



**AmpliVue**<sup>®</sup>  
GBS ASSAY

**Para la detección cualitativa de Streptococcus del grupo B de hisopos rectales / vaginales después de 18 a 24 horas de incubación en caldo**

**PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO***

**R<sub>x</sub> ONLY**

## Contenidos

USO PREVISTO .....	2
RESUMEN Y EXPLICACIÓN .....	2
PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO .....	3
MATERIALES PROVISTOS .....	3
MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROVISTOS .....	3
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES .....	3
ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN DE LOS REACTIVOS DEL KIT .....	4
RECOLECCIÓN, ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS .....	4
PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO .....	4
Lisis Térmica .....	4
Amplificación .....	5
Detección .....	5
Precaución .....	6
INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS .....	6
CONTROL DE CALIDAD .....	7
LIMITACIONES .....	7
VALORES ESPERADOS .....	8
RENDIMIENTO CLÍNICO .....	8
RENDIMIENTO ANALÍTICO - Límite de Detección .....	8
Reactividad Analítica (Inclusividad) .....	9
Estudio de Repetibilidad .....	9
Estudio de Reproducibilidad .....	9
Especificidad Analítica - Reactividad cruzada e Interferencia microbiana .....	10
Especificidad Analítica - Sustancias Interferentes .....	11
Contaminación de Arrastre/ Cruzada .....	12
ASISTENCIA .....	12

REFERENCIAS.....	12
GLOSARIO.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>



## USO PREVISTO

El Ensayo AmpliVue GBS es una prueba cualitativa diagnóstica *in vitro* diseñada para la rápida detección del Estreptococo de Grupo B en hisopados vaginales/rectales de mujeres en etapa de parto tras incubación en medio de enriquecimiento con caldo Lim de 18 a 24 horas. El Ensayo AmpliVue GBS utiliza amplificación dependiente de helicasa (HDA) de la secuencia de genes (*atoB*) de la tiolasa y un dispositivo de detección por amplificación desechable, autónomo, que permite la evaluación manual de los resultados de ensayos.

El Ensayo AmpliVue GBS no proporciona resultados de susceptibilidad. Se requieren aislados de cultivos para realizar pruebas de susceptibilidad según se recomienda para mujeres alérgicas a la penicilina.

El Ensayo AmpliVue GBS está destinado a hospitales o a ámbitos de laboratorios de referencia o estatales. El ensayo no está previsto para uso en puntos de atención al paciente.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El Ensayo AmpliVue GBS combina procesamiento simple de muestras, tecnología de amplificación isotérmica denominada amplificación dependiente de helicasa (HDA) y un dispositivo de detección del amplicón, desechable e independiente, para la detección de Estreptococo de Grupo B en hisopado vaginal/rectal tras incubación en medio de enriquecimiento con caldo Lim por 18 a 24 horas.

Se transfiere una pequeña cantidad de muestra cultivada a un tubo de dilución. Luego se transfiere el cultivo de la muestra diluida a un tubo de lisis y las células son sometidas a proceso de lisis por tratamiento térmico simple. Luego del tratamiento térmico, una alícuota de la muestra sometida a lisis se adiciona a un tubo de reacción que contiene una mezcla liofilizada de reactivos de HDA incluidos cebadores específicos para la amplificación del gen de la tiolasa (*atoB*). El razonamiento detrás de la selección de esta secuencia diana particular fue: (1) una búsqueda BLAST de este gen dio como resultado cero tiolasa con homología significativa en especies distintas a las pertenecientes a *S. agalactiae*; (2) el gen se mantiene en GBS según el reciente proyecto de Genoma de GBS. El ensayo también incluye un control de proceso que monitorea el procesamiento de las muestras, confirma la integridad de los reactivos del ensayo y cassette de detección, y busca inhibidores de HDA que pudieran estar presentes dentro del cultivo en caldo. Una vez finalizada la reacción HDA, el tubo de reacción se transfiere al cassette para una rápida detección. La prueba muestra el resultado en forma de líneas de Test (prueba) y/o de Control en la ventana del cassette.

*El Streptococcus agalactiae* (Estreptococo de Grupo B o GBS) es una bacteria coco Gram positiva, asociada a una cantidad de reservorios en adultos saludables (gastrointestinal, genital y tracto urinario). Se estima que, para un momento dado, el 20% de las mujeres embarazadas están colonizadas por GBS. Éste está asociado a bacteriuria asintomática, infección del tracto urinario y amnionitis y en mujeres que han dado a luz recientemente, provoca endometritis e infección de heridas.<sup>1</sup>

En la década de 1970, el GBS era una de las principales causas infecciosas de morbilidad y mortalidad neonatal precoz.<sup>2</sup> Como resultado de los esfuerzos de prevención, la incidencia del GBS declinó drásticamente de 1,7 casos cada 1.000 nacimientos vivos a principios de la década de 1990 a 0,34-0,37 casos cada 1.000 nacimientos vivos en 2008. Según estimaciones del CDC [Centro de Control de Enfermedades], el GBS provocó aproximadamente 1.200 casos de enfermedad invasiva de aparición temprana por año.<sup>3</sup> Los síndromes clínicos más comunes de la enfermedad de aparición temprana son sepsis y neumonía; menos frecuentemente, las infecciones de aparición temprana pueden provocar meningitis. La mortalidad de recién nacidos a término (gestación de  $\geq 37$  semanas) es de 2-3%, pero entre nacidos prematuros la mortalidad puede alcanzar 30%.

