




Lyra[®] Direct
Strep ASSAY

Para la detección cualitativa y diferenciación de ácidos nucleicos de Estreptococo de grupo A y Estreptococo de grupo C y G piógenos aislados en muestras de hisopados de garganta obtenidas de pacientes con síntomas de faringitis, incluidos dolor de garganta.

PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

R_x ONLY

Contents

Contents.....	1
 USO PREVISTO.....	2
RESUMEN Y EXPLICACIÓN.....	2
PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO.....	3
MATERIALES PROVISTOS.....	3
MATERIAL OPCIONAL.....	4
MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROVISTOS.....	4
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.....	4
ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN DE LOS REACTIVOS DEL KIT.....	5
RECOLECCIÓN, ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS.....	5
ALMACENAMIENTO DE MUESTRA PROCESADA.....	5
PROGRAMACIÓN INICIAL DE TERMOCICLADOR.....	5
Instrucciones de Programación del 7500 Fast y Fast DX.....	5
PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO.....	9
Procedimiento de Procesamiento de Muestra.....	9
Procedimiento de Rehidratación del Master Mix.....	9
Procedimiento de Preparación para PCR:.....	9
Protocolo de Amplificación en el Termociclador 7500 Fast y Fast Dx.....	10
INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.....	10
Interpretación de Resultados usando el Termociclador 7500 Fast y Fast Dx.....	10
CONTROL DE CALIDAD.....	11
LIMITACIONES.....	11

VALORES ESPERADOS	11
RENDIMIENTO CLÍNICO.....	12
RENDIMIENTO ANALÍTICO	14
Límite de Detección (LOD)	14
Reactividad Analítica (Inclusividad)	14
Precisión.....	15
Reproducibilidad.....	16
Especificidad Analítica/Reactividad Cruzada	17
Interferencia microbiana	18
Sustancias Interferentes	18
Contaminación de Arrastre y Cruzada	19
ATENCIÓN AL CONSUMIDOR Y ASISTENCIA TÉCNICA.....	20
PROPIEDAD INTELECTUAL.....	20
REFERENCIAS.....	20
GLOSARIO.....	21



USO PREVISTO

El Ensayo Lyra Direct Strep es una prueba diagnóstica *in vitro* en tiempo real por PCR para la detección cualitativa y diferenciación de ácidos nucleicos del Estreptococo β -hemolítico Grupo A (*Streptococcus pyogenes*) y del Estreptococo β -hemolítico Grupo C y Grupo G piógenos aislados en muestras de hisopado de garganta obtenidos de pacientes con síntomas de faringitis, como dolor de garganta. El ensayo no diferencia Estreptococo β -hemolítico piógeno Grupo C de Grupo G.

Cualquier resultado negativo del ensayo debería confirmarse mediante cultivo bacteriano dado que los resultados negativos no excluyen la posibilidad de que exista infección por Estreptococo Grupo A, Grupo C o Grupo G y no debería emplearse como única base para tratamiento.

El ensayo está previsto que se use en hospitales, o en ámbito de laboratorio de referencia o estatales. No está previsto el uso del dispositivo en puntos de atención al paciente.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La faringitis estreptocócica es una infección bacteriana comúnmente encontrada en la infancia. Los estreptococos del Grupo A son responsables por la mayoría de los casos de faringitis estreptocócica aunque otras especies, como *S. dysgalactiae*, *S. equi* y *S. canis* también pueden provocar la enfermedad.¹ La faringitis estreptocócica afecta todos los grupos etarios pero afecta más comúnmente a los niños de entre 5 y 15 años.

Los estreptococos pueden clasificarse según la producción de hemólisis en agar sangre y mediante el uso de antígenos de grupos del sistema Lancefield. La clasificación según hemólisis puede ser imprecisa debido a una cantidad de factores (experiencia del operario, condiciones de incubación del cultivo, tipos de hemolisina producida por el organismo, etc.) El antígeno de un grupo Lancefield no se correlaciona con la especie. Los estudios taxonómicos moleculares han avanzado con la clasificación.² Los aislados beta hemolíticos de los grupos A, C, F y G del sistema Lancefield se subdividen en grupos formadores de colonias grandes y pequeñas. Los grupos de colonias grandes poseen numerosos mecanismos de virulencia y son etiquetados como "piógenos". Para identificación específica, se utiliza un reactivo para aglutinación de serogrupo. Los estreptococos Grupo C Lancefield de colonia grande se clasifican en varias especies posibles, a saber *S. dysgalactiae*, *S. equisimilis*, *S. zooepidemicus* y *S. equi*.³ Los grupos formadores de colonias pequeñas se clasifican dentro del grupo

Anginosus, conocido en el pasado como grupo "S. milleri" o S. intermedius. Aunque estos organismos de "colonia pequeña" pueden llegar a tener el antígeno de grupo A, C, F, G o no agrupable según Lancefield, son comensales y rara vez son patógenos por sí solos.

La faringitis estreptocócica tiene un período de incubación de 2 a 4 días. Los síntomas clásicos incluyen la aparición repentina de dolor de garganta acompañada de fiebre, malestar general y dolor de cabeza. Los médicos diagnostican faringitis estreptocócica en base a síntomas, hallazgos físicos y procedimientos diagnósticos. Cuando se sospecha de faringitis estreptocócica, es esencial un tratamiento rápido y preciso a fin de evitar la ocurrencia de enfermedad no supurativa, más específicamente, fiebre reumática aguda y glomerulonefritis aguda postestreptocócica. El diagnóstico tradicional por laboratorio se realiza mediante prueba rápida para detección de antígenos (RADT) en busca de Estreptococo Grupo A o mediante cultivo en agar sangre ovina seguida de diferenciación según sistema Lancefield mediante aglutinación en látex. Los resultados de RADT a menudo están listos en menos de una hora, mientras que los resultados de cultivo pueden llevar entre 2 y 3 días.

El Ensayo Strep Lyra Direct permite la detección rápida y precisa de estreptococos del grupo A y estreptococos piógenos del grupo C y G.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El Ensayo Lyra Direct Strep detecta ácidos nucleicos que fueron preparados a partir de hisopados de garganta obtenidos de pacientes, procesados con un simple paso térmico. Se realiza una reacción PCR [reacción en cadena de la polimerasa] multiplex en tiempo real en condiciones optimizadas en un único pocillo de donde se generan amplicones correspondientes a estreptococos del grupo A o estreptococos del grupo C y G piógenos y Control de Proceso (PRC). Se identifica a través del uso de sondas y cebadores de oligonucleótidos que son complementarios y específicos para las secuencias conservadas en los estreptococos Grupo A, estreptococos piógenos grupo C y Grupo G y en el PRC. El Ensayo no diferencia estreptococos del Grupo C de estreptococos del Grupo G.

Etiquetas de Sonda Lyra	
Diana	Colorante
Estreptococos Grupo A	FAM
Estreptococos piógenos grupo C y G	CAL Fluor Red®
Control de Proceso (PRC)	Quaser® 670

A continuación se resume el procedimiento:

- Preparación de Muestra:** El hisopado de garganta obtenido de pacientes se revuelve durante aproximadamente 3 a 5 segundos en la solución Tampón de Proceso para desprender las bacterias del hisopado. La solución Tampón de Proceso luego se lleva a una temperatura de 95°C durante 10 minutos.
- Rehidratación del Master Mix:** El Master Mix liofilizado se rehidrata utilizando la Solución de Rehidratación. El Master Mix contiene cebadores de oligonucleótidos, fluoróforo y sondas etiquetadas con "quencher" [inhibidores de fluorescencia] con diana en regiones conservadas de secuencia de estreptococos de grupo A y estreptococo así como también de control de proceso.
- Amplificación y Detección de Ácidos Nucleicos:** Se adiciona 15 µL del Master Mix rehidratado a cada pocillo de la placa. Luego se adiciona 5 µL de la muestra preparada (espécimen con PRC) a los pocillos de placa. La placa luego se coloca en el instrumento 7500 Fast o Fast Dx de Applied Biosystems®.

