

Xpert[®] Norovirus

REF GXNOV-10

For Information Only - Not A Controlled Copy



Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], Xpert[®], and Xpertise[™] are trademarks of Cepheid.

Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

NATtrol[™] is a trademark of ZeptoMetrix Corporation.

Armored RNA[®] is a registered trademark of Asuragen, Inc.

Licensed under U.S. Patent Nos. 7,202,032 and 7,351,819 and counterpart patents worldwide.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THIS PACKAGE INSERT. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

Copyright © Cepheid 2019. All rights reserved.

Declaraciones sobre marcas comerciales, patentes y derechos de propiedad intelectual

Cepheid[®], el logotipo de Cepheid, GeneXpert[®], Xpert[®] y Xpertise[™] son marcas comerciales de Cepheid.

Windows[®] es una marca comercial de Microsoft Corporation.

NATtrol[™] es una marca comercial de ZeptoMetrix Corporation.

Armored RNA[®] es una marca comercial registrada de Asuragen, Inc.

Licencia otorgada según los números de patentes de los EE. UU. 7,202,032 y 7,351,819 y sus patentes equivalentes de otras partes del mundo.

LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO OTORGA AL COMPRADOR EL DERECHO INTRANSFERIBLE DE UTILIZARLO SEGÚN ESTE PROSPECTO. NO SE OTORGA NINGÚN OTRO DERECHO DE FORMA EXPRESA, POR IMPEDIMENTO LEGAL O POR ACCIÓN INNEGABLE. LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO TAMPOCO OTORGA NINGÚN DERECHO DE REVENTA.

Copyright © Cepheid 2019. Reservados todos los derechos.



Cepheid

904 Caribbean Drive

Sunnyvale, CA 94089

USA

Xpert[®] Norovirus

Solo para uso diagnóstico *in vitro*.



1 Nombre patentado

Xpert[®] Norovirus

2 Denominación común o habitual

Xpert Norovirus Assay

3 Indicaciones

El Xpert Norovirus Assay de Cepheid, realizado en los sistemas del instrumento GeneXpert[®], es una prueba cualitativa de diagnóstico *in vitro* concebida para la identificación y la diferenciación rápidas de los genogrupos I y II del ARN del norovirus a partir de muestras de heces informes recientes o sin conservantes, obtenidas de personas con síntomas de gastroenteritis aguda. La prueba utiliza la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) en tiempo real automatizada para detectar el ARN del norovirus. El Xpert Norovirus Assay está concebido como una ayuda para el diagnóstico de las infecciones por norovirus, cuando se utiliza en combinación con la evaluación clínica, los hallazgos de laboratorio y la información epidemiológica. El ensayo también ayuda a detectar e identificar infecciones por norovirus en situaciones de brotes infecciosos.

4 Resumen y explicación

Los norovirus son virus de ARN monocatenario sin envoltura del género *Norovirus*, familia *Caliciviridae*, que causan gastroenteritis aguda en humanos y otros mamíferos. El norovirus prototipo se identificó por primera vez como la causa de un brote de gastroenteritis que se produjo en 1968 en Norwalk, Ohio (EE. UU.)¹ Se calcula que el norovirus puede ser el virus causal de más de 23 millones de casos de gastroenteritis cada año en Estados Unidos, lo que representa aproximadamente el 60 % de todos los casos de gastroenteritis aguda.² Los norovirus pueden clasificarse en cinco genogrupos diferentes, de los cuales los genogrupos I (GI) y II (GII) son los causantes de la mayoría de las infecciones en humanos.

Los norovirus son una de las principales causas de gastroenteritis en todo el mundo. Afectan a personas de todas las edades, y suelen encontrarse en brotes observados en centros comunitarios, como residencias de ancianos, hospitales, guarderías, prisiones y cruceros.³⁻⁶ Los síntomas de la infección por norovirus suelen ser diarrea, vómitos, cólicos, náuseas y fiebre. Por lo general, la enfermedad remite espontáneamente y los signos y síntomas pueden durar varios días. En las personas jóvenes, ancianas e inmunocomprometidas, la enfermedad puede ser mortal debido a la deshidratación. Los nombres asociados frecuentemente a la gastroenteritis por norovirus son gastroenteritis vírica y gastroenteritis no bacteriana aguda. Los norovirus solamente pueden cultivarse en sistemas de cultivo celular muy especializados.⁷ La microscopía electrónica puede utilizarse para visualizar directamente norovirus en muestras de heces, pero tiene una baja sensibilidad.⁸

Los enzimoimmunoensayos (EIA) comerciales han demostrado ser útiles durante los brotes de infecciones por norovirus. No obstante, debido a la baja sensibilidad de los ensayos, los enzimoimmunoensayos comerciales solamente son útiles cuando la prevalencia de la infección por norovirus es alta. Además, las directrices actuales de los CDC recomiendan confirmar mediante métodos moleculares todos los resultados negativos de los enzimoimmunoensayos.⁸ Los enzimoimmunoensayos actualmente disponibles tienen una baja sensibilidad (36 %–80 %) cuando se los compara con los métodos de RT-PCR, y una especificidad de baja a buena (47 %–100 %) dependiendo del entorno de la prueba.⁹⁻¹⁵ En Europa y Japón, donde existen ensayos moleculares comerciales, los ensayos requieren técnicos de laboratorio de biología molecular altamente cualificados y, por diseño, obligan a realizar las pruebas en modo de lotes, lo que supone demoras en la notificación de los resultados. Las directrices actuales de los CDC recomiendan que los profesionales sanitarios consideren la posibilidad de desarrollar y adoptar normas en sus centros, con el fin de permitir la confirmación clínica y virológica rápida de los casos en los que se sospeche la presencia de infección sintomática por norovirus y, a la vez, implementar medidas inmediatas de control para reducir la magnitud de los brotes potenciales de infecciones por norovirus.¹⁶ El Xpert Norovirus Assay ofrece una prueba molecular por demanda, rápida y exacta para facilitar la confirmación e iniciar la implementación de medidas inmediatas de control de las infecciones por norovirus, independientemente de la tasa de prevalencia.

5 Principio del procedimiento

Se trata de una prueba automatizada, que utiliza la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) en tiempo real automatizada para detectar secuencias génicas víricas específicas, asociadas a los genogrupos I y II del norovirus. Se recogen muestras de heces de personas con síntomas de gastroenteritis aguda y se transportan en recipientes limpios al laboratorio. Se introduce un hisopo en la muestra de heces y se transfiere a un tubo que contiene el reactivo para muestras. Tras una breve agitación en un mezclador vórtex, la muestra eluida se transfiere a la cámara de muestras del cartucho de fluidos desechable (el cartucho GeneXpert). El cartucho GeneXpert se carga en la plataforma del sistema del instrumento GeneXpert, donde se lleva a cabo el procesamiento automatizado de la muestra sin la intervención del usuario y la RT-PCR en tiempo real para la identificación y diferenciación de los genogrupos I y II del norovirus.