Un estudio que descarte la colonización por GBS en mujeres en etapa de parto (gestación entre 35 y 37 semanas) es uno de los componentes clave en la estrategia de detección de GBS por parte del CDC y es un mecanismo efectivo de prevención de la enfermedad estreptocócica Grupo B perinatal. Dado que la colonización puede ser transitoria, intermitente o persistente durante el embarazo, el estudio de descarte resulta más efectivo cuando se realiza con muestras tomadas dentro de las últimas cinco semanas (en gestación de 35 a 37 semanas) antes del parto y luego de enriquecimiento selectivo en medio de cultivo.

## PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

A la lisis de muestras sigue la amplificación del gen *atoB* si el GBS está presente en la reacción HDA. También sucede la amplificación competitiva del ADN del control del proceso salvo que estén presentes sustancias inhibitoras de la amplificación o salvo que falle el procesamiento de las muestras. La reacción HDA es asimétrica de modo que se forma un exceso de ADN de cadena simple a partir de un cebador biotinilado presente en la mezcla de reacción.

Las sondas de captura para cada amplicón se acoplan al ADN de cadena simple biotinilado correspondiente y el resultante híbrido sonda-amplicón con doble marcado es luego detectado con la ayuda de un cassette de detección de marca registrada. La línea inferior capta el híbrido sonda-amplicón diana marcado con FITC y la línea superior capta el híbrido sonda-amplicón control marcado con DNP. La marca de biotina atrae las partículas de color conjugadas con estreptavidina para conseguir la visualización, y el resultado de la prueba se muestra en líneas de color notorias a simple vista. El cassette, independiente, consta de dos componentes distintos: un cartucho amplicón, que contiene el tampón de corrida y un único tubo de reacción de paredes delgadas, de 0,2 mL, con el producto amplificado; y la cámara de detección que aloja al cartucho amplicón y una tira de detección de ADN de flujo vertical inserta dentro del cassette. La tira de detección de ADN está revestida con anticuerpo anti-FITC y anticuerpo anti-DNP que sirven como línea de prueba (T) y línea de control (C) del GBS respectivamente en el ensayo. Una cuchilla y una aguja de plástico ubicados en la parte inferior de la cámara de detección abren el tubo de reacción HDA y la ampolla del tampón de corrida cuando se cierra el asa de la cámara de detección. La mezcla fluye a través del papel de fibra de vidrio conectado a la tira de detección del ADN que está adherida mediante una almohadilla de fibra de vidrio cargada de antemano con partículas de color conjugadas con estreptavidina para la visualización del color. La detección del GBS se informa cuando se hace visible la línea T a través de la ventana de detección del cassette. Se informa la no detección de GBS cuando únicamente la Línea C se hace visible. Se considera un resultado indefinido cuando no aparece ninguna de las líneas.

## MATERIALES PROVISTOS

Cat. #M202

16 pruebas por Kit

Componente	Cantidad	Almacenamiento
Cassettes de Detección Parte 1185001	16/kit	2°C a 30°C
Tampón de Dilución Parte M5064	16 tubos/kit 0,35 mL	2°C a 8°C
Tampón de Lisis Parte M5066	16 tubos/kit 0,35 mL	2°C a 8°C
Tubos de Reacción Parte M5077	16 tubos/kit	2°C a 8°C
Cartucho Amplicón Parte 1215400	16/kit	2°C a 30°C

## MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROVISTOS

- Controles externos para *Streptococo* Grupo B (por ejemplo, el Set de Control GBS de Quidel Molecular, Cat. #M116, que contiene controles positivos y negativos, sirve como control externo de procesamiento y extracción).
- Puntas de micropipeta estériles sin ADNsa con filtro o descartables.
- Micropipeta
- Cronómetro o temporizador
- Tijera o cuchilla.
- Bandeja de microtubos
- Bloque térmico con capacidad calorífica de 95°C ± 2°C.
- Bloque térmico con tapa térmica con capacidad calorífica de 64°C ± 2°C.
- Termómetro

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- La totalidad de los reactivos son para uso diagnóstico *in vitro* únicamente.
- Trate todas las muestras como si fueran potencialmente infecciosas. Tome los recaudos universales cuando manipule muestras, este kit o su contenido.
- Cierre bien todos los tubos previo a mezclar en el agitador vórtex.
- La adecuada recolección, almacenamiento y transporte de las muestras son esenciales para obtener resultados precisos.
- Almacene los reactivos del ensayo según se indica en las etiquetas individuales.