Una vez que la placa se coloca en el instrumento, se inicia el protocolo del Ensayo Lyra Direct Strep. Este ensayo se basa en químicos Taqman® y emplea una enzima con actividad polimerasa de ADN y de exonucleasa 5'-3'. Durante la amplificación de ADN, esta enzima rompe la sonda unida a la secuencia ADN complementaria separando el colorante "quencher" [inhibidor de fluorescencia] del colorante "reporter" [reportero]. Este paso genera un aumento en la señal fluorescente cuando son excitados por fuente de luz a la longitud de onda correspondiente. Con cada ciclo, se separan otras moléculas de colorante de sus *quenchers*. Esto redundará en un aumento de la señal fluorescente. Si se consigue suficiente fluorescencia, la muestra se informa como positiva por el ácido nucleico detectado.

MATERIALES PROVISTOS

Cat. #M112

Kit de Ensayo (96 Reacciones) – Almacenar a 2°C hasta 8°C.

Componente	Cantidad
Solución de Rehidratación	1 vial/kit, 1,9 mL
Master Mix de Estreptococos Lyra Direct	12 vials/kit, 8 reacciones/vial
Solución Tampón de Proceso	96 tubos/kit, 300 µL/vial

MATERIAL OPCIONAL

- Controles positivos y negativos para Estreptococos del Grupo A y del Grupo C+G (por ejemplo, el Set de Control de Estreptococos Grupos A + G de Quidel® Molecular, Cat. #M111 que sirve como control externo de procesamiento y extracción).

MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROVISTOS

- Micropipetas (oscilan de 1 a 10 µL, o de 2 a 20 µL, o de 100 a 1000 µL)
- Puntas de pipeta con barrera anti-aerosol
- 7500 Fast o Fast Dx de Applied Biosystems
- Placa de 96 pocillos para PCR del 7500 Fast o Fast Dx de Applied Biosystems
- Películas de placa de Applied Biosystems de claridad óptica.
- Centrifugadora de placa correspondiente a placa de 96 pocillos de la serie 7500
- Bloque térmico en seco, con capacidad para calentar tubos de 1,5 mL a 95°C durante diez (10) minutos.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Las características de rendimiento de este ensayo fueron definidas para los tipos de especímenes enumerados en la **Sección de Uso Previsto** y para ningún otro. No se evaluó el rendimiento de este ensayo con otros tipos de especímenes o muestras.
- El uso en condiciones de ciclado distintas a las indicadas en las Instrucciones de Programación del Termociclador puede generar resultados erróneos.
- Sólo personal suficientemente capacitado en las técnicas de PCR debería usar este producto.
- Trate todas las muestras como si fueran potencialmente infecciosas. Siga las precauciones universales al manipular muestras, este kit o su contenido.
- La recolección, el almacenamiento y el transporte correctos de las muestras son indispensables para obtener resultados correctos.
- Almacene los reactivos del ensayo según se indica en las etiquetas individuales.
- Utilice ropa de protección, guantes y protección facial y ocular adecuados al utilizar este kit.
- Para obtener resultados precisos, deberá pipetear con cuidado utilizando únicamente equipo calibrado.
- Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies con una solución de lavandina al 10%, seguida de agua de calidad para biología molecular.
- Utilice micropipetas con barrera anti-aerosoles o puntas de desplazamiento positivo para todos los procedimientos.
- Evite contaminación microbiana o contaminación cruzada de los reactivos del kit. Siga Buenas Prácticas de Laboratorio.
- No mezcle reactivos de kits con números de lote distintos.
- No utilice reactivos de otros fabricantes con este kit.
- No utilice el producto una vez vencida su fecha de caducidad.
- Una planificación adecuada del flujo de trabajo es esencial para minimizar riesgos de contaminación. Siempre planifique el flujo de trabajo de su laboratorio de manera unidireccional, comenzado con la pre-amplificación y pasando luego a la amplificación y detección.
- Utilice suministros y equipos exclusivos en las áreas de pre-amplificación y amplificación.
- No permita que personal o equipo atraviesen áreas distintas.
- Mantenga los suministros de amplificación separados en todo momento de los suministros de pre-amplificación.
- No abra tubos de muestras ni abra placas ya selladas después de la amplificación.
- Deseche el material amplificado con cuidado y conforme a las normativas y leyes locales a fin de minimizar el riesgo de contaminación con amplicón.
- No utilice suministros exclusivos para preparación de reactivos o muestras para el procesamiento del ácido nucleico diana.
- Lavarse bien las manos después de manipular el kit.

- Para obtener información adicional sobre símbolos de peligro, seguridad, manipulación y eliminación de los componentes de este kit, consulte la Ficha de datos de seguridad (*Safety Data Sheet*, SDS) que se encuentra en quidel.com.

ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN DE LOS REACTIVOS DEL KIT

- Almacene el Kit de Ensayo a una temperatura de 2°C hasta 8°C hasta la fecha de caducidad que aparece en el contenedor externo del kit.
- El Master Mix rehidratado puede conservarse a temperatura ambiente (20°C a 25°C) o a 2°C hasta 8°C por hasta 2 horas; o a –20°C por hasta 8 días.
- Vuelva a poner la tapa del Master Mix rehidratado, selle con Parafilm [película de parafina] y guárdelo en posición vertical. Mantenga el Master Mix lejos de la luz mientras permanece almacenado.

Indicación de Inestabilidad o Deterioro de Reactivos: La turbidez de la Solución de Rehidratación puede indicar deterioro de este reactivo. Contacte a Soporte Técnico de Quidel para que lo cambien.

RECOLECCIÓN, ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

Durante estudios clínicos, se evaluó el Ensayo Lyra Direct Strep con Aplicador Plástico Individual con Líquido Amies, Aplicador Plástico Individual Stuart, sistemas de transporte Puritan con Líquido Amies, e Hisopos para Garganta Estériles de fibra de Rayón y Poliéster.

Los estudios analíticos realizados con especímenes artificiales que contenían estreptococos de grupo A o estreptococos de grupos C o G piógenos en concentración cercanas al LOD (3x el LOD) demostraron que las muestras pueden conservarse a temperatura ambiente o a temperatura de entre 2° y 8°C por hasta siete (7) días antes de realizar el testeo con el Ensayo Lyra Direct Strep. Las necesidades puntuales para despacho de especímenes deberían atenerse a las recomendaciones de las secciones 42 y 49 del Código de Normativas Federales (CFR) de Estados Unidos.

ALMACENAMIENTO DE MUESTRA PROCESADA

Las muestras procesadas en la solución Tampón de Proceso pueden conservarse a temperatura de entre 2° y 8°C, a temperatura ambiente, a –20°C o a –70°C por hasta 7 días.