Los sistemas del instrumento GeneXpert automatizan e integran la preparación de muestras, la extracción y amplificación de ácidos nucleicos, y la detección de las secuencias diana en muestras simples o complejas mediante ensayos de PCR con transcriptasa inversa (RT-PCR) y de PCR en tiempo real. Los sistemas constan de un instrumento, un ordenador personal y software precargado para realizar las pruebas y ver los resultados. Los sistemas requieren el uso de cartuchos GeneXpert desechables de un solo uso que contengan los reactivos para la RT-PCR y la PCR, y que también alojen ambos procesos. Al tratarse de cartuchos autónomos, la contaminación cruzada entre muestras se reduce al mínimo. Para obtener una descripción completa de los sistemas, consulte el *Manual del operador del GeneXpert Dx* o el *Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity* adecuados.

El Xpert Norovirus Assay incluye reactivos para la detección de secuencias de ácidos nucleicos de los genogrupos I y II de norovirus a partir de muestras de heces informes recientes o sin conservantes, obtenidas de personas con síntomas de gastroenteritis aguda. En el cartucho se incluye, además, un control de procesamiento de muestras (SPC) y un control de comprobación de la sonda (PCC). El SPC está presente para controlar el procesamiento adecuado de los virus diana y comprobar la presencia de inhibidores en la reacción de PCR. El PCC verifica la rehidratación de los reactivos secos, el llenado del tubo de PCR en el cartucho, la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes.

6 Reactivos e instrumentos

6.1 Materiales suministrados



El kit del Xpert Norovirus Assay contiene reactivos suficientes para procesar 10 muestras de pacientes o de control de calidad. El kit contiene lo siguiente:

Cartuchos Xpert Norovirus Assay con tubos de reacción integrados	10
• Microesfera 1, microesfera 2 y microesfera 3 (liofilizadas)	1 de cada por cartucho
• Reactivo de elución	1,5 ml por cartucho
• Reactivo de enjuague	1,0 ml por cartucho
• Reactivo de unión (tiocianato de guanidinio)	2,7 ml por cartucho
Reactivo para muestras (tiocianato de guanidinio)	10 x 2,0 ml por frasco
CD	1 por kit
• Archivo de definición de ensayos (ADF, Assay Definition File)	
• Instrucciones para importar el ADF en el software	
• Instrucciones de uso (prospecto)	

Nota Las fichas de datos de seguridad (SDS, Safety Data Sheets) están disponibles en el apartado **ASISTENCIA (SUPPORT)** de www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com.

Nota La albúmina sérica bovina (BSA) del interior de las microesferas de este producto se obtuvo y se fabricó exclusivamente a partir de plasma bovino originario de Estados Unidos. Los animales no fueron alimentados con proteínas de rumiantes ni con otras proteínas animales; los animales superaron pruebas ante y post mortem. Durante el procesamiento, no hubo mezcla del material con otros materiales de origen animal.

7 Conservación y manipulación



- Conserve los cartuchos y los reactivos del Xpert Norovirus Assay a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C.
- No utilice los reactivos ni los cartuchos después de la fecha de caducidad indicada.
- No abra la tapa del cartucho hasta el momento de realizar la prueba.
- Utilice el cartucho antes de que transcurran 30 minutos después de abrir la tapa.

8 Materiales requeridos pero no suministrados


- GeneXpert Dx System o sistema GeneXpert Infinity (el número de catálogo varía según la configuración): instrumento GeneXpert, ordenador con el software GeneXpert patentado versión 4.3 o posterior, lector de códigos de barras portátil y manual del operador.
- Impresora: Póngase en contacto con el representante de ventas de Cepheid para organizar la compra de una impresora recomendada.
- Mezclador vórtex
- Pipetas de transferencia desechables
- Hisopos con punta de rayón seco desechables para un solo uso (SDPS-120) o hisopos de rayón equivalentes para transferir la muestra de heces del recipiente de la muestra al frasco de reactivo para muestras.
- Recipiente de muestras limpio, sin conservantes

9 Materiales disponibles pero no suministrados

- Solución concentrada de rotavirus ZeptoMetrix NATrol™ (REF NATROTA-6MC) como control negativo externo.
- Solución concentrada de norovirus GI ZeptoMetrix NATrol™ y solución concentrada de norovirus GII ZeptoMetrix NATrol™ (REF NATNOVI-6MC y NATNOVII-6MC) como controles positivos externos.

10 Advertencias y precauciones

10.1 Generales

- Solo para uso diagnóstico *in vitro*.
- Para uso exclusivo con prescripción médica.
-  Trate todas las muestras biológicas, incluidos los reactivos y los cartuchos usados, como posibles agentes transmisores de infecciones. Con frecuencia es imposible saber qué muestras podrían ser infecciosas, por lo que todas las muestras biológicas deben tratarse tomando las precauciones habituales. Las directrices para la manipulación de las muestras están disponibles en los Centros para el Control y la Prevención de las Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention)¹⁷ y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute) de Estados Unidos.¹⁸
- Las muestras biológicas, los dispositivos de transferencia y los cartuchos usados deben ser considerados capaces de transmitir agentes infecciosos que requieren las precauciones habituales. Siga los procedimientos de eliminación de desechos de su centro para la eliminación adecuada de los cartuchos usados y los reactivos no utilizados. Estos materiales pueden exhibir características propias de los residuos químicos peligrosos que requieren procedimientos específicos de eliminación de carácter nacional o regional. Si las normativas nacionales o regionales no proporcionan instrucciones claras en cuanto a los procedimientos de eliminación adecuados, las muestras biológicas y los cartuchos usados deben desecharse de conformidad con las directrices de la OMS [Organización Mundial de la Salud] en cuanto a la manipulación y eliminación de desechos médicos. Consulte con el personal encargado de los residuos medioambientales del centro sobre cuál es la forma correcta de eliminar los cartuchos usados y los reactivos no utilizados.


10.2 Muestra

- Durante el transporte de la muestra, mantenga las condiciones de conservación adecuadas para asegurar su integridad (consulte el apartado 12, Recogida, transporte y conservación de las muestras). No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de transporte distintas a las recomendadas.
- La recogida, conservación y transporte adecuados de las muestras son esenciales para obtener resultados correctos.