- Los reactivos de diferentes lotes no son intercambiables.
- Nunca agrupe reactivos de tubos diferentes incluso cuando provengan del mismo lote.
- No utilice reactivos con fecha de caducidad vencida.
- No intercambie las tapas de los reactivos ya que puede ocurrir contaminación y comprometer los resultados de la prueba.
- Los tubos deben abrirse solamente cuando se agreguen o extraigan alícuotas de los tubos. A excepción de estos dos momentos, mantenga los tubos siempre cerrados para evitar contaminación.
- Para evitar la contaminación del entorno con amplicones de GBS, no abra los tubos de reacción después de la amplificación.
- Evite la contaminación microbiológica y con desoxirribonucleasa (ADNsa) de los reactivos cuando extraiga alícuotas de los tubos. Se recomienda el uso de puntas de pipeta desechables y estériles, sin ADNsa y con filtro o descartables.
- Utilice una nueva punta de pipeta para cada muestra o reactivo.
- Realizar el ensayo fuera de los intervalos de tiempo recomendados puede generar resultados inválidos. Los ensayos que no se completen dentro de los intervalos de tiempo especificados deberían repetirse.
- A fin de evitar la exposición a calor excesivo, se debe tener cuidado al insertar y quitar los tubos de los bloques térmicos y al manipular los tubos calientes.
- Es posible que se prueben controles adicionales conforme a los lineamientos o reglamentaciones de normativa local, estadual, provincial y/o federal o los emitidos por entidades de acreditación.
- En aquellos casos donde el laboratorio lleve a cabo pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tubo abierto en la misma área general, se deben utilizar áreas de trabajo separadas o segregadas para las actividades de preparación de muestras y de amplificación y detección. Tanto los suministros como el equipo deberían estar asignados a cada área y no ser movidos de una a otra. Se deben usar guantes en todo momento, y se los debe cambiar cuando se cambie de área. Se deben cambiar los guantes antes de manipular los reactivos.
- Lávese las manos minuciosamente después de realizar la prueba.
- No pipetee con la boca.
- No fume, beba ni coma en las áreas donde se manipulen muestras o reactivos del kit.
- Deseche los reactivos que no haya utilizado y los residuos según reglamentaciones federales, provinciales, estadales o locales correspondientes.
- Utilice ropa de protección adecuada, guantes y protección facial y ocular cuando utilice este kit.
- Para obtener resultados exactos, debe pipetear con cuidado utilizando únicamente equipo calibrado.
- Limpie minuciosamente y desinfecte todas las superficies con una solución de lavandina al 10%, seguida de agua de calidad para biología molecular.
- Utilice micropipetas resistentes a aerosoles o con puntas descartables para todos los procedimientos.
- Para obtener información adicional sobre los símbolos de peligro, seguridad, manejo y desecho de los componentes dentro de este kit, por favor consulte la Hoja de Datos de Seguridad (SDS) situado en [quidel.com](http://quidel.com).

## ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN DE LOS REACTIVOS DEL KIT

Guarde los reactivos del ensayo y cassettes de detección según se indica en las etiquetas de cada uno.

## RECOLECCIÓN, ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

Las muestras serán hisopados de zona vaginal/rectal obtenidos de mujeres en etapa de parto para medio de enriquecimiento con caldo Lim.

La recolección, almacenamiento y manipulación de las muestras debería seguir el procedimiento clínico recomendado por el CDC.

**Tipo de Muestra:** Hisopados de la zona vaginal o rectal tras incubación durante 18 a 24 horas a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  en medio de enriquecimiento con caldo Lim. El medio de enriquecimiento cultivado puede conservarse a una temperatura de  $20^\circ\text{C}$  a  $25^\circ\text{C}$  o de  $2^\circ\text{C}$  a  $8^\circ\text{C}$  hasta 25 horas previo a la prueba.

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

### Lisis Térmica

1. 25 minutos antes del paso de lisis por calor, lleve el bloque térmico a  $95 \pm 2^\circ\text{C}$ .
2. Agite el cultivo de caldo con 18 a 24 horas de incubación en el agitador vórtex durante 15 segundos para asegurar una mezcla completa.

3. Transfiera 50 µL del cultivo de caldo mezclado a un tubo de dilución rotulado y mezcle en el agitador vórtex durante 10 segundos.
4. Transfiera 50 µL del tubo de dilución el cultivo de caldo diluido a un tubo con solución tampón de lisis rotulado y mezcle en el agitador vórtex durante 10 segundos.
5. Caliente el tubo con tampón de lisis a  $95 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 10 minutos y luego mezcle en el agitador vórtex durante 10 segundos.

**Nota:** Comience el proceso de lisis de 10 minutos luego de colocar los tubos en el bloque y espere hasta que el bloque vuelva a  $95^\circ\text{C}$  de temperatura.