PROGRAMACIÓN INICIAL DE TERMOCICLADOR

Instrucciones de Programación del 7500 Fast y Fast DX

1. Inicie el software ABI 7500 Fast o Fast Dx
2. Se abrirá la ventana de diálogo **Quick Startup document** [Inicio Rápido]. Seleccione **Create New Document** [Crear Nuevo Documento] para iniciar el **New Document Wizard** [Wizard de Documento Nuevo]. Siga los pasos para dar inicio al protocolo Lyra Direct Strep.
 - a. **Definir Documento:** Debería aplicar la configuración por default en la mayoría de los siguientes. En caso contrario, modifique de manera acorde.
 - i. Confirme o ingrese la siguiente información

Assay [Ensayo]:	Curva Estándar (Cuantificación absoluta)
Container [Contenedor]:	Placa transparente 96 pocillos
Template [Plantilla]:	Documento en blanco
Run Mode [Modo de ejecución]:	Fast 7500
Operator [Operador]:	<i>el nombre de su operador</i>
Comments [Comentarios]:	SDS v1.4
Plate Name [Nombre de Placa]:	Estreptococos Lyra

- ii. Seleccione **Next** [Siguiente]
- b. **Seleccione Detectores:** Se deben agregar nuevos detectores correspondientes a estreptococo grupo A, estreptococo grupo C/G y al control de proceso (PRC). Para cada diana, seleccione **New Detector** [Nuevo Detector] para abrir la ventana emergente **New Detector**. Use **Create Another** [Crear Otro] dentro de la ventana emergente **New Detector** para los últimos dos detectores.
 - i. Seleccione **(none)** del menú correspondiente a **Passive Reference** [colorante de Referencia Pasiva].

- ii. Ingrese la siguiente información para cada detector.

Nombre Detector	Colorante Reporter	Colorante Quencher	Color
Strep A	FAM	(none)	(Select)
Strep C/G	ROX	(none)	(Select)
PRC	CY5	(none)	(Select)

- iii. Confirmar un color único para representar cada detector.
 - iv. Seleccione los nuevos detectores y agregue a la columna **Detectors in Document** [Detectores en Documento] usando el botón **Add**.
 - v. Confirme con **Siguiente**.
 - vi. Confirme con Finalizar sin ajustar ningún pocillo.
- c. El wizard se cerrará y se abrirá el programa, iniciando con la solapa **Setup**. Esto mostrará la placa de muestra que se configuró durante el inicio rápido. Para la configuración inicial, no es necesario modificar nada en este punto.
- d. Definiendo el Protocolo del Termociclador: Seleccione la solapa **Instrument** para configurar los tiempos y temperaturas de ciclado para PCR de Estreptococos Lyra Direct. En **Thermal Profile** [Perfil Térmico] debería haber un protocolo de dos etapas como opción predeterminada. Cada etapa contará con 3 cuadros de texto editables por el usuario. El valor del cuadro superior representa la cantidad de repeticiones o ciclos para dicha etapa. El valor del cuadro del medio representa la temperatura (°C) y el valor del cuadro inferior representa el tiempo (minutos: segundos).

- i. Efectúe los siguientes cambios al **Thermal Cycler Protocol** [Protocolo del Termociclador] predeterminado:

Make the following changes to the default **Thermal Cycler Protocol**:

1. Etapa 1
 - a. Repeticiones: 1
 - b. Temp: 92
 - c. Tiempo: 2:00
2. Etapa 2 (Etapa de Amplificación en 3 Pasos)
 - a. Repeticiones: 5
 - b. Paso 1
 - i. Temp: 92
 - ii. Tiempo: 0:05
 - c. Paso 2
 - i. Temp: 57
 - ii. Tiempo: 0:09
 - d. Paso 3
 - i. Temp: 63
 - ii. Tiempo: 0:35
3. Seleccione la barra a la derecha de la Etapa 2 Seleccione **Add Cycle** [Agregar Ciclo] para

agregar otra etapa.

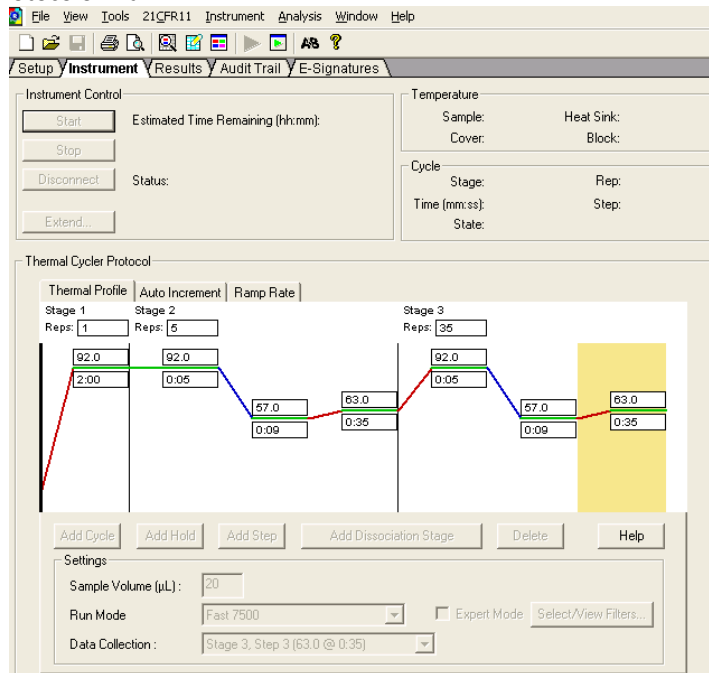
4. Etapa 3 (3-Step Amplification Etapa)
 - a. Repeticiones: 35
 - b. Paso 1
 - i. Temp: 92
 - ii. Tiempo: 0:05
 - c. Paso 2
 - i. Temp: 57
 - ii. Tiempo: 0:09
 - d. Paso 3
 - i. Temp: 63
 - ii. Tiempo: 0:35

5. Si se agrega una etapa de manera errónea, se puede quitar la etapa oprimiendo **Delete** [Eliminar] luego de seleccionar la etapa entre líneas verticales

ii. En **Settings** [Ajustes] ingrese la siguiente información:

Volumen de Muestra (µL):	20 (predeterminado)
Modo de ejecución:	Fast 7500 (predeterminado)
Recolección de Datos:	Etapa 3, Paso 3 (63,0@0:35)
Nota: No tilde el cuadro correspondiente a 'Expert Mode.'	

iii. Protocolo final



e. Ajuste umbral para cada analito

- i. Seleccione la solapa **Results**.
- ii. Seleccione la solapa **Amplification Plot** [Gráfico de Amplificación]
- iii. Seleccione Strep A de la solapa Detector en el margen superior derecho.
- iv. En el bloque de **Analysis Settings** [Ajustes de Análisis], para Estreptococo Grupo A, ajuste el **Threshold** [Umbral] a **8.0e4**
- v. Tilde el botón **Auto Baseline** [línea de base automática]
- vi. Repita pasos iii a v para Estreptococo grupo C/G ajustando el **Threshold** a **1.0e5**.
- vii. Repita pasos iii a v para PRC ajustando el **Threshold** a **1.9e4**.

- f. Guarde el nuevo protocolo como plantilla para usos futuros.
 - i. En la parte superior de la pantalla seleccione **File** [Archivo] y luego **Save as** [Guardar Como]
 - ii. **Guarde en:** D:\Applied Biosystems\7500 Fast System\Templates\
 - iii. **Nombre de archivo:** 'Lyra Strep'
 - iv. **Guardar como tipo:** 'SDS Templates (*.sdt)'
- g. Salir del programa

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Ejecute los siguientes procedimientos a temperatura ambiente controlada de 20°C a 25°C.

Procedimiento de Procesamiento de Muestra

1. Moje el hisopo en el tubo con la solución Tampón de Proceso y revuelva durante 3 a 5 segundos para desprender bacterias del hisopo y para mezclar.
2. Caliente el tubo con solución tampón de Proceso inoculado en un bloque térmico en seco durante 10 minutos a 95°C.