10.3 Ensayo/reactivo

- No sustituya los reactivos del Xpert Norovirus Assay por otros reactivos.
- No abra la tapa del cartucho del Xpert Norovirus Assay hasta que esté preparado para añadir una muestra.
- No utilice cartuchos que se hayan caído después de extraerlos del kit o que se hayan agitado después de haber abierto la tapa del cartucho. Si el cartucho se agita o se deja caer después de abrir la tapa, es posible que se obtengan resultados falsos o indeterminados.
- No coloque la etiqueta de ID de la muestra en la tapa del cartucho ni sobre la etiqueta del código de barras.
- No utilice cartuchos que estén mojados o que tengan el precinto roto.
- El reactivo para muestras es un líquido transparente incoloro. No utilice el reactivo para muestras si presenta turbidez o cambio de color.
- No utilice cartuchos con tubos de reacción dañados.
- ② • Cada cartucho de un solo uso del Xpert Norovirus Assay se utiliza para procesar una sola prueba. No vuelva a utilizar los cartuchos gastados.
- Para evitar la contaminación de las muestras o los reactivos, deben seguirse las buenas prácticas de laboratorio y cambiarse los guantes entre las manipulaciones de muestras de pacientes. Limpie periódicamente la superficie y las zonas de trabajo con lejía al 10 % y, a continuación, vuelva a limpiar la superficie con un paño humedecido con alcohol etílico o isopropílico al 70 % antes y después de procesar muestras con el Xpert Norovirus.
- Las muestras pueden contener altas concentraciones de microorganismos. Asegúrese de que los recipientes de las muestras no entren en contacto entre sí. Para evitar contaminar otras muestras, cámbiense los guantes si estos entran en contacto directo con la muestra y después de procesar cada muestra.

11 Peligros químicos^{19,20}

- Pictograma de peligro del SGA de la ONU: 
- Palabra de advertencia: ADVERTENCIA
- **Declaraciones de peligro del GHS de Naciones Unidas:**
 - Nocivo en caso de ingestión.
 - Provoca irritación cutánea leve.
 - Provoca irritación ocular.
- **Declaraciones de precaución del SGA de la ONU:**
 - **Prevención**
 - Lavarse concienzudamente tras la manipulación.
 - **Respuesta**
 - Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar.
 - En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.
 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
 - Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.
 - **Almacenamiento/eliminación**
 - Deseche el contenido y/o el contenedor conforme a los reglamentos locales, regionales, nacionales e internacionales.

12 Recogida, transporte y conservación de las muestras

1. Recoja una muestra de heces informe reciente o sin conservantes en un recipiente limpio sin conservantes. Siga las directrices de su centro para la recogida de muestras para las pruebas de norovirus.
2. Etiquete el recipiente de la muestra de heces con el nombre del paciente y la ID de la muestra, y envíelo al laboratorio.
3. Conserve la muestra entre 2 °C y 8 °C. La muestra es estable durante un máximo de 2 días cuando se conserva entre 2 °C y 8 °C.



13 Procedimiento

13.1 Preparación del cartucho

Importante Inicie la prueba antes de que transcurran 30 minutos desde que se añadió el reactivo para muestras al cartucho.

Para añadir la muestra al cartucho:

1. Extraiga el cartucho y el frasco de reactivo para muestras del kit.
2. Moje un hisopo en la muestra de heces informe reciente. La figura 1 indica la cantidad correcta de muestra que debe utilizarse para el Xpert Norovirus Assay.

Nota Envuelva el vástago del hisopo y la boca del frasco con gasa estéril para reducir al mínimo el riesgo de contaminación. No recubra toda la punta de fibra del hisopo con heces. Consulte la figura 1. Un exceso de heces puede provocar errores o resultados no válidos.



Figura 1. Recogida de una muestra en un hisopo

3. Tras retirar la tapa del frasco de reactivo para muestras, introduzca el hisopo con la muestra de heces en el frasco que contiene el reactivo para muestras.
4. Sujete el hisopo por el vástago cerca del borde del frasco. Levante el hisopo unos milímetros del fondo del frasco y doble el vástago sobre el borde del frasco para romperlo y acortar el hisopo lo suficiente para permitir que quepa en el frasco y que la tapa pueda cerrarse firmemente.
5. Cierre la tapa del frasco de reactivo para muestras y agite el frasco en un mezclador vórtex a alta velocidad durante diez segundos.
6. Abra la tapa del cartucho. Con una pipeta de transferencia limpia (no suministrada), transfiera todo el contenido del frasco de reactivo para muestras a la cámara de muestras del cartucho del Xpert Norovirus Assay. Consulte la figura 2.
7. Cierre la tapa del cartucho e inicie la prueba en los 30 minutos siguientes.

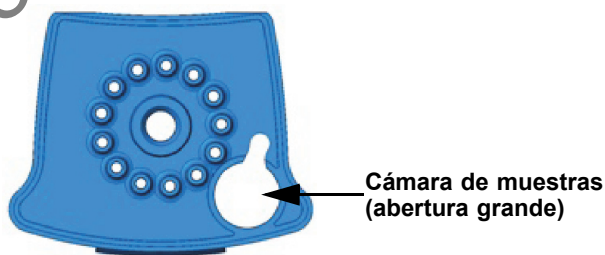


Figura 2. Cartucho del Xpert Norovirus Assay (vista superior)

13.2 Inicio de la prueba

Importante

Antes de iniciar la prueba, asegúrese de que se haya importado al software el archivo de definición del ensayo Xpert Norovirus Assay. Este apartado describe los pasos básicos para realizar la prueba. Para ver instrucciones detalladas, consulte el *Manual del operador del GeneXpert Dx System* o el *Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity*, según el modelo que se esté utilizando.

Nota Los pasos que debe seguir pueden variar si el administrador del sistema cambió el flujo de trabajo predeterminado del sistema.