## Amplificación

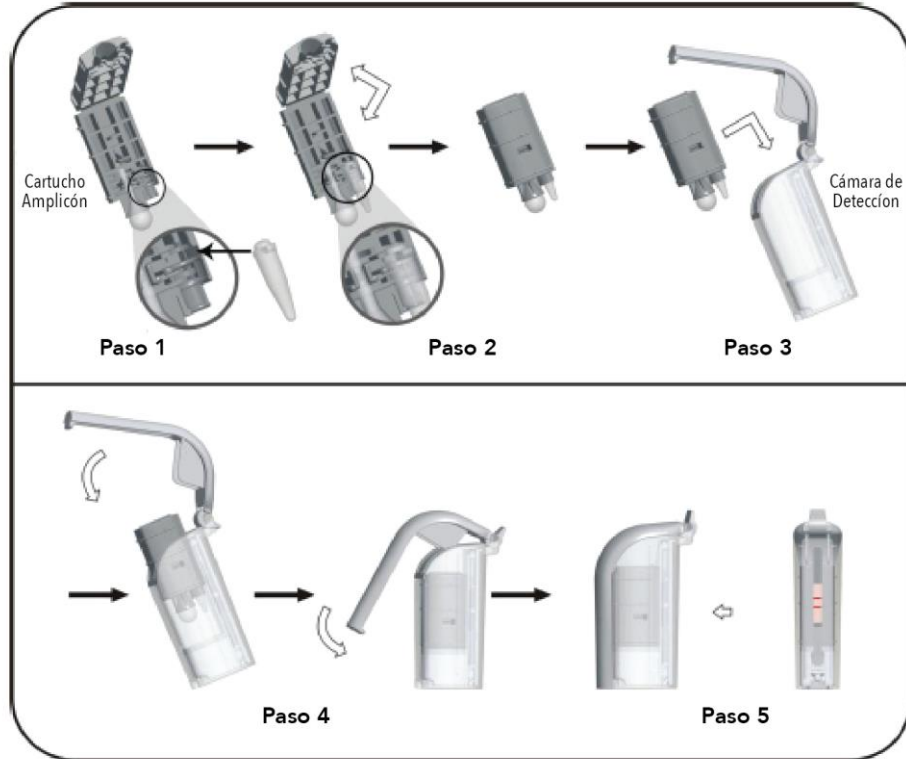
1. 15 minutos antes del paso de amplificación, caliente un bloque térmico con una tapa térmica a  $64^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ .
2. Transfiera 50 µL de la muestra lisada a un Tubo de Reacción rotulado y rehidrate reactivos liofilizados, pipeteando hacia arriba y hacia abajo 3 a 5 veces para mezclar. Cierre bien la tapa y proceda al siguiente paso.
3. Incube los Tubos de Reacción a  $64^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  durante 60 minutos en un bloque térmico con una tapa térmica.

**Nota:** Para evitar la contaminación en laboratorio, una vez que esté cerrado y que ya haya comenzado la reacción de amplificación, **NO** abra el Tubo de Reacción.

## Detección

1. Abra un paquete con Cassette de Detección. Etiquete el cassette según corresponda. Asegúrese de que la ampolla con solución tampón continúe colocada en el Cartucho Amplicón.
2. Coloque el Tubo de Reacción en el Cartucho Amplicón (Figura 1, paso 1). Asegúrese de colocar la BISAGRA de la tapa del Tubo de Reacción en el espacio más grande adyacente a la ampolla tampón.
3. Cierre el Cartucho Amplicón (Figura 1, paso 2). El ruido a chasquido es la señal de que cerró bien. Si no se produce el chasquido, reposicione el tubo dentro del cartucho. Inserte el Cartucho Amplicón cerrado en el Cassette de Detección (Figura 1, paso 3).
4. Asegúrese de que la flecha apunte a la tira de detección (el Tubo de Reacción debería estar alineado con la cuchilla, y la ampolla de plástico con el tampón de corrida debería estar alineado con la aguja). Identifique el cassette en la parte superior y/o costado del contenedor exterior.
5. Mantenga el dispositivo en posición vertical y presione el asa del contenedor exterior para cerrar el dispositivo (Figura 1, paso 4). El asa quedará asegurada cuando se cierre por completo (Figura 1, paso 5).
6. Espere 10 minutos y lea los resultados. **Nota: los resultados permanecen estables durante sesenta minutos.**
7. Deseche las Cámaras de Detección utilizadas en bolsas selladas siguiendo las normas de su laboratorio.

Figura 1

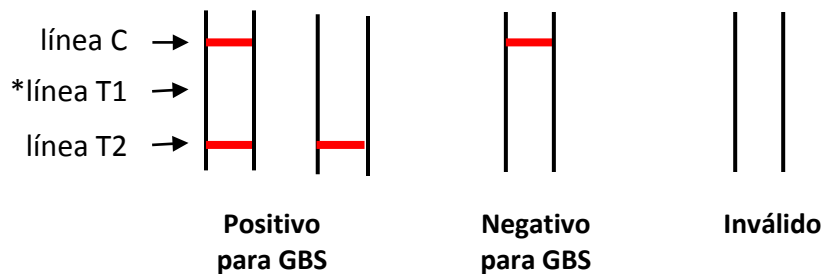


### Precaución

1. NO abra el Cassette de Detección AmpliVue después de usado. Abrir el Cassette después de haberlo usado puede resultar en contaminación de amplicón en el área de ensayo.
2. Tome la cantidad necesaria de Tubos de Reacción de la bolsa protectora, elimine el aire en exceso y vuelva a sellar la bolsa.

### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Cualquier línea visible de color rosado a rojo debe registrarse como positivo (+) y ninguna línea debe registrarse como (-); por ejemplo, "T+" = línea T visible y "T-" = Sin línea T (Ver diagrama a continuación).
- La línea T2 detecta el ADN de GBS.
- La línea C detecta el ADN del control de proceso en ausencia de ADN de GBS diana. En presencia del ADN de GBS diana, la línea C detecta productos amplificados procedentes tanto del ADN de GBS como del control de proceso. La intensidad de la línea de control puede variar con cada prueba. Cualquier línea visible de color rosado a rojo en el control significa que la prueba es válida.



La interpretación de los resultados del ensayo se realiza conforme a los siguientes criterios:

Lectura de la Línea de Prueba (T)	Lectura de línea de Control (C)	Interpretación del resultado
T2+	C+	ADN de GBS detectado (Positivo)
T2+	C-	ADN de GBS detectado (Positivo)
T2-	C+	Sin ADN de GBS detectado (Negativo)
T2-	C-	Inválido: falla debido a muestra inhibidora, falla de reactivo, o falla del dispositivo. Repetir prueba con caldo LIM original.

**\*Nota 1:** La línea T1 no se usa en este ensayo. La presencia de una línea T1 debe considerarse resultado inválido para este ensayo. Repetir prueba con caldo LIM original.

## CONTROL DE CALIDAD

El Ensayo AmpliVue GBS incorpora varios controles para monitorear el rendimiento del ensayo.

1. Se utiliza el control de proceso para monitorear el procesamiento de muestra, para detectar muestras inhibidoras de HDA y para confirmar la integridad de los reactivos del ensayo y cassette de detección. El control de proceso está incluido en el Tubo con Tampón de Dilución
2. Se puede tratar el control positivo externo como muestra de paciente. El control debería muestrearse y someterse a prueba como si fuera cultivo en caldo y procesarse según se describe en el Procedimiento del Ensayo más arriba. El control positivo externo tiene como objetivo monitorear fallas sustanciales de reactivos y de cassette.
3. Se puede tratar el control negativo externo como muestra de paciente. El control debería muestrearse y someterse a prueba como si fuera cultivo en caldo y procesarse según se describe en el Procedimiento del Ensayo más arriba. El control negativo externo se utiliza para detectar contaminación de reactivos o ambiental (o de arrastre) con amplicón o ADN de GBS.

Se recomienda verificar la reactividad de cada nuevo lote y cada nuevo cargamento del Ensayo AmpliVue GBS al recibirlos y antes de su uso. Las pruebas de control externo deben realizarse de conformidad con los lineamientos federales, estatales y locales correspondientes. El Ensayo AmpliVue GBS no debe utilizarse para evaluar pacientes si los controles externos no arrojan resultados adecuados.

## LIMITACIONES

- La principal técnica de laboratorio requerida es la de pipeteo. Una buena técnica de laboratorio es esencial para el rendimiento adecuado de este ensayo. Debido a la alta sensibilidad analítica de esta prueba, deben extremarse las medidas para preservar la pureza de todos los reactivos, en especial en casos en donde se toman alícuotas múltiples de un tubo.
- El Ensayo AmpliVue GBS no distingue entre organismos viables y no viables.
- El Ensayo AmpliVue GBS es para uso con muestras de hisopados de zona vaginal/rectal obtenidos conforme a lineamientos establecidos para la recolección de muestras de cultivo de *Streptococo* de Grupo B. Muestras cervicales, perianales, perirectales o perineales no son tipos de muestras aceptables. No está previsto que se utilice espéculo para la recolección de muestras.
- La realización del ensayo AmpliVue GBS fue validado únicamente con el medio de caldo Lim. No hubo validación con otros medios de enriquecimiento selectivo de GBS.
- El ensayo AmpliVue GBS no proporciona resultados de susceptibilidad. Se requiere de aislados de cultivo para realizar testeos de susceptibilidad según se recomienda para mujeres alérgicas a penicilina.
- La colonización por GBS durante el embarazo puede ser transitorio, intermitente o persistente. La utilidad clínica de estudios para descartar GBS disminuye cuando se realiza el testeos antes de las últimas cinco semanas previas al parto.

- No se realizó la evaluación de colonias no hemolíticas como parte de pruebas del Sitio Clínico.
- Un resultado negativo no permite descartar la posibilidad de colonización por GBS. Puede haber resultados falsos negativos cuando la concentración de GBS en la muestra cae por debajo del LOD.
- El Ensayo AmpliVue GBS no tiene como objetivo diferenciar portadores de GBS de pacientes con enfermedad estreptocócica.
- Las mutaciones o polimorfismos en los centros de unión de cebadores o sondas pueden afectar la detección de variantes nuevas o desconocidas y puede arrojar un falso negativo.

