abbildung 9. Platzierung des Retentionsrings

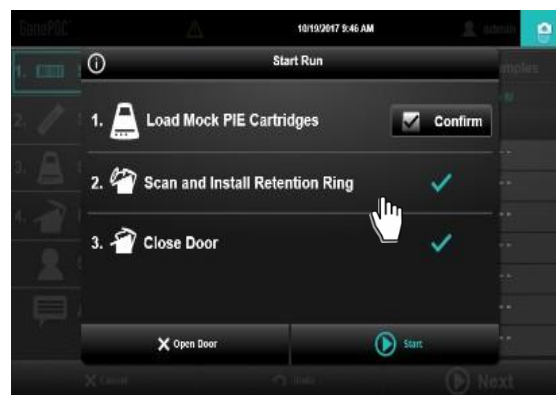


Abbildung 10. Start des Laufs bestätigen

ANZEIGE UND EXPORT DER ERGEBNISSE

Schritt 11 - Während des Durchlaufs

- Wenn die LEDs im Deckel des Revogene, die den Testverlauf anzeigen, zu blinken anfangen, deutet dies auf ein frühes positives Ergebnis (Early Positive Result Outcome, E-PRO) hin. Zudem erscheint ein Symbol in der Titelleiste des Bildschirms.

Das **E-PRO**-Symbol besteht aus dem „+“-Symbol und einer Ziffer, welche die Anzahl der verfügbaren positiven Ergebnisse anzeigt (**Abbildung 11**). Falls weitere positive Ergebnisse auftreten, steigt diese Zahl an.



Abbildung 11. E-PRO-Symbol

- Falls der Benutzer abgemeldet wurde, den <Benutzernamen> und das <Passwort> eingeben und auf <Anmelden> tippen.
- Auf das Symbol **E-PRO** tippen.
- Die Ergebnisse des aktuellen Laufs werden automatisch am Bildschirm angezeigt (**Abbildung 12**). Für jede Probenzeile erscheint entweder ein Positiv-Symbol oder das Symbol für „In Bearbeitung“. Das Symbol für „In Bearbeitung“ besteht aus einer rotierenden Animation und wird so lange angezeigt, bis ein positives Ergebnis vorliegt oder der Durchlauf beendet ist.
- Durch Tippen auf ein Positiv-Symbol wird der Zwischenbericht geöffnet.
- (Optional) Auf <Export> tippen und den Zwischenbericht wie gewünscht abspeichern (z. B. auf einem USB-Stick oder über die Konnektivitätsoption).

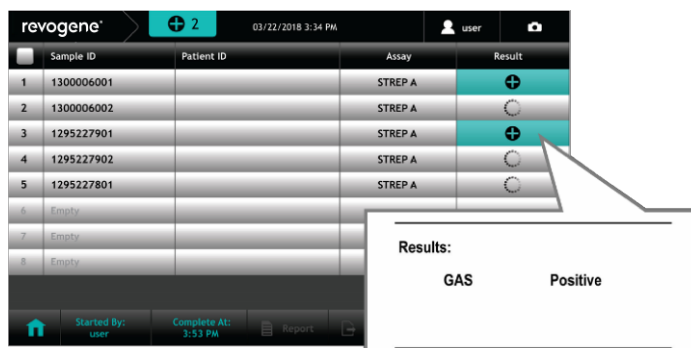


Abbildung 12. Ansicht der Ergebnisse während der Bearbeitung

Nachdem die Ansicht der Ergebnisse geprüft wurde, erscheinen die E-PRO-Benachrichtigungen. Neue E-PRO-Benachrichtigungen erscheinen, sobald ein weiteres frühes positives Ergebnis festgestellt wurde. Die im Zwischenbericht angezeigten Ergebnisse sind endgültig und bleiben im endgültigen Assay-Ergebnisbericht unverändert.

Schritt 12 - Am Ende des Durchlaufs

- Wenn der Durchlauf abgeschlossen ist, öffnet sich der Deckel automatisch.
- Falls der Benutzer abgemeldet wurde, den <Benutzernamen> und das <Passwort> eingeben und auf <Anmelden> tippen.
- Auf das Symbol **Ergebnisse** tippen (**Abbildung 13**).
- Die Ergebnisse des letzten Durchlaufs werden automatisch am Bildschirm angezeigt.
- Die Proben auswählen, für die ein oder mehrere Ergebnisbericht(e) exportiert werden soll:
 - Um alle Proben auf einmal auszuwählen, das Kästchen in der linken oberen Bildschirmecke markieren.
- Auf <Export> tippen und den endgültigen Assay-Ergebnisbericht wie gewünscht abspeichern (z. B. auf einem USB-Stick oder über die Konnektivitätsoption) (**Abbildung 14**).
- Als Alternative:
 - Auf <Suche> tippen, um nach einer bestimmten Probe und deren Ergebnis zu suchen.



Abbildung 13. Hauptmenü (Hand auf Ergebnis-Symbol)



Abbildung 14. Ansicht der endgültigen Ergebnisse

Schritt 13

- Den Retentionsring entfernen.
- Die PIEs aus dem Revogene entfernen:
 - Die PIEs gemäß den gängigen Verfahren Ihrer Institution entsorgen.

HINWEIS: Die MOCK PIEs nicht entsorgen, da diese wiederverwendet werden können. Die MOCK PIEs laut den Anweisungen der MOCK-PIE-Packungsbeilage reinigen und dekontaminieren.

WIEDERHOLUNGSTESTVERFAHREN
UNGEKLÄRTE ODER UNBESTIMMBARE ERGEBNISSE EINER PROBE
Wenn für eine Probe ungeklärte (Unresolved, UNR) oder unbestimmte (Indeterminate, IND) Ergebnisse vorliegen, ist innerhalb des im Abschnitt **Lagerung und Stabilität** angegebenen Zeitraums ein Wiederholungstest aus dem entsprechenden inokulierten SBT durchzuführen. Es ist nur ein (1) Wiederholungstest aus dem SBT erlaubt.

Das entsprechende inokulierte SBT ist zum Laden eines neuen PIE aus derselben Set-Charge zu verwenden. Die Anweisungen des Abschnitts **PIE-Vorbereitung** ab Schritt 5 und dann die des Abschnitts **Betrieb des Revogene** befolgen.

UNGEKLÄRTE ODER UNBESTIMMBARE ERGEBNISSE FÜR EINE EXTERNE KONTROLLE
Wenn für eine externe Kontrolle ein ungeklärtes (UNR) oder unbestimmtes (IND) Ergebnis erzielt wird, ist der Lauf ungültig. Sowohl für die externe Positivkontrolle und die externe Negativkontrolle ist innerhalb des im Abschnitt **Lagerung und Stabilität** angegebenen Zeitraums ein Wiederholungstest aus dem entsprechenden inokulierten SBT durchzuführen. Die im Lauf enthaltenen Proben müssen unter Verwendung des entsprechenden inokulierten SBT einem Wiederholungstest unterzogen werden. Es ist nur ein (1) Wiederholungstest aus dem SBT erlaubt.