1. Encienda el instrumento GeneXpert:
 - Si está utilizando el instrumento GeneXpert Dx, encienda primero el instrumento y, a continuación, encienda el ordenador. El software GeneXpert se ejecutará automáticamente o puede requerir que se haga doble clic en el icono del acceso directo del software GeneXpert Dx en el escritorio de Windows®.
 - o
 - Si está utilizando el instrumento GeneXpert Infinity, ponga en marcha el instrumento. El software GeneXpert se ejecutará automáticamente o puede requerir que se haga doble clic en el icono del acceso directo del software Xpertise en el escritorio de Windows®.
2. Inicie sesión en el software del GeneXpert Instrument System con su nombre de usuario y su contraseña.
3. En la ventana del GeneXpert System, haga clic en **Crear prueba (Create Test)** (GeneXpert Dx), o en **Solicitudes (Orders) y Solicitar prueba (Order Test)** (GeneXpert Infinity). Se abrirá la ventana Crear prueba (Create Test).
4. Escanee o escriba la Id. paciente (Patient ID) (opcional). Si escribe la Id. paciente (Patient ID), asegúrese de escribirla correctamente. La Id. paciente (Patient ID) se muestra en el lado izquierdo de la ventana Ver resultados (View Results) y está asociada con los resultados de la prueba.
5. Escanee o escriba la Id. muestra (Sample ID). Si escribe la Id. muestra (Sample ID), asegúrese de escribirla correctamente. La Id. muestra (Sample ID) se muestra en el lado izquierdo de la ventana Ver resultados (View Results) y está asociada con los resultados de la prueba.
6. Escanee el código de barras del cartucho del Xpert Norovirus Assay. El software utiliza la información del código de barras para rellenar automáticamente los cuadros de los campos siguientes: Seleccionar ensayo (Select Assay), Id. del lote (Reagent Lot ID), N.º de serie del cartucho (Cartridge SN) y Fecha de caducidad (Expiration Date).

Nota Si no se puede escanear el código de barras del cartucho del Xpert Norovirus Assay, repita la prueba con un cartucho nuevo siguiendo el procedimiento del apartado Procedimiento de repetición de la prueba.

7. Haga clic en **Iniciar prueba (Start Test)** (GeneXpert Dx) o en **Enviar (Submit)** (GeneXpert Infinity). Escriba su contraseña en el cuadro de diálogo que aparece.
8. En el sistema GeneXpert Infinity System, coloque el cartucho en la cinta transportadora. El cartucho se cargará automáticamente, se realizará la prueba y el cartucho usado se colocará en el recipiente de residuos.

o
Para el instrumento GeneXpert Dx:

- A. Abra la puerta del módulo del instrumento que tiene la luz verde intermitente y cargue el cartucho.
- B. Cierre la puerta. La prueba se inicia y la luz verde deja de parpadear. Una vez finalizada la prueba, la luz se apaga.
- C. Espere hasta que el sistema desbloquee la puerta del módulo antes de abrirla y retirar el cartucho.
- D. Los cartuchos usados deben desecharse en los recipientes de residuos de muestras adecuados, de acuerdo con las prácticas habituales del centro.

14 Visualización e impresión de los resultados

Este apartado describe los pasos básicos para ver e imprimir los resultados. Para obtener instrucciones detalladas sobre cómo ver e imprimir los resultados, consulte el *Manual del operador del GeneXpert Dx System* o el *Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity*.

1. Haga clic en el icono **Ver resultados (View Results)** para ver los resultados.
2. Una vez finalizada la prueba, haga clic en el botón **Informe (Report)** de la ventana Ver resultados (View Results) para ver o generar un archivo de informe en formato PDF.

15 Control de calidad

15.1 Controles de calidad integrados

CONTROL

Cada prueba incluye un control de procesamiento de muestras (SPC) y un control de comprobación de la sonda (PCC).

- **Control de procesamiento de muestras (SPC):** Asegura que la muestra se procesó correctamente. El SPC contiene Armored RNA® que se incluye en cada cartucho para verificar el procesamiento adecuado de la muestra. El SPC verifica que se haya producido la liberación del ARN del virus, si el microorganismo está presente, y que el procesamiento de la muestra haya sido correcto. Además, este control detecta la inhibición asociada a la muestra de las reacciones RT-PCR y PCR. El SPC debe ser positivo en una muestra negativa, y puede ser negativo o positivo en una muestra positiva. El SPC se considera superado si cumple los criterios de aceptación validados.
- **Control de comprobación de la sonda (PCC):** Antes de iniciar la reacción PCR, el GeneXpert Dx System o el sistema GeneXpert Infinity mide la señal de fluorescencia de las sondas (SPC, QC1, y QC2, una por cada una de las dos microesferas de reactivo) para comprobar la rehidratación de las microesferas, el llenado del tubo de reacción, la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes. La comprobación de la sonda se considera superada si cumple los criterios de aceptación asignados.

15.2 Controles externos

- **Controles externos:** Puede utilizarse la solución concentrada de rotavirus ZeptoMetrix NATrol (REF NATROTA-6MC) como control negativo externo, y la solución concentrada de norovirus GI ZeptoMetrix NATrol y la solución concentrada de norovirus GII ZeptoMetrix NATrol (REF NATNOVI-6MC y NATNOVII-6MC) como controles positivos externos, de acuerdo con las organizaciones de acreditación locales, regionales y nacionales, según corresponda.

16 Interpretación de los resultados

El GeneXpert Instrument System interpreta los resultados a partir de las señales fluorescentes medidas y de los algoritmos de cálculo incorporados, y los muestra en la ventana Ver resultados. Los resultados posibles se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados e interpretación del Xpert Norovirus Assay

Resultado	Interpretación
NORO GI DETECTADO, NORO GII NO DETECTADO (NORO GI DETECTED, NORO GII NOT DETECTED) Consulte la figura 3.	Se ha detectado secuencia de ARN de norovirus de genogrupo I (GI). <ul style="list-style-type: none"> • La secuencia de ARN diana de norovirus de genogrupo I (GI) tiene un Ct que está dentro del rango válido y un punto final por encima del valor umbral configurado. • SPC – NA (no aplicable); El SPC se omite porque la amplificación de la diana del norovirus puede competir con este control. • PCC – SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
NORO GI NO DETECTADO, NORO GII DETECTADO (NORO GI NOT DETECTED, NORO GII DETECTED) Consulte la figura 4.	Se ha detectado secuencia de ARN de norovirus de genogrupo II (GII). <ul style="list-style-type: none"> • La secuencia de ARN diana de norovirus de genogrupo II (GII) tiene un Ct que está dentro del rango válido y un punto final por encima del valor umbral configurado. • SPC – NA (no aplicable); El SPC se omite porque la amplificación de la diana del norovirus puede competir con este control. • PCC – SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
NORO GI DETECTADO, NORO GII DETECTADO (NORO GI DETECTED, NORO GII DETECTED) Consulte la figura 5.	Se ha detectado secuencia de ARN de norovirus de genogrupo I (GI) y secuencia de ARN de norovirus de genogrupo II (GII). <ul style="list-style-type: none"> • La secuencia de ARN diana de norovirus de genogrupo I (GI) tiene un Ct que está dentro del rango válido y un punto final por encima del valor umbral configurado. • La secuencia de ARN diana de norovirus de genogrupo II (GII) tiene un Ct que está dentro del rango válido y un punto final por encima del valor umbral configurado. • SPC – NA (no aplicable); El SPC se omite porque la amplificación de la diana del norovirus puede competir con este control. • PCC – SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.