## VALORES ESPERADOS

El rendimiento clínico del Ensayo AmpliVue GBS con caldo para enriquecimiento Lim se determinó en muestras provenientes de mujeres en etapa de parto en cuatro sitios clínicos durante un estudio clínico realizado en 2013. Se testearon novecientas ochenta y ocho muestras obtenidas de mujeres en etapa de parto con gestación de entre 35 a 37 semanas de cuatro sitios geográficos diversos de Estados Unidos. El rango etario para estas mujeres iba entre 15 a 44 años de edad. El porcentaje de casos positivos según lo determinó el ensayo AmpliVue GBS durante el estudio fue de 27,3% (248 de 908).

## RENDIMIENTO CLÍNICO

Las características de rendimiento del Ensayo AmpliVue GBS se establecieron durante un estudio prospectivo realizado entre julio y noviembre de 2013. Se recogieron novecientas once (911) muestras utilizadas para este estudio de mujeres en etapa de parto con gestaciones de entre 35 y 37 semanas en cuatro sitios geográficos diversos de Estados Unidos. El rango etario para estas mujeres iba entre 15 a 44 años de edad.

Se testearon novecientas once (911) muestras tanto por medio del Ensayo AmpliVue GBS como por medio de cultivo bacteriano. Tres (3) muestras (0,3%) resultaron inválidas en el Ensayo AmpliVue GBS en el testeo inicial. Tres (3) muestras siguieron siendo inválidas al momento de repetir el testeo. Decidimos calcular el rendimiento clínico en base al resultado inicial de la prueba obtenido para cada muestra. Por tanto, los datos que se consignan a continuación corresponden a las novecientas ochenta y ocho (908) muestras restantes.

Sitios Combinados								
Cultivo Bacteriano					IC 95%			
Ensayo AmpliVue GBS		POS	NEG	Total	<b>Sensibilidad</b>	99,5%	96,9%	100%
	POS	196	52*	248	<b>Especificidad</b>	92,7%	90,5%	94,3%
	NEG	1**	659	660				
	Total	197	711	908				

\*Las cincuenta y dos (52) muestras discordantes (Positivo según AmpliVue/Negativo según Cultivo Bacteriano) informadas más arriba fueron sometidas a prueba con dispositivo molecular autorizador por la FDA [Administración Estadounidense de Medicamentos y Alimentos] para la detección de GBS. Treinta y nueve (39) de estas muestras resultaron positivas y trece (13) resultaron negativas para GBS.

\*\*La única (1) muestra discordante (Negativo según AmpliVue/ Positivo según Cultivo Bacteriano) informada arriba fue sometida a prueba con dispositivo molecular autorizado por la FDA para la detección de GBS y resultó negativa.

## RENDIMIENTO ANALÍTICO - Límite de Detección

La sensibilidad analítica (límite de detección o LOD) del Ensayo AmpliVue GBS se definió utilizando cultivos cuantificados (UFC/mL) de seis cepas de *Streptococcus agalactiae* diluidas de forma seriada en caldo para enriquecimiento Lim. Se define la sensibilidad analítica (LOD) como la concentración más baja a la que el 95% de todos los duplicados testearon positivo.



El LOD correspondiente a las seis (6) cepas testeadas oscila entre  $1,24 \times 10^5$  y  $1,39 \times 10^6$  UFC/mL. Sobre estos datos, el LOD informado para el Ensayo AmpliVue GBS es el valor más alto de las seis cepas:  $1,39 \times 10^6$  ufc/mL.

Cepa	Serotipo	UFC/Ensayo	UFC/mL
BAA-611	V	1084	$1,39 \times 10^6$
SS617	Ia	543	$6,96 \times 10^5$
SS618	Ib	470	$6,02 \times 10^5$
SS619	II	441	$5,64 \times 10^5$
ATCC 12403	III	690	$8,84 \times 10^5$
SS700	Ic	97	$1,24 \times 10^5$

## Reactividad Analítica (Inclusividad)

Se evaluó la reactividad del Ensayo AmpliVue GBS frente a doce (12) cepas adicionales de *Streptococcus agalactiae*. El testeo se realizó cerca del nivel de detección correspondiente al ensayo (1x el LOD). El Ensayo AmpliVue GBS detectó las doce (12) cepas en este estudio a un LOD de 1084 UFC/ensayo ( $1,39 \times 10^6$  UFC/mL).

Cepa bacteriana	Serotipo	Proveedor
ATCC 12973	II	ATCC
CCUG 28551	IV	CCUG
CCUG 29785	VI	CCUG
ATCC 49449	X	ATCC
ATCC 27956	no tipificado	ATCC
ATCC 7077	no tipificado	ATCC
ATCC 4768	no tipificado	ATCC
ATCC 12927	no tipificado	ATCC
ATCC 9925	no tipificado	ATCC
ATCC 55194	no tipificado	ATCC
ATCC 55191	no tipificado	ATCC
CNCTC 6609	VII	CNCTC

## Estudio de Repetibilidad

Se determinó la precisión/Repetibilidad Intralaboratorio mediante un estudio consistente en un panel de cuatro componentes (3x, 1x, 0,3x el LOD y una muestra negativa), sometido a prueba por dos (2) operadores, dos veces al día (2x) durante doce (12) días.