Procedimiento de Rehidratación del Master Mix

1. Determine la cantidad de especímenes a testear y obtenga la cantidad correcta de viales con Master Mix liofilizado para ocho reacciones para testeo.
2. Devuelva los reactivos no usados a las condiciones adecuadas de almacenamiento.
3. Abra el Master Mix con cuidado para evitar alterar el sedimento *pellet*.
4. Adicione 135 µL de la Solución de Rehidratación al Master Mix.
5. Deje el vial a temperatura ambiente durante 1 a 2 minutos para permitir rehidratación del *pellet*.
6. Debe pipetear hacia arriba y hacia abajo 2 o 3 veces con suavidad (para evitar la formación de burbujas) antes de dispensar en el primer pocillo de placa.

Nota: El Master Mix rehidratado es suficiente para ocho reacciones.

Nota: El Master Mix rehidratado debe utilizarse dentro de 2 horas de rehidratación. O debe almacenarse (ver Almacenamiento y Manipulación de Reactivos del Kit más arriba).

Procedimiento de Preparación para PCR:

1. Adicione 15 µl del Master Mix rehidratado a cada tubo de reacción o pocillo de placa.
2. Adicione 5 µL de la muestra del vial con solución Tampón de Proceso en los tubos de reacción o pocillos de placa. No es necesaria la mezcla de reactivos.

Nota: Utilice micropipeta con punta nueva con barrera anti aerosol con cada muestra extraída.
3. Cierre los tubos de reacción o selle la placa.

Nota: Quidel sugiere que cada pasada del termociclador incluya un pocillo con Controles Externos. Haga correr los controles de conformidad con las prácticas y políticas de su laboratorio.
4. Centrifugue los tubos de reacción o placa por un mínimo de 15 segundos. Asegúrese de que la totalidad del líquido se encuentre en el fondo del pocillo de placa o en el fondo del tubo.

5. Inserte tubos o placa en el termociclador

Protocolo de Amplificación en el Termociclador 7500 Fast y Fast Dx

1. Encienda el 7500 Fast o Fast Dx.
2. Inicie el software del 7500 Fast o Fast Dx.
3. Se abrirá el cuadro de diálogo **Quick Startup document**.
4. Haga click en **Create a new document**.
5. Debería aplicar la configuración predeterminada en la mayoría de los siguientes. De lo contrario, modifique según corresponda.

Ensayo:	Curva estándar (Cuantificación absoluta)
Contenedor:	Placa transparente de 96 pocillos
Plantilla:	Streptococos Lyra
Modo de Ejecución:	Fast 7500
Operador:	<i>el nombre de su operador</i>
Comentarios:	SDS v1.4 (<i>agregue más de ser necesario</i>)
Nombre Placa:	AAMMDD-Lyra Streptococci

6. Prepare Placa de Muestra
 - a. Dentro de las solapas **Setup** y **Plate** aparecerá la configuración de la placa.
 - b. Seleccione todos los pocillos que contendrán muestras, haga click con el botón derecho del mouse y seleccione **Well Inspector** [Inspector de Pocillo] del menú desplegable. Cuando se abre la ventana emergente **Well Inspector**, seleccione los detectores para Strep A, Strep C/G y PRC.
 - c. Utilice el **Well Inspector** para ingresar los nombres de las muestras. En este punto, puede ingresar los datos de identificación de los pacientes en la ventana **Well Inspector**. No obstante, se recomienda hacer esto antes de volver a poner en suspensión el Master Mix liofilizado, con posterioridad a la pasada, o utilizando la función de importar para minimizar el tiempo que las reacciones PCR tendrán que esperar a temperatura ambiente antes de comenzar el ensayo.
 - d. Guarde la ejecución bajo el nombre **AAMMDD-Lyra Streptococci.sds**.
 - e. Se abrirá una ventana preguntando por el "Motivo para modificar dato cargado". Ingrese "**Configuración**" y cualquier otro comentario relevante de la pasada.
7. Dando inicio a la PCR.
 - a. Seleccione la solapa **Instrument**.
 - b. Inserte la placa para PCR de 96 pocillos en la máquina.
 - c. Dentro de **Instrument Control** [Control de Instrumento], seleccione **Start** para dar inicio a cada pasada.
8. Posterior a PCR.
 - a. **IMPORTANTE:** Una vez finalizada la pasada, presione OK. Analice los datos seleccionando "**Analyze**" en el menú superior, y guarde el archivo.
 - b. Guarde el archivo seleccionando **Save Document** en la barra de herramientas. Se abrirá una ventana preguntando por el "Motivo para modificar dato cargado". Ingrese "**Análisis Datos pos-ejecución**" y cualquier otro comentario relevante a la pasada.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Interpretación de Resultados usando el Termociclador 7500 Fast y Fast Dx

Interpretación de los Resultados de Ensayo Lyra Direct Strep en el Termociclador ABI 7500 Fast y Fast Dx				
Resultado del Ensayo	Detector: Strep A	Detector: Strep C/G	Detector: Control de Proceso	Interpretación de los Resultados
Negativo	Indeterminado†	Indeterminado†	Ct ≥1, Ct ≤35	Ningún ADN de estreptococo grupo A y ningún ADN de estreptococo piógeno grupo C/G detectado
Positivo para Strep A	Ct ≥1, Ct ≤35	Indeterminado†	SD*	ADN estreptocócico Grupo A detectado

Interpretación de los Resultados de Ensayo Lyra Direct Strep en el Termociclador ABI 7500 Fast y Fast Dx				
Resultado del Ensayo	Detector: Strep A	Detector: Strep C/G	Detector: Control de Proceso	Interpretación de los Resultados
Positivo Strep C/G	Indeterminado†	Ct ≥1, Ct ≤35	SD*	ADN estreptocócico piógeno grupo C/G Detectado
Positivo Strep A y Strep C/G Piógeno	Ct ≥1, Ct ≤35	Ct ≥1, Ct ≤35	SD*	ADN estreptocócico Grupo A y grupo C/G piógeno detectado
Inválido	Indeterminado†	Indeterminado†	Indeterminado†	Ningún PRC de Strep A o Strep C/G Piógeno detectado. Volver a testear la misma muestra procesada. Si el testeo resulta inválido nuevamente, obtener una nueva muestra y volver a testear.
*No se requiere ningún valor de Ct [ciclo umbral] para el control de Proceso para informar un positivo.				
†Indeterminado = No se alcanzó Ct [ciclo umbral], por tanto el analito no fue detectado.				

CONTROL DE CALIDAD

El Ensayo Lyra Direct Strep incorpora varios controles para monitorear el rendimiento del ensayo.

1. Debería utilizarse control de Proceso durante el procesamiento de muestras y durante la amplificación en el ensayo. Este control se carga de antemano en la solución Tampón de Proceso.
2. Los controles estreptocócicos positivos externos disponibles en el mercado pueden tratarse como muestra de paciente y deberían usarse conforme a los estándares de su laboratorio. Pueden utilizarse muestras previamente caracterizadas como positivas para estreptococo en lugar de controles estreptocócicos comerciales.
3. Pueden utilizarse como control externo negativo muestras caracterizadas previamente como negativas. Estas deben tratarse como muestra de paciente y deberían usarse conforme a los estándares de su laboratorio.
4. Deben usarse controles externos conforme a los requisitos de las entidades de acreditación relevantes, según corresponda.