Tabla 1. Resultados e interpretación del Xpert Norovirus Assay (continuación)

Resultado	Interpretación
<p>NORO GI NO DETECTADO, NORO GII NO DETECTADO (NORO GI NOT DETECTED, NORO GII NOT DETECTED)</p> <p>Consulte la figura 6.</p>	<p>No se han detectado secuencias de ARN diana de norovirus.</p> <ul style="list-style-type: none"> No se han detectado secuencias de ARN diana de norovirus. SPC – SUPERADO; El SPC tiene un Ct dentro del rango válido y un valor extremo por encima del umbral mínimo configurado. PCC – SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
<p>NO VÁLIDO (INVALID)</p> <p>Consulte la figura 7.</p>	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de secuencias de ARN diana de norovirus. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del apartado 17.2, Procedimiento de repetición de la prueba.</p> <ul style="list-style-type: none"> Norovirus GI – NO VÁLIDO Norovirus GII – NO VÁLIDO SPC – NO SUPERADO; el Ct del SPC no está dentro del rango válido y el valor extremo está por debajo del umbral configurado. PCC – SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
<p>ERROR</p>	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de secuencias de ARN diana de norovirus. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del apartado 17.2, Procedimiento de repetición de la prueba.</p> <ul style="list-style-type: none"> Norovirus GI – ERROR Norovirus GII – ERROR PCC – NO SUPERADO*; uno o más de los resultados de la comprobación de sondas no superaron la comprobación. <p>* Si la comprobación de la sonda se superó, el error se debe a que el límite máximo de presión excedió el rango aceptable.</p>
<p>SIN RESULTADO (NO RESULT)</p>	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de secuencias de ARN diana de norovirus. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del apartado 17.2, Procedimiento de repetición de la prueba. SIN RESULTADO (NO RESULT) indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, si el operador detuvo una prueba en curso o si se produjo un corte del suministro eléctrico.</p> <ul style="list-style-type: none"> Norovirus GI – SIN RESULTADO Norovirus GII – SIN RESULTADO PCC – NA (no aplicable).