El Ensayo AmpliVue GBS produce resultados altamente reproducibles. Esta observación se basa en los siguientes hallazgos:

- Todas las muestras negativas generaron resultados negativos para GBS.
- El porcentaje de muestras de Negativo Alto positivas (0,3x el LOD) es de 47,9%, es decir dentro del rango diana de 20% a 80%.
- El porcentaje de muestras de Positivo Bajo positivas (1x el LOD) fue de 99%.
- El porcentaje de muestras de Positivo Moderado positivas (3x el LOD) fue del 100%.

## Estudio de Reproducibilidad

A fin de confirmar la reproducibilidad del Ensayo AmpliVue GBS, se realizó una prueba con panel de estudio ciego y aleatorizado con muestras positivas y negativas de *Streptococcus agalactiae* en tres (3) sitios de prueba (una, en laboratorio propio y dos (2) en sitios clínicos). Cada sitio testeó un panel de reproducibilidad y Controles de Ensayo durante cinco (5) días por triplicado. Dos operadores llevaron a cabo el testeo en cada sitio. Cada

operador hizo correr el panel una vez por día utilizando un lote del Ensayo AmpliVue GBS. Se testeó un total de quinientas cuarenta (540) muestras (controles incluidos). El Ensayo AmpliVue GBS generó resultados reproducibles en este estudio.

Categoría	Sitio						Porcentaje General Concordancia		IC 95%
	Sitio 1		Sitio 2		Sitio 3				
	#resultados esperados/# testeados	% Concordancia	#resultados esperados/# testeados	% Concordancia	#resultados esperados/# testeados	% Concordancia			
Negativo Alto GBS	18/30	60%	24/30	80%	28/30	93%	70/90	78%	68%-85%
Positivo Bajo GBS	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	95%-100%
Positivo Moderado GBS	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	95%-100%
Negativo GBS	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	95%-100%
Control Positivo GBS	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	95%100%
Control Negativo GBS	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%	95%-100%

### Especificidad Analítica – Reactividad cruzada e Interferencia microbiana

Se realizó un estudio para determinar si noventa y un (91) microorganismos o virus (setenta y seis [76] bacterias, tres levaduras [3], once [11] virus y un [1] parásito) potencialmente encontrados en muestras vaginales/rectales presentan reactividad cruzada con el Ensayo AmpliVue GBS. Los mismos noventa y un (91) microorganismos fueron utilizados para determinar si interferían con dos (2) cepas de *Streptococcus agalactiae* a una concentración de 2x el LOD en el Ensayo AmpliVue GBS. Los microorganismos fueron testeados por encima de niveles clínicamente relevantes (bacterias  $\geq 1 \times 10^6$  UFC/mL, virus  $\geq 1 \times 10^3$  TCID<sub>50</sub>/mL).

También se evaluó el ADN genómico humano en términos de reactividad cruzada e interferencia.

Bacterias		
<i>Abiotrophia defectiva</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Salmonella enterica enterica</i> Serovar Typhimurium
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Salmonella enterica indica</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>
<i>Alcaligenes faecalis faecalis</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mobiluncus mulieris</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Moraxella cartarrhalis</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Clostridium butyricum</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>

<b>Bacterias</b>		
<i>Clostridium haemolyticum</i>	<i>Pleisiomonas shigelloides</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Clostridium novyi</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Clostridium orbiscindens</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Streptococcus pneumonia</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Clostridium septicum</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>	<i>Streptococcus suis</i>
<i>Clostridium sordellii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Clostridium sporogenes</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>S. dysgalactiae equisimilis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Salmonella choleraesuis (typhimurium)</i>	
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Salmonella enterica arizonae</i>	

<b>Levaduras</b>		
<i>Candida albicans</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida parapsilosis</i>

<b>Virus</b>		
Adenovirus	Enterovirus	Norovirus
CMV	HPV-16	Rotavirus
Coxsackievirus	HSV-1 (Macintyre)	VZV
Echovirus	HSV-2 (G)	

<b>Parásito</b>
<i>Trichomonas vaginalis</i>

Ninguno de los organismos o virus testeados más arriba presentaron reactividad cruzada o interferencia con el rendimiento del Ensayo AmpliVue GBS.

El ADN genómico humano no presentó reactividad cruzada ni interferencia con el rendimiento del Ensayo AmpliVue GBS.

## Especificidad Analítica - Sustancias Interferentes

Se evaluó el rendimiento del Ensayo AmpliVue GBS con sustancias potencialmente interferentes que pudieran estar presentes en muestras vaginales/rectales. Se evaluaron sustancias potencialmente interferentes utilizando una cepa simple de *S. agalactiae* a una concentración de 2x el LOD.