LIMITACIONES

- Un resultado negativo no es suficiente para descartar infección con estreptococos del grupo A o del grupo C y G piógenos, y por tanto no debería ser el único fundamento para decidir tratamiento.
- Al igual que con otros ensayos de este tipo, existe un riesgo de resultado de falsos negativos debido a la presencia de variantes en las secuencias en las dianas de amplificación.
- La recolección, el almacenamiento o el transporte inadecuados pueden llevar a resultados de falsos negativos.
- Pueden aparecer falsos negativos por la presencia de inhibidores en la muestra y/o por errores en la aplicación del procedimiento del ensayo.
- Sangre entera a concentraciones por encima de 0,313% v/v pueden llegar a ser causal de interferencia.
- Para estreptococos de grupo C y G, se ha demostrado el rendimiento por medio de estudios clínicos y analíticos de *Streptococcus dysgalactiae*. El rendimiento con *Streptococcus equi*, *Streptococcus canis* sólo se demostró analíticamente.
- Un resultado negativo de estreptococos betahemolíticos de Grupo C o G piógenos no impide que pueda haber infección de otros estreptococos betahemolíticos de Grupo C o G y debiera confirmarse por cultivo.
- Se requiere de testeo de seguimiento adicional con método de cultivo si el resultado fuera negativo y los síntomas clínicos persistieran.

VALORES ESPERADOS

Se determinaron las características de rendimiento del Ensayo Lyra Direct Strep que emplea el 7500 Fast Dx de Applied Biosystems® durante un estudio prospectivo realizado durante el verano y otoño de 2013 (agosto a noviembre de 2013). Este estudio comprendió mil doscientas noventa y tres (1293) muestras frescas de garganta procedente de tres sitios diversos de Estados Unidos. Se recogió una única muestra por paciente. Las muestras fueron recogidas en Hisopo de fibra de Poliéster o de Rayón en medio Líquido Amies o en Hisopo de fibra de Poliéster o Rayón en medio Líquido Stuart.

El valor esperado para el Estreptococo β -hemolítico Grupo A (*Streptococcus pyogenes*) y los Estreptococos β -hemolítico Grupo C y G piógenos (*Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus equi*, *Streptococcus canis*) detectados con el Ensayo Lyra Direct Strep se calculó para los sitios combinados en base a la edad de los pacientes y en total.

Estudio Clínico Combinado (Todos los Sitios) – Valores Esperados (N = 1293)						
Edad	Estreptococo β -hemolítico Grupo A			Estreptococo β -hemolítico Grupo C y G piógeno		
	Total No.	Total Positivo	Prevalencia	Total No.	Total Positivo	Prevalencia
< 2 años	37	7	18,9%	37	2	5,4%
3 a 12 años	315	59	18,7%	315	4	1,3%
13 a 21 años	424	32	7,5%	424	61	14,4%
> 22 años	517	34	6,6%	517	21	4,1%
Total	1293	132	10,2%	1293	88	6,8%

RENDIMIENTO CLÍNICO

Se determinaron las características de rendimiento del Ensayo Lyra Direct Strep empleando el 7500 Fast Dx de Applied Biosystems® durante un estudio prospectivo realizado durante el verano y otoño de 2013 (agosto a noviembre 2013). Este estudio comprendió mil doscientas noventa y tres (1293) muestras frescas de garganta procedente de tres sitios diversos de Estados Unidos. Se recogió una única muestra por paciente. Las muestras fueron recogidas en Hisopo de fibra de Poliéster o de Rayón en medio líquido de Amies o en Hisopo de fibra de Poliéster o de Rayón en medio líquido de Stuart. Los hisopos fueron inoculados mediante técnica de cultivo convencional de estría y punción sobre placa de tripteína soya agar que contiene 5% de glóbulos rojos de caballo. Se realizó testeo con el dispositivo Lyra en los tres laboratorios externos utilizando el mismo hisopado que fue sembrado en placa para cultivo. Todos los medios de transporte con especímenes residuales de las muestras se despacharon a diario (con gel refrigerante) a una locación central. Se cultivaron los medios de transporte utilizando el mismo protocolo de testeo que el empleado en los sitios clínicos.

Se enumeran a continuación las estadísticas demográficas por género o edad para cada categoría.

Estudio Clínico Combinado (Todos los Sitios) - Distribución por Edad y Género		
Género	Femenino	Masculino
Total	812	481
Edad		
< 2 años	14	23
3 a 12 años	173	142
13 a 21 años	269	155
> 22 años	356	161

Se cultivaron mil doscientas noventa y tres (1293) muestras frescas de garganta para Estreptococo Betahemolítico Grupo A y se testearon con el Ensayo Lyra Direct Strep. Se cultivaron las muestras en los sitios de testeo y se cultivaron los medios de transporte en la locación central. Se consideró que la muestra era positiva si el hisopo o el medio de transporte eran positivos para Estreptococo β -hemolítico (Cultivo Compuesto) y tipificados como Grupo A según Lancefield mediante la técnica de aglutinación con látex. La tabla que se consigna a continuación muestra el rendimiento total empleando los resultados del cultivo compuesto como referencia.

Resultados de Rendimiento del Ensayo Lyra Direct Strep para Estreptococo β-hemolítico Grupo A			
Rendimiento Total (Totalidad de los Sitios)			
Ensayo Lyra Direct Strep	Cultivo Compuesto		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	109	24	133
Negativo	4	1156	1160
Total	113	1180	1293
IC 95%			
Sensibilidad	109/113	96,5%	91,3% a 98,1%.
Especificidad	1156/1180	98,0%	97,0% a 98,6%.

Rendimiento del Sitio 1			
Ensayo Lyra Direct Strep	Cultivo Compuesto		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	18	1	19
Negativo	0	246	246
Total	18	247	265
IC 95%			
Sensibilidad	18/18	100%	82,4% a 100%.
Especificidad	246/247	99,6%	97,7 % a 99,9%.
Rendimiento del Sitio 2			
Ensayo Lyra Direct Strep	Cultivo Compuesto		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	54	17	71
Negativo	2	556	558
Total	56	573	629
IC 95%			
Sensibilidad	54/56	96,4%	87,9% a 99,0%.
Especificidad	556/573	97,0%	95,3 % a 98,1%.
Rendimiento del Sitio 3			
Ensayo Lyra Direct Strep	Cultivo Compuesto		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	37	6	43
Negativo	2	354	356
Total	39	360	399
IC 95%			
Sensibilidad	37/39	94,9%	83,1% a 98,6%.
Especificidad	354/360	98,3%	96,4 % a 99,2%.

Se cultivaron mil doscientas noventa y tres (1293) muestras frescas de garganta para Estreptococo β - hemolítico Grupo C y G piógenos y se testearon con el Ensayo Lyra Direct Strep. Se cultivaron las muestras en los sitios de testeo y se cultivaron los medios de transporte en una locación central. Se consideró que la muestra era positiva si el hisopo o el medio de transporte eran positivos para Estreptococo β -hemolítico (Cultivo Compuesto) y tipificados como Grupo C y G según Lancefield mediante la técnica de aglutinación con látex. Los aislados β - hemolíticos que fueron tipificados como Grupo C o G fueron subcultivados y divididos en especies utilizando desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI) acoplado a analizador TOF.

La tabla que se consigna a continuación muestra el rendimiento total empleando los resultados del cultivo compuesto como referencia.

Resultados de Rendimiento Total de Todos los Sitios del Ensayo Lyra Direct Strep para Estreptococos β- hemolítico Grupo C y G piógenos			
Rendimiento Total (Totalidad de los Sitios)			
Ensayo Lyra Direct Strep	Cultivo Compuesto		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	67	21	88
Negativo	3	1202	1205
Total	70	1223	1293
IC 95%			
Sensibilidad	67/70	95,7%	88,1% a 98,5%.
Especificidad	1202/1223	98,3%	97,4 % a 98,9%.