Figura 3. Norovirus GI detectado; Norovirus GII no detectado

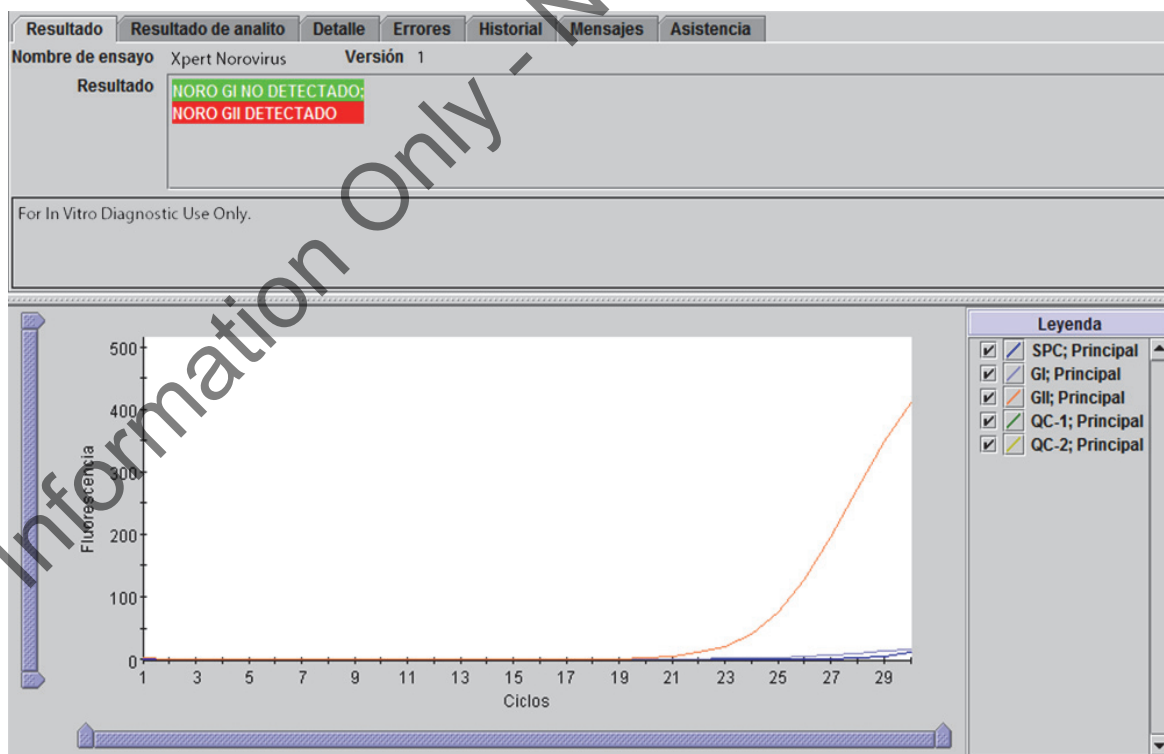


Figura 4. Norovirus GI no detectado; Norovirus GII detectado

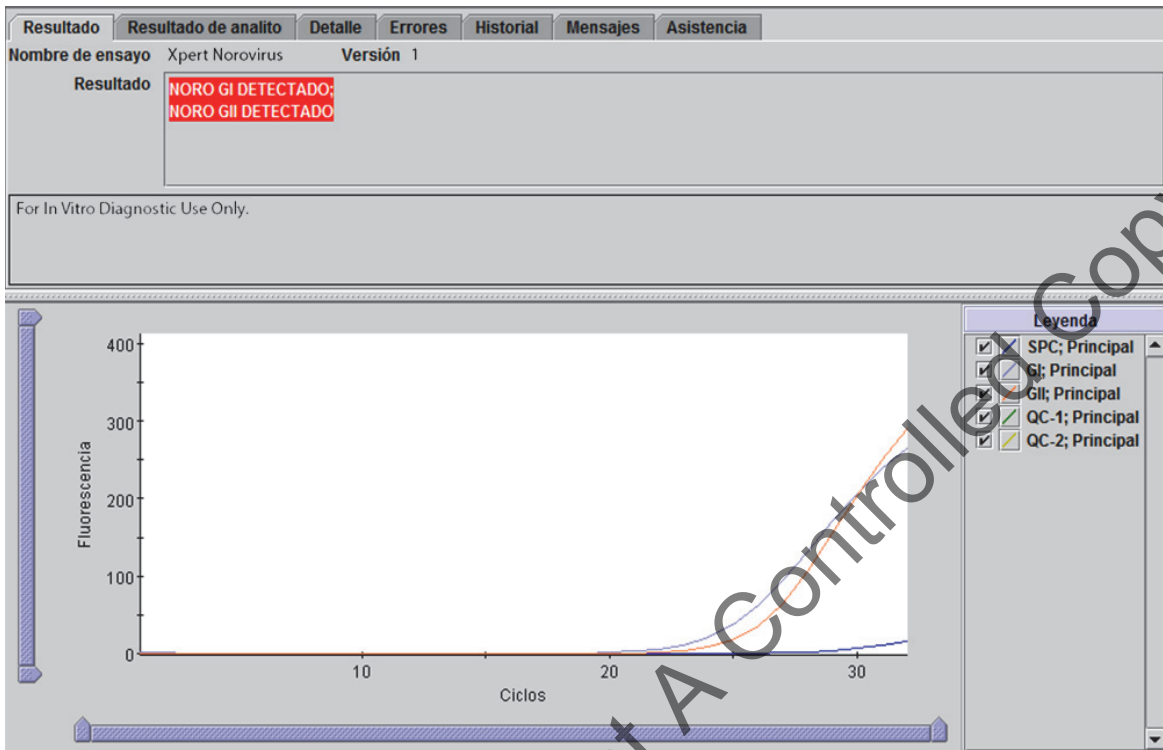


Figura 5. Norovirus GI detectado; Norovirus GII detectado

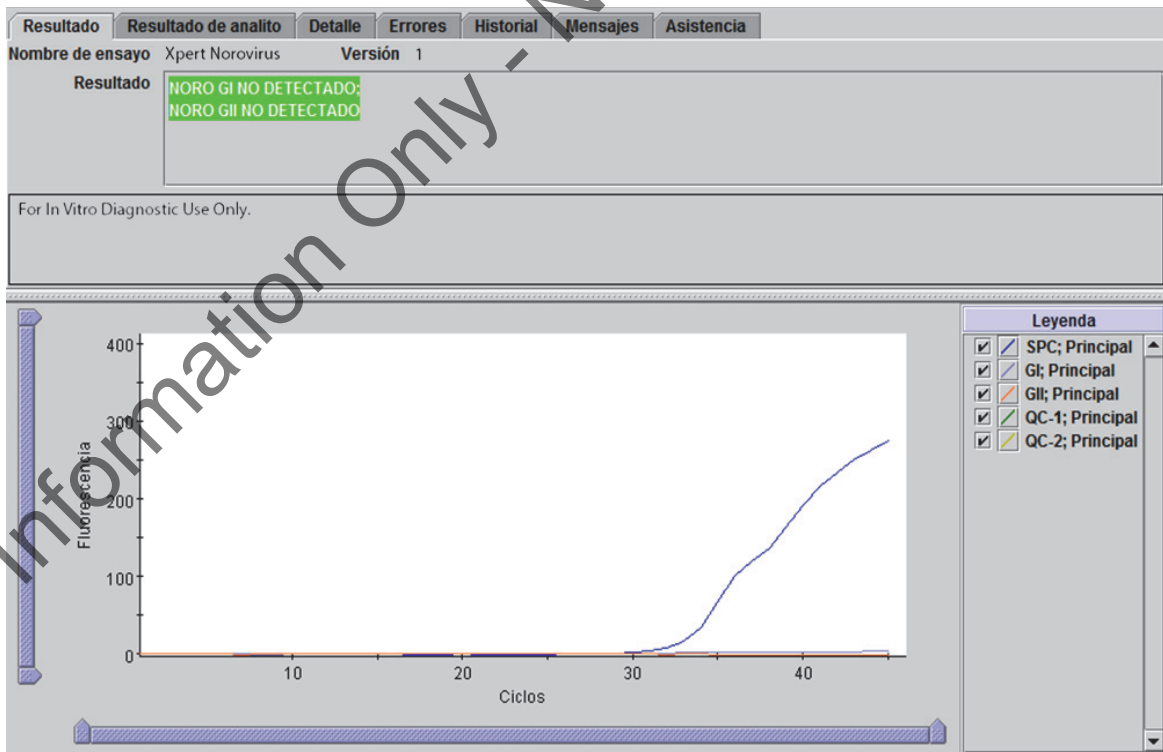


Figura 6. Norovirus GI no detectado; Norovirus GII no detectado



Figura 7. NO VÁLIDO

17 Repetición de la prueba

17.1 Motivos para repetir el ensayo

Si se obtiene alguno de los resultados de la prueba que se mencionan a continuación, repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del apartado 17.2, Procedimiento de repetición de la prueba.

- Un resultado **NO VÁLIDO (INVALID)** indica que el control SPC falló. La muestra no se procesó correctamente, la PCR se inhibió o la muestra no se recogió correctamente.
- Un resultado de **ERROR** puede deberse, entre otras cosas, a un fallo del control de comprobación de la sonda o a que se excedieron los límites máximos de presión.
- **SIN RESULTADO (NO RESULT)** indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, el usuario detuvo una prueba que estaba en curso o se produjo una interrupción del suministro eléctrico.

17.2 Procedimiento de repetición de la prueba

Para repetir la prueba con muestras que obtengan un resultado de **NO VÁLIDO (INVALID)**, **ERROR** o **SIN RESULTADO (NO RESULT)**, utilice un cartucho nuevo (no vuelva a utilizar el cartucho) y un frasco de reactivo para muestras nuevo.

1. Extraiga el cartucho y el frasco de reactivo para muestras del kit del Xpert Norovirus Assay.
2. Tras retirar la tapa del frasco de reactivo para muestras, moje brevemente un hisopo en la muestra de heces informe. La figura 8 indica la cantidad correcta de muestra que debe utilizarse para el Xpert Norovirus Assay.

Nota

Envuelva el vástago del hisopo y la boca del frasco con gasa estéril para reducir al mínimo el riesgo de contaminación. No recubra toda la punta de fibra del hisopo con heces. Consulte la figura 8. Un exceso de heces puede provocar errores o resultados no válidos.



Figura 8. Recogida de una muestra en un hisopo

3. Tras retirar la tapa del frasco de reactivo para muestras, introduzca el hisopo con la muestra de heces en el frasco que contiene el reactivo para muestras.
4. Sujete el hisopo por el vástago cerca del borde del frasco. Levante el hisopo unos milímetros del fondo del frasco y presione el vástago contra el borde del frasco para romperlo. Asegúrese de que el hisopo sea lo suficiente corto como permitir que la tapa se cierre bien apretada.
5. Cierre la tapa del frasco de reactivo para muestras y agite el frasco en un mezclador vórtex a alta velocidad durante diez segundos.
6. Abra la tapa del cartucho. Con una pipeta de transferencia limpia (no suministrada), transfiera todo el contenido del reactivo para muestras a la cámara de muestras del cartucho del Xpert Norovirus Assay. Consulte la figura 2.
7. Cierre la tapa del cartucho e inicie la prueba en los 30 minutos siguientes.