Nombre de la sustancia	Concentración Testeada	Resultado GBS	Nombre de la sustancia	Concentración Testeada	Resultado GBS
ImodiumAD® (Loperamida HCl)	1,5 µg/mL	Positivo	Hamamelis	0,15%	Positivo
Mucina	4,5 µg/mL	Positivo	Cloruro de Benzalconio	0,00018%	Positivo
Sulfato de bario	7,5 µg/mL	Positivo	Azúcar en heces - Dextrosa	1,5 µg/mL	Positivo
Grasa en heces - Ácido Palmítico	1,95 µg/mL	Positivo	Albumina sérica humana	15 µg/mL	Positivo
Mylanta® Mg(OH)2	0,15 µg/mL	Positivo	Aceite mineral	0.015% v/v	Positivo
Crema para hemorroides (Fenilefrina HCl)	30 µg/mL	Positivo	Triclosán	0,001%	Positivo
Hemoglobina	4,8 µg/mL	Positivo	Crema para hemorroides (Crema Marca Target)	0,015% de hisopado	Positivo
Mylanta® Al(OH)3	0,15 µg/mL	Positivo	Anusol® (Hidrocortisona en crema)	0.015% de hisopado	Positivo

Nombre de la sustancia	Concentración Testeada	Resultado GBS	Nombre de la sustancia	Concentración Testeada	Resultado GBS
Prilosec® (Esomeprazol Magnésico Hidratado)	0,75 µg/mL	Positivo	Desitin®(Óxido de zinc)	0,015% de hisopado	Positivo
Tums® (Carbonato de Calcio)	0,75 µg/mL	Positivo	Gel KY	0,015% de hisopado	Positivo
Grasa en heces - Ácido esteárico	39 µg/mL	Positivo	Vaselina	0,015% de hisopado	Positivo
Kaopectate® (Subsalicilato de Bismuto)	1,3 µg/mL	Positivo	Hisopado de preservativo (Nonoxinol-9)	0,015% de hisopado	Positivo
Tagamet® (Cimetidina)	0,75 µg/mL	Positivo	Talco	0,015% de hisopado	Positivo
Etanol	0,015% v/v	Positivo	Meconio	0,015% de hisopado	Positivo
Sal de Nitrato de Miconazol	0,003%	Positivo	Líquido amniótico	0,0750%	Positivo
Nistatina	15 unidades de USP/mL	Positivo	Materia fecal	0,015%	Positivo
Orina	0,05%	Positivo	Sangre entera	0,006%	Positivo

No hubo evidencia de interferencia provocada por las sustancias testeadas.

## Contaminación de Arrastre/ Cruzada

Se evaluaron tres (3) series de veintidós (22) muestras consistentes en once (11) muestras negativas y once (11) muestras positivas altas de *S. agalactiae* ( $8,5 \times 10^8$  UFC/mL) en un patrón alternado. Todas las muestras positivas resultaron positivas (33 en total) y todas las muestras negativas resultaron negativas (33 en total). No se observó contaminación de arrastre al realizar el Ensayo AmpliVue GBS conforme a sus instrucciones de uso.

## ASISTENCIA

Para hacer un pedido o solicitar Servicio Técnico, póngase en contacto con un representante de Quidel llamando al 800 874-1517 (dentro de EE. UU.) o al 858 552-1100 (para afuera de Estados Unidos), de lunes a viernes, de 8:00 a.m. a 5:00 p.m. hora de la costa este de Estados Unidos. También pueden realizarse pedidos por fax al 740 592- 9820. Para solicitar asistencia por correo electrónico, envíe mensaje a [customerservice@quidel.com](mailto:customerservice@quidel.com) o [technicalsupport@quidel.com](mailto:technicalsupport@quidel.com). Para obtener asistencia fuera de los Estados Unidos, póngase en contacto con su distribuidor local. Puede obtener información adicional sobre Quidel, nuestros productos y nuestros distribuidores en nuestro sitio web: [quidel.com](http://quidel.com).

## REFERENCIAS

1. Clinical Microbiology procedures Handbook. 3<sup>rd</sup> ed. Washington DC: ASM Press, 2010; 3.9.2.1-3.9.2.7.
2. Centers for Disease Control and Prevention. *Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease: Revised Guideline from CDC* Morbidity and Mortality Weekly Report, November 19, 2010; 59(No. RR-10);1-23.
3. CDC. Active Bacterial Core Surveillance Report, Emerging Infections Program Network, Group B *Streptococcus*, 2008. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, CDC; 2009. Disponible en <http://www.cdc.gov/abcs/reports-findings/survreports/GBS08.html>.

**REF**

M202 – Ensayo AmpliVue GBS

**IVD**



**EC**

**REP**

MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover,  
Germany



**Quidel Corporation**  
2005 East State Street, Suite 100  
Athens, OH 45701 USA  
[quidel.com](http://quidel.com)

**PIM202000ES00 (12/15)**

## GLOSARIO

---

**REF**

Número del catálogo



Marca CE de conformidad

---

**EC REP**

Representante Autorizado  
en la Comunidad Europea

**LOT**

Código de lote

---



Usar antes de



Fabricante

---



Limites de temperatura



IUsó Previsto

---

**R<sub>x</sub> ONLY**

Uso bajo receta solamente



Consulte etiquetado electrónico para  
instrucciones de uso

---

**IVD**

Para uso diagnóstico *in vitro*



Contiene una cantidad suficiente para  
16 determinaciones

---

**CONT**

Contenido / Contiene

---