Das entsprechende inokulierte SBT ist zum Laden eines neuen PIE aus derselben Set-Charge zu verwenden. Die Anweisungen des Abschnitts **PIE-Vorbereitung** ab Schritt 5 und dann die des Abschnitts **Betrieb des Revogene** befolgen.

FALSCH NEGATIVE ODER FALSCH POSITIVE ERGEBNISSE FÜR EINE EXTERNE KONTROLLE
Wenn für eine externe Kontrolle ein falsch negatives oder falsch positives Ergebnis erzielt wird, ist der Lauf ungültig. Für beide Kontrollen ist ein Wiederholungstest mit neuen externen Kontrollen durchzuführen.

Außerdem ist für alle Proben des Durchlaufs innerhalb des im Abschnitt **Lagerung und Stabilität** angegebenen Zeitraums ein Wiederholungstest mithilfe des entsprechenden inokulierten SBT durchzuführen. Es ist nur ein (1) Wiederholungstest aus dem SBT erlaubt.

Informationen zur Aufbereitung neuer externer Kontrollen erhalten Sie im Abschnitt **Qualitätssicherung**.

Unter Anwendung eines neuen Beutels die Anweisungen des Abschnitts **PIE-Vorbereitung** ab Schritt 5 und dann die des Abschnitts **Betrieb des Revogene** befolgen.

QUALITÄTSSICHERUNG
Qualitätskontrollverfahren dienen der Überwachung der Exaktheit und Präzision des analytischen Verfahrens. Jedes Labor muss die Anzahl, Art und Häufigkeit der Tests von Kontrollmaterial anhand der anwendbaren Vorschriften bzw. der Vorgaben von Akkreditierungsagenturen selbst festlegen. Das nachstehend beschriebene Verfahren kann, falls zutreffend, basierend auf örtlichen Richtlinien und Verfahren angewendet werden.

VERFAHRENSKONTROLLE
Jedes Strep-A-PIE enthält eine Verfahrenskontrolle (Process Control, PrC) zur Verifizierung der Probenhomogenisierung, der Probenverdünnung, der Lyse von Zellen, der Inhibition von DNA-Amplifikation und des Assay-Reagenzienversagens.

EXTERNE KONTROLLEN
HINWEIS 1: Für jede aufbereitete externe Kontrolle sind separate DTTs, SBTs und PIEs zu verwenden.

- Gemäß bewährter Laborpraxis empfiehlt sich der Einsatz von Kontrollmaterialien. Benutzer sollten die entsprechenden Leitlinien zur Durchführung externer Kontrollen befolgen. Es wird empfohlen, in jedem Labor täglich mindestens eine (1) externe Positivkontrolle und eine (1) externe Negativkontrolle mit dem Revogene Strep A Assay auf dem Revogene durchzuführen, bis das Verfahren angemessen validiert ist.
 - Externe Kontrollmaterialien werden nicht von Meridian Bioscience, Inc. bereitgestellt. Die Revogene-Software verwendet keine externen Kontrollen für die Auswertung von Probenestergenen. Externe Kontrollen werden wie Proben behandelt.
 - Achten Sie darauf, dass vor der Meldung früher positiver Ergebnisse gültige Ergebnisse für die externe Positivkontrolle und externe Negativkontrolle vorliegen.
- Externe Positivkontrollen
- Zur Verwendung als externe Positivkontrolle wird eine Zellsuspension eines *Streptococcus pyogenes*-Stamms aus einem handelsüblichen Stamm (z. B. ATCC® 12344™) empfohlen, die mit einem McFarland-Standard von 0,5 ± 0,05 hergestellt und 1:100 in Kochsalzlösung (z. B. BD BBL™ Prepared Saline Solution, Kat. Nr. 221819) verdünnt wurde.
- Externe Negativkontrolle
- Zur Verwendung als externe Negativkontrolle wird eine Zellsuspension eines *Streptococcus salivarius*-Stamms aus einem handelsüblichen Stamm (z. B. ATCC® 13419™) empfohlen, die mit einem McFarland-Standard von 0,5 ± 0,05 in Kochsalzlösung (z. B. BD BBL™ Prepared Saline Solution, Kat. Nr. 221819) hergestellt wurde.
- Aufbereitete externe Kontrollen gemäß dem Abschnitt **Gebrauchsanweisung** verarbeiten und testen.
 - Bei Schritt 4 einen unbenutzten, kompatiblen Tupfer aus der Transporthülle nehmen und rasch in die Lösung der externen Positiv- oder Negativkontrolle eintauchen (die Spitze des Tupfers muss dabei ganz in die Flüssigkeit eingetaucht sein).
 - Den Tupfer in das SBT verbringen.
 - Mit Schritt 4-C im Abschnitt **Gebrauchsanweisung** fortfahren.

ERGEBNISAUSWERTUNG
Die Ergebnisse werden vom Revogene anhand von gemessenen Fluoreszenzsignalen und eingebetteten Berechnungsalgorithmen kalkuliert und im Fenster „Ergebnisse“ angezeigt. Mögliche Ergebnisse:

Probe	Auf Benutzerbildschirm angezeigtes Symbol	Gemeldetes Zielergebnis	Interpretation
Patienten-probe		Positiv	GAS-Ziel-DNA erkannt.
		Negativ	GAS-Ziel-DNA nicht erkannt.
		Ungeklärt	Fehler bei der Amplifikation/Erkennung in der Verfahrenskontrolle sowie für die GAS-Ziel-DNA. Dieser könnte auf inhibitorische Proben, Mikrofluid- oder Reagenzienversagen zurückzuführen sein. Wiederholungstest erforderlich (siehe Abschnitt Wiederholungstestverfahren für weitere Informationen).
		Unbestimmt	Aufgrund eines möglichen Erkennungsfehlers des Revogene während der Assay-Verarbeitung, der Datenanalyse oder infolge einer Laufunterbrechung durch den Benutzer kein Ergebnis anzeigbar. Wiederholungstest erforderlich (siehe Abschnitt Wiederholungstestverfahren für weitere Informationen).
		In Bearbeitung	Ergebnisse sind noch nicht verfügbar
Externe Positiv- kontrolle		Positiv	Gültiges positives Ergebnis für die externe Kontrolle.
		Negativ	Eine externe Positivkontrolle, die ein negatives Ergebnis erzielt, weist auf ein Problem bei der Probenhandhabung/-aufbereitung hin. Der Testlauf ist ungültig. Die Technik der Probenhandhabung/-aufbereitung überprüfen.
		Ungeklärt	Falsches positives Ergebnis für die externe Kontrolle. Der Testlauf ist ungültig. Wiederholungstest erforderlich (siehe Abschnitt Wiederholungstestverfahren für weitere Informationen).
		Unbestimmt	Falsches positives Ergebnis für die externe Kontrolle. Der Testlauf ist ungültig. Wiederholungstest erforderlich (siehe Abschnitt Wiederholungstestverfahren für weitere Informationen).
		In Bearbeitung	Ergebnisse sind noch nicht verfügbar
Externe Negativ- kontrolle		Positiv	Eine externe Negativkontrolle, die ein positives Ergebnis erzielt, weist auf ein Problem bei der Probenhandhabung und/oder eine Kontaminierung hin. Der Testlauf ist ungültig. Das Verfahren der Probenhandhabung überprüfen.
		Negativ	Gültiges negatives Ergebnis für die externe Kontrolle.
		Ungeklärt	Falsches negatives Ergebnis für die externe Kontrolle. Der Testlauf ist ungültig. Wiederholungstest erforderlich (siehe Abschnitt Wiederholungstestverfahren für weitere Informationen).
		Unbestimmt	Falsches negatives Ergebnis für die externe Kontrolle. Der Testlauf ist ungültig. Wiederholungstest erforderlich (siehe Abschnitt Wiederholungstestverfahren für weitere Informationen).
		In Bearbeitung	Ergebnisse sind noch nicht verfügbar