Rendimiento del Sitio 1			
Cultivo Compuesto			
Ensayo Lyra Direct Strep	Positivo	Negativo	Total
Positivo	29	8	37
Negativo	0	228	228
Total	29	236	265
IC 95%			
Sensibilidad	29/29	100%	88,3% a 100%.
Especificidad	228/236	96,6%	93,5 % a 98,3%.
Rendimiento del Sitio 2			
Cultivo Compuesto			
Ensayo Lyra Direct Strep	Positivo	Negativo	Total
Positivo	22	12	34
Negativo	2	593	595
Total	24	605	629
IC 95%			
Sensibilidad	22/24	91,7%	74,2% a 97,7%.
Especificidad	593/605	98,0%	96,6 % a 98,9%
Rendimiento del Sitio 3			
Cultivo Compuesto			
Ensayo Lyra Direct Strep	Positivo	Negativo	Total
Positivo	16	1	17
Negativo	1	381	382
Total	17	382	399
IC 95%			
Sensibilidad	16/17	94,1%	73,0% a 99,0%.
Especificidad	381/382	99,7%	98,5 % a 100%.

RENDIMIENTO ANALÍTICO

Límite de Detección (LOD)

La sensibilidad analítica (límite de detección o LOD) del Ensayo Lyra Direct Strep se definió utilizando stocks cuantificados (UFC/mL) de 3 cepas de estreptococos Grupo A, 2 cepas de estreptococos Grupo C piógeno y 2 cepas de Grupo G piógeno diluidos en matriz negativa. Se define la sensibilidad analítica (LOD) como la concentración más baja a la que el 95% de todos los duplicados testeó positivo.

Límite de Detección	Bacteria UFC/mL
Cepa 1 Estreptocócica Grupo A ATCC 19615 (<i>Streptococcus pyogenes</i>)	$6,0 \times 10^2$
Cepa 2 Estreptocócica Grupo A ATCC 700942 (<i>Streptococcus pyogenes</i>)	$2,2 \times 10^3$
Cepa 3 Estreptocócica Grupo A CCUG 33061 (<i>Streptococcus pyogenes</i>)	$1,5 \times 10^3$
Cepa 1 Estreptocócica Grupo C piógeno ATCC 700400 (<i>Streptococcus equi</i> subesp. <i>zooepidemicus</i>)	$1,7 \times 10^4$
Cepa 2 Estreptocócica Grupo C piógeno CCUG 1483 (<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subesp. <i>equisimilis</i>)	$1,8 \times 10^4$
Cepa 1 Estreptocócica Grupo G piógeno ATCC 12394 (<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subesp. <i>equisimilis</i>)	$1,6 \times 10^4$
Cepa 2 Estreptocócica Grupo G piógeno CCUG 27477	$1,6 \times 10^4$

Reactividad Analítica (Inclusividad)

Se realizó un estudio sobre el instrumento Applied Biosystems 7500 Fast Dx para demostrar que el Ensayo Lyra Direct Strep puede detectar múltiples cepas de Estreptococos Grupo A y Estreptococos Grupos C y G piógeno, bien caracterizados, a concentraciones iguales o menores a tres veces el Límite de Detección (LOD).

El procedimiento general consistió en testear 11 cepas de Estreptococo Grupo A, 10 cepas de Estreptococo Grupo C piógeno y 13 cepas de Estreptococo Grupo G piógeno a concentraciones iguales o menores a tres veces el LOD predeterminado. Las cepas fueron una combinación de cepas ATCC, CCUG y Microbiológicas caracterizadas.

Cepas de Estreptococo Grupo A Testeadas para Inclusividad			
Cepas	ID Cepa	Nivel LOD	Promedio UFC/test
Cepa GAS No. 1	ATCC 19615	0,4X	1,1
Cepa GAS No. 2	ATCC 700942	1,4X	3,8
Cepa GAS No. 3	ATCC 700952	0,9X	2,6
Cepa GAS No. 4	ATCC 12344	1,2X	3,3
Cepa GAS No. 5	ATCC 12384	0,7X	1,9
Cepa GAS No. 6	ATCC 49399	0,4X	1,2
Cepa GAS No. 7	NCIMB 13285	1,8X	5,0
Cepa GAS No. 8	CCUG 33061	1,4X	4,0
Cepa GAS No. 9	CCUG 33409	0,4X	1,1
Cepa GAS No. 10	CCUG 39158	0,5X	1,5
Cepa GAS No. 11	CCUG 53553	0,6X	1,6

Cepas de Estreptococo Grupo C Piógeno Testeadas para Inclusividad			
Cepas	ID Cepa	Nivel de LOD	Promedio UFC/test
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subesp. <i>Equisimilis</i>	ATCC 12388	1,4X	32,5
<i>Streptococcus equi</i> subesp. <i>Zooepidemicus</i>	ATCC 700400	1,3X	30,0
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subesp. <i>Equisimilis</i>	CCUG 1483	2,2X	48,8
Cepa Estreptococo Grupo C piógeno (Especie particular no identificada)	CCUG 27479	2,1X	48,1
Cepa Estreptococo Grupo C piógeno (Especie particular no identificada)	CCUG 27664	1,2X	27,5
Cepa Estreptococo Grupo C piógeno (Especie particular no identificada)	CCUG 6713	0,1X	2,1
Cepa Estreptococo Grupo C piógeno (Especie particular no identificada)	CCUG 21557	0,7X	16,3
Cepa Estreptococo Grupo C piógeno (Especie particular no identificada)	CCUG 27478	2,6X	57,5
Cepa Estreptococo Grupo C piógeno (Especie particular no identificada)	CCUG 27480	1,6X	36,3
Cepa Estreptococo Grupo C piógeno (Especie particular no identificada)	CCUG 28238	1,6X	36,3

Cepas de Estreptococo Grupo G Piógeno Testeadas para Inclusividad			
Cepas	ID Cepa	Nivel de	Promedio UFC/test
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subesp. <i>Equisimilis</i>	ATCC 12394	0,5X	9,8
<i>Streptococcus canis</i>	ATCC 43497	0,6X	11,5
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subesp. <i>equisimilis</i>	CCUG 502	0,6X	13,1
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subesp. <i>equisimilis</i>	CCUG24070	0,4X	7,5
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subesp. <i>equisimilis</i>	CCUG27482	0,3X	6,4
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subesp. <i>equisimilis</i>	CCUG27483	2,8X	56,3
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subesp. <i>equisimilis</i>	CCUG33645	1,2X	25,0
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subesp. <i>equisimilis</i>	CCUG33802	1,0X	19,5
Cepa Estreptococo Grupo G piógeno (Especie particular no identificada)	CCUG 1859	S/D	Puro
Cepa Estreptococo Grupo G piógeno (Especie particular no identificada)	CCUG 15679	0,3X	7,0
Cepa Estreptococo Grupo G piógeno (Especie particular no identificada)	CCUG 15680	1,0X	20,2
Cepa Estreptococo Grupo G piógeno (Especie particular no identificada)	CCUG 26147	0,3X	5,3
Cepa Estreptococo Grupo G piógeno (Especie particular no identificada)	CCUG 27477	2,3X	46,3

PRECISIÓN

Para el estudio de Precisión/Repetibilidad Intralaboratorio, se testeó un panel de tres (3) componentes consistente en estreptococo Grupo A, Estreptococo Grupo C piógeno y una muestra negativa, a cargo de dos (2) operadores, dos veces al día (2x) durante doce (12) días.