18 Limitaciones

- Solo para uso diagnóstico *in vitro*.
- La eficacia diagnóstica del Xpert Norovirus Assay se validó únicamente mediante los procedimientos descritos en este prospecto.
- Las modificaciones de estos procedimientos pueden alterar la eficacia diagnóstica de la prueba. Los resultados del Xpert Norovirus Assay deben interpretarse junto con otros datos de laboratorio y clínicos de los que disponga el médico.
- La prueba puede arrojar resultados erróneos si las muestras no se recogen, manipulan y almacenan correctamente, si se confunden las muestras o si el número de microorganismos presentes en la muestra es inferior al límite de detección de la prueba. El estricto cumplimiento de las instrucciones de este prospecto es necesario para evitar resultados erróneos.
- Con muestras de heces informes recientes o sin conservantes, pueden observarse interferencias con el ensayo en presencia de sulfato de bario (≥ 1 % p/p) y cloruro de benzalconio a todas las concentraciones evaluadas (1 % p/v, 0,2 % p/v y 0,04 % p/v).
- Las mutaciones o los polimorfismos en las regiones de unión de los cebadores o las sondas pueden afectar a la detección de variantes nuevas o desconocidas de norovirus y hacer que se obtenga un resultado negativo falso.
- En caso de infección combinada por norovirus GI y GII en la que el título de un genogrupo sea superior al del otro, se notificará como detectado el genogrupo que tenga el mayor título de las dos infecciones; es posible que el genogrupo con el menor título se notifique como no detectado.

19 Valores esperados

En el ensayo clínico del Xpert Norovirus Assay se incluyó un total de 914 muestras de heces informes recientes o no conservadas, recién recogidas prospectivamente, procedentes de siete centros del estudio. El número y el porcentaje de casos positivos para norovirus GI y norovirus GII, calculados por grupo de edad, se indican en la tabla 2.

Tabla 2. Prevalencia observada de GI y GII por grupo de edad

Edad (años)	N.º de positivos para GI	% de prevalencia observada para GI	N.º de positivos para GII	% de prevalencia observada para GII
0-1	0/8	0	0/8	0
> 1-5	1/6	16,7	0/6	0
> 5-12	0/10	0	1/10	10,0
> 12-21	0/29	0	3/29	10,3
> 21-65	9/520	1,7	35/520	6,7
> 65	6/341	1,8	35/341	10,3
Total	16/914	1,8	74/914	8,1

20 Eficacia diagnóstica

20.1 Eficacia clínica

La eficacia diagnóstica del Xpert Norovirus Assay se evaluó en siete centros de EE. UU. y la Unión Europea. Las muestras utilizadas en el estudio fueron muestras de heces informes recientes o sin conservantes, recogidas de personas con síntomas de gastroenteritis aguda. Se comparó la eficacia diagnóstica del Xpert Norovirus Assay con la de un método de prueba de referencia combinada, realizado en los Centros para el Control y la Prevención de las Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention, CDC; Atlanta, GA, EE. UU.).

Se analizó la presencia de norovirus GI en un total de 1403 muestras, utilizando el Xpert Norovirus Assay y la prueba de referencia combinada. De las 1403 muestras, 914 eran muestras recién obtenidas prospectivamente y 489 eran muestras congeladas de archivo. Se analizó la presencia de norovirus GII en un total de 1401 muestras, utilizando el Xpert Norovirus Assay y la prueba de referencia combinada. De las 1401 muestras, 914 eran muestras recién obtenidas prospectivamente y 487 eran muestras congeladas de archivo.

En las muestras recién obtenidas prospectivamente, el Xpert Norovirus Assay mostró un porcentaje de concordancia positivo (PPA) del 100 % y un porcentaje de concordancia negativo (NPA) del 99,6 % para la detección del norovirus GI, respecto a la prueba de referencia combinada (tabla 3). El Xpert Norovirus Assay mostró un PPA del 98,5 % y un NPA del 98,8 % para la detección del norovirus GII (tabla 4).

En las muestras congeladas de archivo, el Xpert Norovirus Assay mostró un PPA del 98,1 % y un NPA del 94,6 % para la detección del norovirus GI, respecto a la prueba de referencia combinada (tabla 5). El Xpert Norovirus Assay mostró un PPA del 100 % y un NPA del 96,8 % para la detección del norovirus GII (tabla 6).

Tabla 3. Eficacia diagnóstica para Xpert Norovirus Assay GI frente a la Prueba de referencia combinada - muestras recién obtenidas

		Prueba de referencia combinada		
		POS.	NEG.	Total
Xpert Norovirus	POS.	12	4	16
	NEG.	0	898	898
	Total	12	902	914
		PPA% (IC del 95 %)	100 % (IC del 95 %: 73,5-100)	
		NPA% (IC del 95 %)	99,6 % (IC del 95 %: 98,9-99,9)	

Tabla 4. Xpert Norovirus Assay - Eficacia diagnóstica para GII frente a la Prueba de referencia combinada - muestras recién obtenidas

		Prueba de referencia combinada		
		POS.	NEG.	Total
Xpert Norovirus	POS.	64	10	74
	NEG.	1	839	840
	Total	65	849	914
		PPA% (IC del 95 %)	98,5 % (IC del 95 %: 91,7-100)	
		NPA% (IC del 95 %)	98,8 % (IC del 95 %: 97,8-99,4)	

Tabla 5. Xpert Norovirus Assay - Eficacia diagnóstica para GI frente a la prueba de referencia combinada - muestras congeladas

		Prueba de referencia combinada		
		POS.	NEG.	Total
Xpert Norovirus	POS.	101	21	122
	NEG.	2	365	367
	Total	103	386	489
		PPA% (IC del 95 %)	98,1 % (IC del 95 %: 93,2-99,8)	
		NPA% (IC del 95 %)	94,6 % (IC del 95 %: 91,8-96,6)	

Tabla 6. Xpert Norovirus Assay - Eficacia diagnóstica para GII frente a la prueba de referencia combinada - muestras congeladas

		Prueba de referencia combinada		
		POS.	NEG.	Total
Xpert Norovirus	POS.	109	12	121
	NEG.	0	366	366
	Total	109	378	487
		PPA% (IC del 95 %)	100 % (IC del 95 %: 96,7-100)	
		NPA% (IC del 95 %)	96,8 % (IC del 95 %: 94,5-98,3)	

21 Eficacia analítica

21.1 Sensibilidad analítica (límite de detección)

Se llevó a cabo un estudio de límite de detección (LD) para evaluar la sensibilidad analítica del Xpert Norovirus Assay con muestras clínicas de heces positivas para norovirus GI.3 o norovirus GII.4, diluidas en una matriz de heces negativas combinadas. El LD se define como la concentración más baja (copias/ml) por muestra que puede distinguirse de forma reproducible de muestras negativas con una confianza del 95 %. Se evaluaron al menos 23 réplicas en siete concentraciones para determinar la presencia de norovirus GI.3 y norovirus GII.4, y se calcularon los LD mediante análisis probit. Los LD calculados se confirmaron analizando al menos 20 réplicas de las muestras con virus diluido a las concentraciones de los LD calculados.