EINSCHRÄNKUNGEN DES VERFAHRENS

- 1. Der Revogene Strep A Assay unterscheidet nicht zwischen asymptomatischen Trägern von Streptokokken der Gruppe A und Personen mit Anzeichen einer Streptokokken-Infektion.
- 2. Wenn das Ergebnis negativ ist, aber weiterhin klinische Symptome auftreten, oder bei Ausbruch eines akuten rheumatischen Fiebers (ARF) sind zusätzliche Tests mithilfe der Kultivierungsmethode erforderlich.
- 3. Der Revogene Strep A Assay darf mit dem Revogene nur von entsprechend geschultem Personal durchgeführt werden.
- 4. Der Revogene Strep A Assay liefert keine Empfindlichkeitsergebnisse. Für Empfindlichkeitstests werden Kulturoisolate benötigt.
- 5. Die klinischen Leistungsmerkmale des Revogene Strep A Assays wurden nur mit Rachenabstrichproben bestimmt, die mit Kunstseide-Tupfern in Liquid Stuart oder Liquid Amies als Transportmedium (Copan-Kat. Nr. 138C und 139C) entnommen wurden. Zusätzlich wurden die mit Kunstseide- oder Polyester-Tupfern in Liquid Stuart oder Liquid Amies als Transportmedium entnommenen Rachenabstrichproben analytisch bewertet (Copan-Kat. Nr. 140C und 141C; BD-Kat. Nr. 220146 und 220149). Die Anwendung eines BD CultureSwab™ MaxV Kunstseide-Tupfers in Liquid Amies als Transportmedium ist für den Revogene Strep A Assay nicht zu empfehlen (BD-Kat. Nr. 220232). Der Einsatz des Revogene Strep A Assays bei klinischen Proben in anderen Entnahme-/Transportsystemen als vorgegeben ist nicht erprobt, und es liegen keine Leistungsmerkmale dazu vor.
- 6. Die Ergebnisse des Revogene Strep A Assays sollten als Zusatz zu klinischen Beobachtungen und anderen dem Arzt verfügbaren Informationen herangezogen werden.
- 7. Die Testergebnisse können durch eine gleichzeitige antimikrobielle Therapie beeinträchtigt werden, da GAS-DNA weiterhin nachweisbar sein kann.
- 8. Ein positives Testergebnis bedeutet nicht unbedingt, dass lebensfähige Organismen vorhanden sind. Es deutet jedoch auf die Anwesenheit von GAS-DNA hin.
- 9. Falsche Testergebnisse können durch unsachgemäße Probenahme, -handhabung oder -lagerung auftreten, durch technische Fehler, Vertauschung von Proben, oder weil die Probe keine ausreichende Menge bakterieller DNA enthält, um vom Test erkannt zu werden. Um falsche Ergebnisse zu vermeiden, ist eine sorgfältige Einhaltung der Anleitungen in dieser Beilage, dem Revogene-Benutzerhandbuch sowie bewährter Leitlinien erforderlich.
- 10. Eine Kontamination oder falsche Negativergebnisse können auftreten, wenn eine PIE-Kappe nicht richtig verschlossen wurde oder ein Tröpfchen auf den Rand der Probenaufnahmekammer gefallen ist.
- 11. Mutationen oder Polymorphismen in der Primer- oder Sondenbindungsregion könnten die Erkennung von Genvariationen von *S. pyogenes* beeinträchtigen und zu falschen Negativergebnissen des Revogene Strep A Assays führen.
- 12. Schmerzmittel/febrifenkende Mittel (z. B. Tylenol®), nicht-steroidale Entzündungshemmer (Advil®), Bronchodilatoren (z. B. Albuterolsulfat) oder Mucin können den Revogene Strep A Assay beeinflussen, wenn eine dieser Substanzen im Probenpuffer in einer Konzentration von > 0,4 % (W/V) vorhanden ist.
- 13. Nicht-steroidale Entzündungshemmer (Aspirin®) oder Vollblut können den Revogene Strep A Assay beeinflussen, wenn eine dieser Substanzen im Probenpuffer in einer Konzentration von > 0,1 % (W/V oder V/V) vorhanden ist.
- 14. Eine kombinatorische Wirkung von *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius* und *Moraxella catarrhalis* zu $\geq 10^6$ KBE/mL des Probenpuffers oder das Vorhandensein von *Streptococcus dysgalactiae*, Unterart *dysgalactiae* zu $\geq 10^5$ KBE/mL des Probenpuffers kann die Erkennung von *S. pyogenes* verhindern.

ERWARTETE WERTE

In einer prospektiven klinischen Studie wurden insgesamt 767 Rachenabstrichproben an sieben (7) verschiedenen Klinikstandorten in den Vereinigten Staaten und Kanada von Februar bis Juli 2018 genommen. Von den 604 Proben, die alle Einschlusskriterien aber keine der Ausschlusskriterien erfüllten, waren 154 basierend auf der Referenzmethode bei einer beobachteten Prävalenz von 25,5 % [154/604; 95 % CI 22,2 % – 29,1 %] positiv. Der Prozentsatz der positiven Ergebnisse des Revogene Strep A Assays in der Studienpopulation betrug 29,0 % [175/604; 95 % CI 25,5 % – 32,7 %].

KLINISCHE LEISTUNGSMERKMALE

Die klinische Leistung des Revogene Strep A Assays wurde in einer prospektiven klinischen Studie ermittelt, die an acht (8) verschiedenen Klinikstandorten (sieben (7) Probennahmezentren und einem (1) Referenzzentrum) in den Vereinigten Staaten und Kanada von Februar bis Juli 2018 stattfand.