Resumen de Resultados del 7500 Fast Dx de Applied Biosystems						
Diana		Valores Ct [ciclo umbral] y Porcentaje Positivo (%)				
		Control Positivo	3X LOD	2X LOD	0,3x LOD	Matriz Negativa
Estreptococo Grupo A	Op 1 Promedio Ct	20,7	28,0	27,7	32,3	Neg
	Op 2 Promedio Ct	20,7	27,7	28,2	32,3	Neg
	% de positividad	100%	100%	100%	45,8%	0,0%
Estreptococo Grupo C piógeno	Op 1 Promedio Ct	24,9	26,8	27,4	32,6	Neg
	Op 2 Promedio Ct	24,3	26,7	27,2	32,6	Neg
	% de positividad	100%	100%	100%	75,0%	0,0%

El Ensayo Lyra Direct Strep produce resultados altamente reproducibles en los tres instrumentos.

Reproducibilidad

Se evaluó la reproducibilidad del Ensayo Lyra Direct Strep en tres (3) sitios de laboratorio (dos externos, uno propio). Se evaluó la reproducibilidad utilizando un panel de cuatro (4) muestras simuladas que incluyen muestras positivas moderadas y positivas bajas, negativas altas y negativas de estreptococo Grupo A (*Streptococcus pyogenes*) y estreptococos Grupo C piógeno (*Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*). Los paneles y controles fueron procesados y testeados en el 7500 Fast Dx de Applied Biosystems®. Se testearon paneles y controles en cada sitio a cargo de dos (2) operadores durante cinco (5) días no consecutivos (testeo por triplicado x 2 operadores x 3 duplicados x 5 días x 3 sitios = 90 resultados por nivel para cada virus) Los valores de LOD se basaron en los valores obtenidos en el estudio de LOD.

Resultados de Reproducibilidad – 7500 Fast Dx de Applied Biosystems												
ID Componente del Panel	Sitio 1			Sitio 2			Sitio 3			Datos de Sitios Combinados		
	Tasa de Detección	Promedio Ct	% CV	Tasa de Detección	Promedio Ct	% CV	Tasa de Detección	Promedio Ct	% CV	Tasa de Detección	Promedio Ct	% CV
Negativo Alto GAS	7/30	32,5	1,7	16/30	31,3	4,1	7/30	32,7	4,1	30/90	31,9	4,5
Positivo Bajo GAS	29/30	30,2	4,0	30/30	29,4	4,2	30/30	29,9	8,3	89/90	29,8	4,2
Positivo Moderado GAS	30/30	29,2	2,6	30/30	28,5	2,0	30/30	29,0	1,7	90/90	28,9	3,3
Negativo GAS	0/30	s/d	s/d	0/30	s/d	s/d	0/30	s/d	s/d	0/90	s/d	s/d
Negativo Alto GCS	2/30	34,6	0,7	24/30	32,4	3,4	2/30	32,7	0,6	28/90	32,6	3,6
Positivo Bajo GCS	30/30	31,4	3,1	30/30	28,7	1,4	29/29*	30,4	5,7	89/89*	30,1	5,4
Positivo Moderado GCS	30/30	30,3	2,4	30/30	28,0	2,0	30/30	30,1	6,7	90/90	29,5	5,6
Negativo GCS	0/30	s/d	s/d	0/30	s/d	s/d	0/30	s/d	s/d	0/90	s/d	s/d
Control Positivo GAS	30/30	23,4	14,3	30/30	20,2	1,4	30/30	20,6	2,4	90/90	21,3	11,5
Control Positivo GCS	30/30	28,1	13,9	30/30	24,0	1,8	30/30	25,2	3,8	90/90	25,8	11,2
Control Negativo	0/30	s/d	s/d	0/30	s/d	s/d	0/29*	s/d	s/d	0/89*	s/d	s/d

*No se detectó el PRC de un duplicado. El duplicado se informó como inválido.

Los datos procedentes de sitios combinados indican que el Ensayo Lyra Direct Strep, en el Applied Biosystems® 7500 Fast Dx, genera resultados reproducibles para la detección del Estreptococo Grupo A (*Streptococcus pyogenes*), Estreptococo Grupo C piógeno (*Streptococcus equi* subesp. *zooepidemicus*), y el control interno.

Especificidad Analítica/Reactividad Cruzada

Se evaluó la especificidad analítica con organismos de reactividad cruzada del Ensayo Lyra Direct Strep de dos maneras: análisis *in silico* [simulación en computadora] y testeo en laboratorio de organismos reales. El análisis *in silico* involucró una búsqueda por BLAST [Basic Local Alignment Search Tool] de cebadores de Estreptococo Grupo A y Estreptococos Grupo C y Grupo G piógeno frente a los siguientes sesenta (60) organismos:

Microorganismos Sin Reactividad Cruzada en base a Predicciones "in silico"		
<i>Arcanobacterium</i> sp.	Adenovirus Humano F	<i>Lactobacillus</i> sp. ¹
<i>Bacillus</i> sp.	Adenovirus Humano G	<i>Legionella pneumophila</i>
<i>Bacteroides</i> sp. ²	Coronavirus humano 229E	Virus del sarampión
<i>Bordetella</i> sp.	Coronavirus humano HKU1	Metapneumovirus
<i>Branhamella</i> sp.	Coronavirus humano NL63	<i>Moraxella</i> sp.
<i>Burkholderia</i> sp.	Enterovirus humano A	Virus de paperas
<i>Campylobacter</i> sp. ³	Enterovirus humano B	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Candida</i> sp.	Enterovirus humano C	<i>Neisseria</i> sp.
<i>Corynebacterium</i> sp.	Enterovirus humano D	<i>Peptostreptococcus</i> sp.
Citomegalovirus	Herpesvirus humano 1	<i>Proteus</i> sp.
Enterobacteriófago MS2	Herpesvirus humano 2	<i>Pseudomonas</i> sp.
<i>Enterococcus</i> sp.	Herpesvirus humano 4	Virus Sincitial Respiratorio Tipo B
<i>Escherichia coli</i>	Virus Parainfluenza humana 1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Fusobacterium</i> sp.	Virus Parainfluenza humana 2	<i>Serratia</i> sp.
<i>Haemophilus</i> sp.	Virus Parainfluenza humana 3	<i>Staphylococcus</i> sp.
Adenovirus humano A	Virus Parainfluenza humana 4	<i>Treponema</i> sp.
Adenovirus humano B	Influenzavirus A	<i>Veillonella</i> sp.
Adenovirus humano C	Influenzavirus B	<i>Yersinia</i> sp.
Adenovirus humano D	Influenzavirus C	<i>Prevotella oralis</i> ⁴
Adenovirus humano E	<i>Klebsiella</i> sp.	<i>Parvimonas micra</i> ⁵

Los cebadores utilizados en el Ensayo Lyra Direct Strep no muestran evidencia de reactividad cruzada con los microorganismos enumerados más arriba.

Se realizó un estudio sobre el Applied Biosystems 7500 Fast Dx para evaluar el rendimiento del Ensayo Lyra Direct Strep en presencia de otros cuarenta y cuatro (44) microorganismos que pueden encontrarse en muestras de garganta. Se testeó cada microorganismo potencialmente interferente en presencia de estreptococo Grupo A a 2x el LOD (2 cepas), cepa de estreptococo Grupo C piógeno y cepa de estreptococo Grupo G piógeno. Los niveles clínicamente relevantes de virus y bacteria son normalmente 10⁶ ufc/mL o más para bacteria, y 10⁵ ufp/mL o más para virus.