Es wurden jeweils zwei Rachenabstrichproben von Patienten mit Anzeichen und Symptomen von Pharyngitis genommen, mit Ausnahme von Patienten, die mit Antibiotika behandelt wurden, da diese sich auf das Überleben der Gattung *Streptococcus* auswirken können. Ein (1) Abstrich wurde mit dem Revogene Strep A Assay an einem (1) der sieben (7) Klinikstandorte getestet, während der zweite Abstrich zum Testen mit der Referenzmethode an ein (1) zentrales Labor pro Land (eines (1) in Kanada und eines (1) in den Vereinigten Staaten) geschickt wurde. Nach Erhalt im zentralen Labor für den Test anhand der Referenzmethode wurde eine Blut-Agar-Platte (BAP) mit der zweiten Rachenabstrichprobe inokuliert. Nach der Inkubation wurden die Kolonien, die morphologisch *S. pyogenes* ähnelten, auf einer neuen BAP isoliert. Die Isolate wurden anhand von Katalase-Tests, Gram-Färbung, Latexagglutination und MALDI-TOF weiter charakterisiert und identifiziert.

Die Werte für die Sensitivität, die Spezifität, den positiven prädiktiven Wert (PPV) sowie den negativen prädiktiven Wert (NPV) wurden anhand des Vergleichs der Revogene Strep A Assay-Ergebnisse mit der Referenzmethode berechnet. Proben mit abweichenden Ergebnissen zwischen dem Revogene Strep A Assay und der Referenzmethode wurden einer Diskrepanzanalyse unterzogen. Hierfür wurde eine alternative PCR für die Amplifikation und Erkennung von *S. pyogenes* gefolgt von einer bidirektionalen Sequenzierung der amplifizierten Produkte genutzt.

ERGEBNISSE

Von den 767 zugelassenen Proben wurden 163 ausgeschlossen: Drei (3) erfüllten die Anforderungen für das Testverfahren des Revogene nicht, bei 13 wurde die Lieferfrist überschritten, 23 erfüllten die Einschlusskriterien nicht, bei 27 lagen keine vollständigen Testergebnisse vor, und 97 erfüllten die Anforderungen des Referenzkulturprotokolls nicht.

Zur Ermittlung der Leistung des Revogene Strep A Assays im Vergleich zur Bakterienkultur wurden insgesamt 604 Proben verwendet. Die demografischen Merkmale der Studienpopulation sind in **Tabelle 1** aufgeführt.

Tabelle 1. Demografische Merkmale der Studienpopulation

Altersgruppe		Alle Probanden (N = 604)
> 24 Monate alt – 12 Jahre alt		278 (46,03 %)
13 – 21 Jahre alt		80 (13,25 %)
22 – 64 Jahre alt		235 (38,91 %)
≥ 65 Jahre alt		11 (1,82 %)
Ethnizität		
Weiß		186 (30,79 %)
Schwarz oder Afroamerikanisch		231 (38,25 %)
Hispanic		97 (16,06 %)
Asiatisch		5 (0,83 %)
Unbekannt		85 (14,07 %)

VERGLEICH MIT REFERENZMETHODE

Die klinischen Leistungswerte des Revogene Strep A Assays im Vergleich zur Referenzmethode sind in **Tabelle 2** aufgeführt.

Der Revogene Strep A Assay ergab eine Sensitivität von 98,1 % (151/154; 95 % CI: 94,4 – 99,3) und eine Spezifität von 94,7 % (426/450; 95 % CI: 92,2 – 96,4) im Vergleich zur Referenzmethode.

Tabelle 2. Gesamtleistungsmerkmale des Revogene Strep A Assays im Vergleich zur Referenzmethode

		Referenzmethode		
		Positiv	Negativ	Summe
Revogene Strep A	Positiv	151	24 ^a	175
	Negativ	3 ^b	426	429
	Summe	154	450	604
Sensitivität		98,1 % [95 % CI: 94,4 – 99,3]		
Spezifität		94,7 % [95 % CI: 92,2 – 96,4]		
Positiver prädiktiver Wert		86,3 % [95 % CI: 80,4 – 90,6]		
Negativer prädiktiver Wert		99,3 % [95 % CI: 98,0 – 99,8]		

^a Ergebnisse der alternativen PCR mit bidirektionaler Sequenzierung: 17 von 24 waren positiv für Strep A; sechs (6) von 24 waren negativ für Strep A, und ein (1) Ergebnis war uneindeutig.

^b Ergebnisse der alternativen PCR mit bidirektionaler Sequenzierung: eines (1) von drei (3) war positiv für Strep A, und zwei (2) waren uneindeutig.

Die Gesamtrate der ungeklärten Ergebnisse lag zu Beginn bei 0,5 % (3/610) und nach den Wiederholungstests bei 0,2 % (1/610). Die Gesamtrate der unbestimmten Ergebnisse lag zu Beginn bei 1,1 % (7/610) und nach den Wiederholungstests bei 0,8 % (5/610). Die Gesamtrate der nicht ausweisbaren Ergebnisse lag zu Beginn bei 1,6 % (10/610) und nach den Wiederholungstests bei 1,0 % (6/610).

ANALYTISCHE LEISTUNGSMERKMALE

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Die analytische Sensitivität (Nachweisgrenze bzw. Limit of Detection, LoD) des Revogene Strep A Assays wurde mithilfe einer (zuvor für *S. pyogenes* negativ getesteten) klinischen Matrix für Rachenabstrichproben bestimmt, die mit unterschiedlichen Konzentrationen von *S. pyogenes*-Bakteriensuspensionen angereichert wurde. Pro Konzentration wurden in 24 Replikaten drei (3) Stämme von *S. pyogenes* (ATCC® 12344™, ATCC® 19615™, ATCC® 700942™) getestet. Die Nachweisgrenze ist als die geringste Konzentration definiert, bei der mindestens 95 % aller Replikate positiv getestet wurden.

Bei den drei (3) getesteten Stämmen lag die Nachweisgrenze des Revogene Strep A Assays zwischen 333 und 1333 KBE/mL der Pufferprobe (Sample Buffer, SB) (**Tabelle 3**). Die vorläufigen LoD-Konzentrationen wurden durch Testen von zwanzig (20) Replikaten jedes Stammes bestätigt.

Tabelle 3. LoD des Revogene Strep A Assays

<i>S. pyogenes</i> Stamm (ATCC®-Nummer)	LoD (KBE/mL des SB)
ATCC® 12344™	333
ATCC® 19615™	1000
ATCC® 700942™	1333

ZUGEHÖRIGKEIT

Die Zugehörigkeit des Revogene Strep A Assays wurde für 12 Stämme von *S. pyogenes* ermittelt, die sechs (6) verschiedene *emm*-Sequenztypen unterschiedlicher geografischer Herkunft repräsentieren. Neun (9) Stämme wurden anhand einer quantifizierten Zellkultur unter Verwendung einer für *S. pyogenes* negativen Rachenmatrix bei 999 KBE/mL des SB getestet. Dies entspricht dem dreifachen (3) LoD-Wert eines ATCC® 12344™-Stamms. Pro Stamm wurden neun (9) Replikate mit drei (3) verschiedenen Revogene Strep A Set-Chargen getestet. Acht (8) Stämme wurden mit 100 % Positivität (in 9/9 Replikaten) vom Revogene Strep A Assay zu 999 KBE/mL des SB erkannt. Der *S. pyogenes* ATCC® 49399™ Stamm wurde mit 100 % Positivität bei 1667 KBE/mL des SB erkannt. Die getesteten Stämme sind in **Tabelle 4** beschrieben.

Tabelle 4. *S. pyogenes* Stämme, die hinsichtlich ihrer Zugehörigkeit zum Revogene Strep A Assay getestet wurden

<i>S. pyogenes</i> Stämme	Lancefield-Einteilung	<i>emm</i> -Typ
ATCC® 12384™	A	3
ATCC® 49399™	A	entf.
CCUG 33409	A	entf.
CCUG 39158	A	entf.
CCUG 53553	A	entf.
ATCC® 700952™	A	92
ATCC® 700294™	A	1
ATCC® 12357™	A	18
CCUG 65322	A	entf.
ATCC® 19615™ ¹	A	80
ATCC® 12344™ ¹	A	1
ATCC® 700942™ ¹	A	82

¹ Stämme, die für die LoD-Bestimmung benutzt und deshalb nicht wiederholt getestet wurden

Zusätzlich wurde am 8. August 2018 eine *In-silico*-Analyse durchgeführt, um die Zugehörigkeit der Primer und der Sonde des Revogene Strep A Assay-Ziels in Bezug auf 123 *S. pyogenes*-Stämme aus der Datenbank des National Center for Biotechnology Information (NCBI) zu bewerten. Dazu gehörten Sequenzen von *S. pyogenes*-Stämmen signifikanter *emm*-Typen, die in potenziellen Impfstoffen gegen Gruppe-A-Streptokokken⁹ enthalten sind. Die Übereinstimmungsergebnisse zeigten keine Abweichungen zu 122 Sequenzen. Eine (1) Variante zeigte eine Abweichung in der Region an, die der *S. pyogenes*-Sonde entspricht. Diese Variante gilt jedoch als durch den Revogene Strep A Assay nachweisbar. Die Erkennung wurde in der Analyse all dieser *S. pyogenes*-Stämme prognostiziert.

KREUZREAKTIVITÄT

Die Kreuzreaktivität des Revogene Strep A Assays wurde mit hohen Anreicherungen von Organismen bewertet, die bei dem Test unberücksichtigt bleiben, phylogenetisch mit *S. pyogenes* verwandt sind oder in klinischen Rachenabstrichproben vorkommen. Die Studie umfasste 42 Bakterien, eine (1) Hefe, sechs (6) Viren und humane DNA (**Tabelle 5**). Die Bakterien und die Hefe wurden bei 10⁸ KBE/mL des SB getestet. Nukleinsäuren von Viren und humane DNA wurden bei 10⁵ DNA- oder RNA-Kopien/mL des SB getestet. Die Tests der Organismen erfolgten anhand einer quantifizierten Zellkultur oder Nukleinsäurelösung unter Verwendung einer für *S. pyogenes* negativen Rachenmatrix. Jeder Organismus wurde in drei PCR-Assays getestet.

Unter den Studienbedingungen waren alle Organismen und Nukleinsäuren mit dem Revogene Strep A Assay nicht reaktiv.

Die Kreuzreaktivität mit Primern und Sonden des Revogene Strep A Assays wurde am 8. August 2018 durch eine *In-silico*-Analyse der Sequenzen aus der Datenbank des National Center for Biotechnology Information (NCBI) bewertet. Es wurde bei keinem anderen Ziel außer *S. pyogenes* eine signifikante Homologie mit den Primern und der Sonde von *S. pyogenes* festgestellt.

Tabelle 5. Liste der Organismen, die zum Test der Kreuzreaktivität mit dem Revogene Strep A Assay herangezogen wurden

Bakterien		
<i>Acinetobacter lwoffii</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>		<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bacillus cereus</i>		<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Bordetella pertussis</i>		<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>		<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>		<i>Streptococcus anginosus</i> Unterart <i>whitleyi</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>		<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Escherichia coli</i>		<i>Streptococcus canis</i>
<i>Fusobacterium necrophorum</i>		<i>Streptococcus constellatus</i> Unterart <i>viborgensis</i>
<i>Haemophilus influenza</i>		<i>Streptococcus dysgalactiae</i> Unterart <i>dysgalactiae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Streptococcus dysgalactiae</i> Unterart <i>dysgalactiae</i> *
<i>Lactococcus lactis</i>		<i>Streptococcus gordonii</i>
<i>Legionella jordanis</i>		<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Legionella micdadei</i> (<i>Tatlockia micdadei</i>)		<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Legionella pneumophila</i>		<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Moraxella catarrhalis</i>		<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>		<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Neisseria subflava</i>		<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Parvimonas micra</i>		<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Streptococcus suis</i>
<i>Serratia marcescens</i>		<i>Veillonella parvula</i>
Hefe		
<i>Candida albicans</i>		
Viren		
Adenovirus Typ 1		Adenovirus Typ 11 (Slobitski)
Influenza B/Taiwan/2/62		Influenza A/Aichi/2/68/H3N2
Rhinovirus Typ 17		Parainfluenzavirus 4b
Humane DNA		
Humane DNA		

*Anderer ATCC-Stamm

INTERFERIERENDE ORGANISMEN

Die potenziell hemmende Wirkung von 30 Organismen, die in der normalen Rachen-, Mund- und/oder Respirationstraktflora vorhanden sein können und bei dem Test unberücksichtigt bleiben, wurde anhand von Organismen aus der Kreuzreaktivitätsstudie bewertet (**Tabelle 6**). Es wurde darauf geachtet, dass jede Organismuskategorie (d. h. Bakterien, Hefe, Viren) die häufigsten Erreger von Atemwegsinfektionen umfasst. Unter Verwendung einer für *S. pyogenes* negativen Rachenmatrix wurden Gruppen von einem (1) bis vier (4) Organismen drei Mal entweder mit dem *S. pyogenes* ATCC® 12344™ Stamm zu 999 KBE/mL des SB, mit dem *S. pyogenes* ATCC® 19615™ Stamm zu 3000 KBE/mL des SB oder mit für *S. pyogenes* negativen Proben getestet, um ihre Einflussnahme auf die Erkennung von *S. pyogenes* oder die PrC zu bewerten. Jeder Organismus einer Gruppe wurde für Bakterien und Hefe zu 10⁶ KBE/mL des SB und für Viren zu 10⁵ Kopien/mL des SB verdünnt. Die 30 Organismen der Studie sind in **Tabelle 6** aufgeführt.