Microorganismos sin reactividad cruzada basados en Testeo Empírico		
Bacterias		
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Legionella jordanis</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	<i>Legionella micdadei</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus gordonii</i> (tipo Viridans)
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus mitis</i>

¹ Incluye *L. acidophilus*.

² Incluye *B. ovatus*.

³ Incluye *C. rectus*.

⁴ En el NCBI (National Center for Biotechnology Information), *Bacteroides oralis* es *Prevotella oralis*.

⁵ En el NCBI, *Peptostreptococcus micros* es *Parvimonas micra*.

Microorganismos sin reactividad cruzada basados en Testeo Empírico		
Bacterias		
<i>Corynebacterium diphtheria</i>	<i>Neisseria subflava</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Enterococcus faecalis</i> vanB	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Haemophilus influenza</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>
<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Streptococcus suis</i>
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Veillonella parvula</i>

Levaduras
<i>Candida albicans</i>

Virus		
Adenovirus Tipo 1	Influenza B/Panama/45/90	Rhinovirus Tipo 15 (1734)
Adenovirus Tipo 11 (Slobitski)	Influenza C/Taylor/1233/47	
Influenza A/Victoria/3/75/H3N2	Virus parainfluenza 4a	

Ninguno de los cuarenta y cuatro (44) microorganismos que pueden encontrarse en muestras de gargantas mostraron reactividad cruzada con el ensayo.

Interferencia microbiana

Se evaluó de dos maneras la especificidad analítica del Ensayo Lyra Direct Strep con organismos interferentes: análisis *in silico* y testeo en laboratorio de organismos reales. Se evaluaron los mismos organismos antes mencionados.

Los cebadores utilizados en el Ensayo Lyra Direct Strep no muestran evidencia de reactividad cruzada con ninguno de los sesenta (60) microorganismos y por tanto se predice que no generarán interferencia.

Ninguno de los otros cuarenta y cuatro (44) microorganismos que pueden encontrarse en muestras de garganta mostraron interferencia con el ensayo.

Sustancias Interferentes

Se realizó un estudio sobre el Applied Biosystems 7500 Fast Dx para evaluar el rendimiento del Ensayo Lyra Direct Strep en presencia de diecisiete (17) sustancias potencialmente interferentes/ con reactividad cruzada, a niveles clínicamente relevantes, que pudieran estar presentes en muestras de garganta.

Resultados de Sustancias Interferentes - 7500 Fast Dx Applied Biosystems®						
Nombre de sustancia	Concentración Final de Sustancia	Resultado Ensayo Lyra Direct Strep				
		Matriz Negativa	Cepa No. 1 Estreptoco-co Grupo A	Cepa No. 2 Estreptoco-co Grupo A	Cepa Estreptococo Grupo C Piógeno (<i>Streptococcus equi</i> subesp. <i>zooepidemicus</i>)	Cepa Estreptococo Grupo G Piógeno (<i>Streptococcus canis</i>)
Mentas Breath Savers 3 Hour Mint (Spearmint)	10% w/v	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Pastillas Cepacol para el Dolor de Garganta	5% w/v	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Pastillas Chloraseptic para Dolor de Garganta	10% w/v	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Pastillas Chloraseptic Max para Dolor de Garganta	1% w/v	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo

Resultados de Sustancias Interferentes - 7500 Fast Dx Applied Biosystems®						
Nombre de sustancia	Concentración Final de Sustancia	Resultado Ensayo Lyra Direct Strep				
		Matriz Negativa	Cepa No. 1 Estreptoco-co Grupo A	Cepa No. 2 Estreptoco-co Grupo A	Cepa Estreptococo Grupo C Piógeno (<i>Streptococcus equi</i> subesp. <i>zooepidemicus</i>)	Cepa Estreptococo Grupo G Piógeno (<i>Streptococcus canis</i>)
Jarabe Dimetapp pediátrico	15% v/v	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Crest Pro-Health Protección Clínica para Encías	3,13% v/v	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Halls Cereza Mentoliptus Caramelos para la tos	15% w/v	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Enjuague bucal Listerine Ultra-clean Antiséptico	15% v/v	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Enjuague bucal Listerine Cool Mint Antiséptico	15% v/v	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Ricola Original Caramelos suizos sin azúcar naturales para Tos y Dolor de Garganta	15% w/v	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Robitussin CF Max	10% v/v	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Robitussin CF Nocturno	10% v/v	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Pastillas Sucrets Complete Cool Citrus	10% w/v	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Pastillas Sucrets Complete - Vapor Cherry	5% w/v	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Caramelos Tic Tac Menta	10% w/v	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Sangre entera*	0,313% v/v	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Remedios Zicam Naturals	15% v/v	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo

*Las concentraciones que superen 0,313% v/v pueden generar interferencia (ver limitaciones más arriba)

Ninguna de las diecisiete (17) sustancias interfirieron con la detección de las muestras de estreptococo positivo Grupo A o estreptococo positivo Grupo C o G piógeno a 2x el LOD. Ninguna de las diecisiete (17) sustancias presentaron reactividad cruzada con el Ensayo Lyra Direct Strep. La sangre entera a concentraciones por encima de las observadas en la tabla demostraron que pueden efectivamente llegar a ser causal de interferencia.

Contaminación de Arrastre y Cruzada

Se realizaron estudios sobre el 7500 Fast Dx de Applied Biosystems empleando un panel de 96 muestras consistente en 48 muestras con positivo alto y 48 muestras negativas. Cada muestra positiva alta contenía 1x10⁶ UFC/ml o más de una muestra de Estreptococo Grupo A y Grupo C piógeno. La muestra negativa era una matriz negativa. Se analizaron las muestras de positivo alto de manera seriada alternando con muestras negativas. El testeo se repitió durante un período de 5 días.

Durante el período de 5 días, no sucedió contaminación cruzada ni arrastre de amplicones con el Ensayo Lyra Direct Srep en el 7500 Fast Dx de Applied Biosystems®.

ATENCIÓN AL CONSUMIDOR Y ASISTENCIA TÉCNICA

Para hacer un pedido o solicitar servicio técnico, póngase en contacto con un representante de Quidel llamando al 800 874-1517 (teléfono en los EE. UU.) ó al 858 552-1100 (para afuera de los 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 o 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.

PROPIEDAD INTELECTUAL

Los compuestos colorantes en este producto se venden con licencia de BioSearch Technologies, Inc. y están protegidos por patente de Estados Unidos y mundiales ya sean emitidas o en trámite de emisión.

La compra de este producto otorga al comprador derechos sobre ciertas patentes de Roche para ser usadas exclusivamente en servicios de diagnóstico in vitro en humanos. Ni su compra ni el presente otorgan ninguna patente general ni licencia de ningún otro tipo más que el derecho específico de uso consignado en el presente.

REFERENCIAS

1. <http://www.antimicrobe.org/b241.asp>, "*Streptococcus* species (Group G and Group C *Streptococci*, Viridans Group, Nutritionally Variant *Streptococci*)".
2. <http://www.antimicrobe.org/b241.asp>, "*Streptococcus* species (Group G and Group C *Streptococci*, Viridans Group, Nutritionally Variant *Streptococci*)".
3. Johnson CC, Tunkel AR. Viridans streptococci and groups C and G streptococci. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone, 1995:1845-1861.



M112 – Kit de Ensayo Lyra Direct Strep



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701 USA
quidel.com

PIM112004ES00 (03/19)

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



Uso previsto

Rx ONLY

Uso bajo receta solamente



Consulte etiquetado electrónico
para instrucciones de uso

IVD

Para uso diagnóstico *in vitro*



Contiene una cantidad suficiente para
96 determinaciones

CONT

Contenido / Contiene