Tabelle 6. Liste der Organismen, die zum Test der Beeinflussung des Revogene Strep A Assays herangezogen wurden

Gruppe 1	
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>
<i>Haemophilus influenza</i>	<i>Bordetella pertussis</i>
Gruppe 2	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Parvimonas micra</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
Gruppe 3	
<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Streptococcus anginosus</i> Unterart <i>whitley</i>
<i>Streptococcus constellatus</i> Unterart <i>viborgensis</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>
Gruppe 4	
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> Unterart <i>dysgalactiae</i>	
Gruppe 5	
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> Unterart <i>dysgalactiae</i>	
Gruppe 6	
<i>Streptococcus gordonii</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>
Gruppe 7	
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Gruppe 8	
<i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Gruppe 9	
Adenovirus Typ 1	Influenza B/Taiwan/2/62
Rhinovirus Typ 17	Influenza A/Aichi/2/68/H3N2

Keiner der 30 Organismen, die bei Bakterien und Hefe zu 10⁶ KBE/mL des SB und bei Viren zu 10⁵ Kopien/mL des SB vorhanden waren, hat die Erkennung der PrC oder des *S. pyogenes*-Stamms ATCC® 19615™ beeinflusst.

Organismen der Gruppe 5 und 7 wiesen eine potenziell hemmende Wirkung auf die Erkennung des *S. pyogenes*-Stamms ATCC® 12344™ auf. Dennoch wies der Stamm *S. dysgalactiae* Unterart *dysgalactiae* bei 10⁵ KBE/mL des SB keine Beeinträchtigung auf. Als jeder Organismus der Gruppe 7 einzeln bei 10⁵ KBE/mL des SB mit dem *S. pyogenes*-Stamm ATCC® 12344™ getestet wurde, trat keine Beeinträchtigung auf.

INTERFERIERENDE SUBSTANZEN

Die potenziell hemmende Wirkung von 16 exogenen und drei (3) endogenen Substanzen, die in einer Rachenabstrichprobe vorhanden sein können, wurde mit negativen *S. pyogenes*-Proben und Proben der *S. pyogenes*-Stämme ATCC® 12344™ und ATCC® 19615™ unter dreifacher (3-facher) Erhöhung der jeweiligen Nachweisgrenze (999 KBE/mL des SB bzw. 3000 KBE/mL des SB) unter Verwendung einer für *S. pyogenes* negativen Rachenmatrix bewertet. Die Substanzen wurden mit der jeweils potenziell höchsten Konzentration getestet, die in einer Rachenabstrichprobe zu finden sein könnte. Die Ergebnisse der 19 Substanzen sind in **Tabelle 7** aufgeführt.

Die Ergebnisse zeigten, dass schmerzlindernde/ fiebersenkende Mittel (Tylenol®), nicht-steroidale Entzündungshemmer (Aspirin®, Advil®), Bronchodilatoren (Albuterolsulfat), Vollblut und Mucin eine potenziell hemmende Wirkung auf die Erkennung der PrC oder des *S. pyogenes* aufweisen, wenn eine dieser Substanzen im SBT in einer Konzentration von 4,3 % (W/V oder V/V) vorhanden ist. Bei Tests zu 0,4 % (W/V) für Tylenol®, Advil®, Albuterolsulfat und Mucin oder zu 0,1 % (W/V) bzw. 0,1 % (V/V) für Aspirin® und Vollblut zeigte sich bei diesen Substanzen keine ausweisbare Beeinflussung des Revogene Strep A Assays.

Tabelle 7. Liste der mit dem Revogene Strep A Assay getesteten exogenen und endogenen Substanzen

Exogene Substanzen	
Substanz (Handelsname)	Konzentration in SB ohne beobachtbare Beeinflussung ¹
Schmerzlinderndes/fiebersenkendes Mittel (Tylenol®)	0,4 % (W/V)*
Nicht-steroider Entzündungshemmer (Aspirin®)	0,1 % (W/V)*
Nicht-steroider Entzündungshemmer (Advil®)	0,4 % (W/V)*
Bronchodilatator (Albuterolsulfat)	0,4 % (W/V)*
Nasen-Dekongestivum (Zicam®)	4,3 % (W/V)
Hustenbonbons (Halls Mento-Lyptus)	4,3 % (W/V)
Hustenbonbons (Cépacol® Extra Strength)	4,3 % (W/V)
Hustenbonbons (Sucrets® Complete)	4,3 % (W/V)
Zahnpasta (Crest® Pro-Health Advanced)	0,56 % (W/V)
Mundwasser (Crest® Scope® Classic)	4,3 % (V/V)
Mundwasser (Listerine® Ultraclean)	4,3 % (V/V)
Hustensaft (NyQuil™ Complete)	4,3 % (V/V)
Hustensaft (Dimetapp®)	4,3 % (V/V)
Hustensaft (Robitussin® Cough Control Extra Strength)	4,3 % (V/V)
Hustensaft (Robitussin Total® Cough, Cold & Flu Extra Strength Nighttime)	4,3 % (V/V)
Antihistaminikum (Benadryl® Allergy Elixir)	4,3 % (V/V)
Körpereigene Substanzen	
Substanz	Konzentration in SB ohne beobachtbare Beeinflussung ¹
Menschlicher Speichel	4,3 % (V/V)
Vollblut	0,1 % (V/V)*
Mucin aus submaxillären Rinderdrüsen	0,4 % (W/V)*

¹W/V: Weight/Volume; V/V: Volume/Volume
^{*}Höhere Konzentrationen als die hier angegebenen können zu Beeinflussung führen (siehe Einschränkungen oben)

VERSCHLEPPUNG UND KREUZKONTAMINATION

Die Verschleppung (zwischen den Läufen) und Kreuzkontamination (während den Läufen) wurde anhand von positiven Proben bewertet, die in einer für *S. pyogenes* negativen Rachenmatrix getestet wurden. Die positiven Proben wurden mit dem Stamm *S. pyogenes* ATCC® 12344™ zu einer Endkonzentration von 10⁵ KBE/mL des SB aufbereitet. Negative Proben wurden ebenfalls in einer für *S. pyogenes* negativen Rachenmatrix getestet.

Für die Verschleppungsstudie wurden insgesamt zehn (10) Läufe von zwei (2) Bedienern ausgeführt, wobei der Revogene Strep A Assay auf einem (1) Revogene erfolgte. Es wurden bei jedem Lauf vier (4) hoch positive Proben und vier (4) negative Proben jeweils im Wechsel getestet. Für die Kreuzkontaminationsstudie wurden von zwei (2) Bedienern insgesamt zehn (10) Läufe auf einem (1) Revogene ausgeführt. Dabei erfolgte ein Lauf mit acht (8) Replikaten hoch positiver Proben gefolgt von einem Lauf mit acht (8) Replikaten negativer Proben.

Die Abwesenheit von Verschleppung und Kreuzkontamination wurde nachgewiesen.

REPRODUZIERBARKEIT

An drei (3) Standorten wurde von zwei (2) Bedienern pro Standort eine Studie zur Reproduzierbarkeit zwischen Standorten durchgeführt. Die Studie erfolgte an fünf (5) verschiedenen Tagen unter Verwendung einer (1) Revogene Strep A-Set-Charge.

An einem (1) Standort wurde von zwei (2) Bedienern eine Studie zur Reproduzierbarkeit zwischen Chargen durchgeführt. Die Studie erfolgte über 15 Tage unter Verwendung von drei (3) Revogene Strep A-Assay-Set-Chargen (fünf (5) Tage pro Set-Charge). Für jede Reproduzierbarkeitsstudie wurden insgesamt 120 Replikate für negative Proben und 90 Replikate für jede Kategorie positiver Proben in einer für *S. pyogenes* negativen Rachenmatrix getestet. Zwei (2) *S. pyogenes*-Stämme wurden als positive Proben verwendet: ATCC® 12344™ und ATCC® 19615™.

- Probenkategorien wurden wie folgt beschrieben:
- Gering positiv (Low Positive, LP): Der Stamm *S. pyogenes* ATCC® 12344™ wurde bei 650 KBE/mL des SB getestet
 - Moderat positiv (MP): Der Stamm *S. pyogenes* ATCC® 19615™ wurde bei 3000 KBE/mL des SB getestet
 - Negativ (NEG): Proben ohne *S. pyogenes*-Stamm

Die Ergebnisse der einzelnen Probenkategorien, die im Rahmen der Studien zur Reproduzierbarkeit zwischen Standorten und Chargen getestet wurden, sind in **Tabelle 8** bzw. **Tabelle 9** aufgelistet. Bei der Reproduzierbarkeit zwischen Standorten lag die gesamte prozentuale Übereinstimmung für NEG, LP und MP bei 100 % (**Tabelle 8**). Bei der Reproduzierbarkeit zwischen Chargen lag die gesamte prozentuale Übereinstimmung für NEG, LP und MP jeweils bei 100 %, 97,8 % und 100 % (**Tabelle 9**).

Die allgemeinen Mittelwerte für den Zyklusgrenzwert (Cycle Threshold, Ct) mit Varianzkomponenten (SD und % CV) sind in **Tabelle 8** und **Tabelle 9** aufgelistet.

Tabelle 8. Ergebnisse der Studie zur Reproduzierbarkeit zwischen Standorten mit einer (1) Revogene Strep A Assay-Set-Charge

Kategorie	S. pyogenes-Stamm (ATCC®-Nummer)	Standort 1		Standort 2		Standort 3		Gesamt-ergebnisse/ Gesamtzahl	Gesamte prozentuale Übereinstimmung ¹	Gesamt 95 % CI	Ct-Werte ²		
		Ergebnisse/ Gesamt	Prozentuale Übereinstimmung	Ergebnisse/ Gesamt	Prozentuale Übereinstimmung	Ergebnisse/ Gesamt	Prozentuale Übereinstimmung				Mittelwert gesamt	SD	% CV
LP	ATCC® 12344™	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %	96,7 %–100 %	36,97	1,88	5,10
MP	ATCC® 19615™	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %	96,7 %–100 %	34,98	0,75	2,15
NEG	N/A	40/40	100 %	40/40	100 %	40/40	100 %	120/120	100 %	97,5 %–100 %	28,52	0,69	2,42

¹ Für die NEG-Kategorie wurde für negative Ergebnisse eine prozentuale Übereinstimmung berechnet.

² Für die LP- und MP-Kategorie beziehen sich die gemeldeten Ct-Werte auf das GAS-Ziel. Für die NEG-Kategorie beziehen sich die gemeldeten Ct-Werte auf die PrC.

Tabelle 9. Ergebnisse der Studie zur Reproduzierbarkeit zwischen Chargen an einem (1) Standort mit drei (3) Revogene Strep A Assay-Set-Chargen

Kategorie	S. pyogenes-Stamm (ATCC®-Nummer)	Charge 1		Charge 2		Charge 3		Gesamt-ergebnisse/ Gesamtzahl	Gesamte prozentuale Übereinstimmung ¹	Gesamt 95 % CI	Ct-Werte ²		
		Ergebnisse/ Gesamt	Prozentuale Übereinstimmung	Ergebnisse/ Gesamt	Prozentuale Übereinstimmung	Ergebnisse/ Gesamt	Prozentuale Übereinstimmung				Mittelwert gesamt	SD	% CV
LP	ATCC® 12344™	30/30	100 %	29/30	96,6 %	29/30	96,7 %	88/90	97,8 %	92,2 %–99,7 %	37,85	2,30	6,08
MP	ATCC® 19615™	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %	96,7 %–100 %	35,49	1,61	4,53
NEG	N/A	40/40	100 %	40/40	100 %	40/40	100 %	120/120	100 %	97,5 %–100 %	28,55	0,74	2,61

¹ Für die NEG-Kategorie wurde für negative Ergebnisse eine prozentuale Übereinstimmung berechnet.

² Für die LP- und MP-Kategorie beziehen sich die gemeldeten Ct-Werte auf das GAS-Ziel. Für die NEG-Kategorie beziehen sich die gemeldeten Ct-Werte auf die PrC.

PRÄZISION

An einem (1) Standort wurde von zwei (2) Bedienern über 20 Tage eine Präzisionsstudie mit einer (1) einzigen Revogene Strep A Assay-Set-Charge durchgeführt. Für jede Probenkategorie wurden zwei (2) Läufe pro Tag mit zwei (2) Replikaten pro Lauf durchgeführt. Insgesamt wurden also 80 Replikate getestet.

Alle Proben jeder Kategorie wurden in einer für *S. pyogenes* negativen Rachenmatrix getestet. Zwei (2) *S. pyogenes*-Stämme wurden als positive Proben verwendet: ATCC® 12344™ und ATCC® 19615™.

- Probenkategorien wurden wie folgt beschrieben:
- Gering positiv (Low Positive, LP): Der Stamm ATCC® 12344™ wurde bei 650 KBE/mL des SB getestet
 - Moderat positiv (MP): Der Stamm ATCC® 19615™ wurde bei 3000 KBE/ml des SB getestet
 - Negativ (NEG): Proben ohne *S. pyogenes*-Stamm

Die Präzisionsstudien für NEG, LP und MP ergaben jeweils eine Übereinstimmung von 97,5 %, 100 % und 100 % (**Tabelle 10**).

Tabelle 10. Prozentuale Übereinstimmung der Präzisionsstudie an einem (1) Standort mit einer (1) Revogene Strep A Assay-Set-Charge

Kategorie	S. pyogenes-Stamm ATCC®-Nummer	Gesamte prozentuale Übereinstimmung ¹	Gesamt 95 % CI
LP	ATCC® 12344™	100 %	96,3 %–100 %
MP	ATCC® 19615™	100 %	96,3 %–100 %
NEG	entf.	97,5 %	91,3 %–99,7 %

¹ Für die NEG-Kategorie wurde für negative Ergebnisse eine prozentuale Übereinstimmung berechnet.

E-LABELING

Die Dokumentation zu diesem Produkt steht online unter www.meridianbioscience.com/pi. Zur Verfügung. Papierexemplare sind auf Anfrage von Ihrem örtlichen Vertriebshändler oder telefonisch über die auf der Verpackung des Sets aufgeführten Rufnummern erhältlich.

REFERENCES

1. Bisno AL, Gerber MA, Gwaltney JM Jr, Kaplan EL, Schwartz RH, for the Infectious Diseases Society of America. Practice guidelines for the diagnosis and management of group A streptococcal pharyngitis. Clin Infect Dis. 2002;35(2):113–125.
2. Wegner DL, Witte DL, Schrantz RD. Insensitivity of rapid antigen detection methods and single blood agar plate culture for diagnosing streptococcal pharyngitis. JAMA 1992;267:695–697. 10.1001/jama.1992.03480050099033.
3. Shulman ST, Bisno AL, Clegg HW, Gerber MA, Kaplan EL, Lee G, Martin JM, Van Beneden C. Clinical practice guideline for the diagnosis and management of group A streptococcal pharyngitis: 2012 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2012;55:e86–e102. 10.1093/cid/cis629
4. Gerber MA, Baltimore RS, Eaton CB, Gewitz M, Rowley AH, Shulman ST, Taubert KA. Prevention of rheumatic fever and diagnosis and treatment of acute streptococcal pharyngitis: a scientific statement from the American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease Committee of the Council on Cardiovascular Disease in the Young, the Interdisciplinary Council on Functional Genomics and Translational Biology, and the Interdisciplinary Council on Quality of Care and Outcomes Research: endorsed by the American Academy of Pediatrics. Circulation 2009;119:1541–1551. 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.191959.
5. Snow V, Motur-Pilson C, Cooper RJ, Hoffman JR. 2001. Principles of appropriate antibiotic use for acute pharyngitis in adults. Ann Intern Med. 134:506–508. 10.7326/0003-4819-134-6-200103200-00018.
6. Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Revised December 2009
7. CLSI. Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-4th ed. CLSI document M29-A4. Wayne, PA : Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
8. SN134822 Revogene® Operator's Manual
9. Dale JB, Penfound TA, Chiang EY, Walton WJ. New 30-valent M protein-based vaccine evokes cross-opsonic antibodies against non-vaccine serotypes of group A streptococci. Vaccine. Oct 2011;26(29(46):8175-8. Page 22





Manufactured By

Meridian Bioscience, Inc.
Corporate Office
3471 River Hills Drive
Cincinnati, Ohio 45244 USA
Telephone: 513.271.3700
Orders/Customer Service:
800.543.1980
Technical Support Center:
800.343.3858
Information Fax: 513.272.5432
Ordering Fax: 513.271.0124



Authorized Representative

Meridian Bioscience Europe S.r.L.
Via dell'Industria, 7
20035 Villa Cortese, Milano
ITALY
Tel: +39 0331 43 36 36
Fax: +39 0331 43 36 16
Email: info@meridianbioscience.eu
WEB: www.meridianbioscience.com/eu

Meridian Bioscience Europe s.a./n.v.
2 Avenue du Japon - 1420 Braine l'Alleud
BELGIUM
Tel: +32 (0) 67 89 59 59
Fax: +32 (0) 67 89 59 58
Email: info.bnl@meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe France
34 rue de Ponthieu - 75008 Paris
FRANCE
Tel: +33 (0) 1 42 56 04 40
Fax: +33 (0) 9 70 06 62 10
Email: info.fr@meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe B.V.
Zekeringstraat 17 A
1014BM Amsterdam
NETHERLANDS
Tel: +31 (0) 411 62 11 66
Fax: +31 (0) 411 62 48 41
Email: Info.bnl@meridianbioscience.eu

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, Guía de símbolos, Zeichenerklärung)

	Use-by date / Data di scadenza / Date de péremption / Fecha de caducidad / Verwendbar bis
	Batch code / Codice di lotto / Code de lot / Código de lote / Chargennummer
	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i> / Instrument de test diagnostique <i>in vitro</i> / Producto sanitario para diagnóstico <i>In vitro</i> / <i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	CE Mark / Marcatura CE / Symbole CE / Marcado CE / CE-Kennzeichen
	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 / Limite de temperatura / Temperaturgrenze
	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
	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)
	Disposable Transfer Tool (DTT) / Disposable Transfer Tool 9DTT / Un outil de transfert jetable (OTJ) / Disposable Transfer Tool (DTT) / Dispoable Transfer Tool (DTT)
	Revogene Test Device / Dispositivo Test Revogene / Dispositif de test Revogene / Dispositivo para la Prueba Revogene / Revogene-Analysegefaß
	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
	Disposable Transfer Loop / Loop di trasferimento monouso / Boucles de transfert jetables / Bucles de transferencia desechables / Einwegübertragungsschleifen
	Sample Buffer Tube / Sample Buffer Tube / Un tube échantillon / Smample Buffer Tube / Sample Buffer Tube
	Revogene Test Device / Dispositivo Test Revogene / Dispositif de test Revogene / Dispositivo para la Prueba Revogene / Revogene-Analysegefaß

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 trademark of the American Type Culture Collection.
BBL and CultureSwab are trademarks of Becton, Dickinson and Company. Revogene and associated logos are trademarks of Meridian Bioscience, Inc.
© 2020-12 Meridian Bioscience, Inc. Made in Canada

TaqMan è un marchio registrato di Roche Molecular Systems, Inc. ATCC è un marchio commerciale di American Type Culture Collection. BBL è un marchio commerciale di Becton, Dickinson and Company.
Revogene e i loghi associate sono marchi commerciali di Meridian Bioscience, Inc.
© 2020-12 Meridian Bioscience, Inc. Prodotto in Canada.

TaqMan est une marque commerciale déposée de Roche Molecular Systems, Inc. ATCC est une marque commerciale de l'American Type Culture Collection.
BBL est une marque commerciale de Becton, Dickinson and Company.
Revogene et les logos connexes sont des marques déposées de Meridian Bioscience, Inc.
© 2020-12 Meridian Bioscience, Inc. Fabriqué au Canada.

TaqMan es una marca registrada de Roche Molecular Systems, Inc. ATCC es una marca comercial de American Type Culture Collection. BBL es una marca comercial de Becton, Dickinson and Company.
Revogene así como los logotipos asociados son marcas comerciales de Meridian Bioscience, Inc.
©2020-12 Meridian Bioscience, Inc. Hecho en Canadá

TaqMan ist eine eingetragene Marke von Roche Molecular Systems, Inc. ATCC ist eine Marke der American Type Culture Collection.
BBL ist eine Marke von Becton, Dickinson and Company.
Revogene und die damit verbundenen Logos sind Marken von Meridian Bioscience, Inc.
© 2020-12 Meridian Bioscience, Inc. Made in Canada.