Las estimaciones puntuales de los LD y los LD confirmados para cada genogrupo analizado se resumen en la tabla 7.

Tabla 7. Límite de detección del Xpert Norovirus Assay

Norovirus Genogrupo/cepa	Límite de detección (IC del 95 %)
GI.3	5,7 x 10 ⁵ (copias/ml) (4,64 x 10 ⁵ - 6,67 x 10 ⁵)
GII.4	3,0 x 10 ⁵ (copias/ml) (1,25 x 10 ⁵ - 1,78 x 10 ⁵)

21.2 Especificidad analítica (reactividad cruzada)

La especificidad analítica del Xpert Norovirus Assay se evaluó analizando un grupo de 68 microorganismos, compuesto por 54 cepas de bacterias, 1 de hongos, 9 de virus y 4 de parásitos, como representación de los patógenos habituales de la gastroenteritis o de los que pueden encontrarse en las heces. Se analizaron tres réplicas de todas las cepas de bacterias y de hongos a concentraciones $\geq 10^6$ UFC/ml. Se analizaron al menos tres réplicas de todos los virus a concentraciones $\geq 10^5$ DICT₅₀/ml, con la excepción de dos virus obtenidos de muestras clínicas, cuya concentración se desconocía. Se analizaron al menos tres réplicas de todos los parásitos a concentraciones $\geq 10^6$ copias/ml. Todos los microorganismos evaluados fueron notificados correctamente como **NORO GI NO DETECTADO; NORO GII NO DETECTADO (NORO GI NOT DETECTED; NORO GII NOT DETECTED)** por el Xpert Norovirus Assay. La especificidad analítica fue del 100 %. Los resultados posibles se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Especificidad analítica del Xpert Norovirus

Microorganismo	ID de la cepa	Concentración
<i>Acinetobacter baumannii</i>	CCUG 3477	> 3,0 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Anaerococcus prevotii</i> ^a	ATCC 9321	6,7 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Bacterioides fragilis</i> ^a	ATCC 25285	1,4 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Campylobacter coli</i>	ATCC 43478	1,8 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33560	1,3 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Campylobacter lari</i>	ATCC 35221	3,4 x 10 ⁷ UFC/ml
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 33128	1,5 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Clostridium difficile</i> ^a	ATCC 9689	2,2 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Clostridium sordelli</i> ^a	DSMZ 2141	2,0 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Eggerthella lenta</i>	ATCC 43055	> 3,0 x 10 ⁷ UFC/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 70021	1,0 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	ATCC 25788	1,0 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	5,4 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 9756	8,2 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Enterococcus gallinarum</i>	ATCC 49573	4,5 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	ATCC 43888	8,4 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O26:H11	CDC 033014	7,4 x 10 ⁸ UFC/ml

Tabla 8. Especificidad analítica del Xpert Norovirus (continuación)

Microorganismo	ID de la cepa	Concentración
<i>Escherichia coli</i> O45:H2	CDC 003039	3,3 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O103:H11	CDC 063008	5,4 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O11	CDC 201114	6,9 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O121	CDC 023211	1,4 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O145	CDC 993311	7,1 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia hermannii</i>	ATCC 33650	1,5 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Fusobacterium necrophorum</i> ^a	ATCC 31647	9,6 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Helicobacter pylori</i>	CCUG 1784	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 70063	1,2 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	ATCC 25258	4,0 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	CCUG 3358	1,2 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 4698	1,8 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Morganella morganii</i>	ATCC 49948	1,3 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ^a	CCUG 7835	1,5 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	ATCC 51903	3,1 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Prevotella oralis</i> ^a	ATCC 33269	1,2 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 43071	1,1 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 49132	1,8 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Providencia alcalifaciens</i>	CCUG 6325	1,8 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Providencia stuartii</i>	ATCC 49809	1,3 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	6,3 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525	> 3,0 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Pseudomonas putida</i>	ATCC 49128	5,5 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Salmonella agona</i>	ATCC 51957	1,2 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Salmonella bongori</i>	ATCC 43975	1,7 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 13314	9,2 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 43862	3,8 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12022	8,1 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 25931	> 3,0 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	8,8 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 14990	> 3,0 x 10 ⁷ UFC/ml
<i>Streptococcus agalactiae</i> (GBS)	ATCC 12386	9,6 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	ATCC 43078	7,2 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615	5,5 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Vibrio cholerae</i> ^b	CCUG 9118	5,2 x 10 ⁹ copias/μl
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 17802	3,8 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 9610	7,1 x 10 ⁸ UFC/ml
Adenovirus	Tipo 31	3,6 x 10 ⁵ DICT ₅₀ /ml
Adenovirus	Tipo 40	2,8 x 10 ⁷ DICT ₅₀ /ml
Adenovirus	Tipo 41	4,6 x 10 ⁷ DICT ₅₀ /ml

Tabla 8. Especificidad analítica del Xpert Norovirus (continuación)

Microorganismo	ID de la cepa	Concentración
Astrovirus ^d	--	No corresponde ^c
Virus de Coxsackie	Tipo B5	1,4 x 10 ⁵ DICT ₅₀ /ml
Ecovirus	11	3,3 x 10 ⁹ DICT ₅₀ /ml
Parechovirus	Tipo 6	1,9 x 10 ⁷ DICT ₅₀ /ml
Rotavirus	Tipo Wa	1,0 x 10 ⁶ DICT ₅₀ /ml
Sapovirus ^d	--	No corresponde ^e
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	> 3,0 x 10 ⁷ UFC/ml
<i>Blastocystis hominis</i> ^b	BT1	1,0 x 10 ⁹ copias/ml
<i>Cryptosporidium parvum</i> ^b	Iowa	6,1 x 10 ⁹ copias/ml
<i>Giardia lamblia</i> ^b	Portland-1	3,05 x 10 ⁹ copias/ml
<i>Entamoeba histolytica</i> ^b	ATCC 30459D	4,9 x 10 ⁶ copias/ml

a. Bacterias anaerobias estrictas.

b. Analizado como ADN genómico.

c. Se desconoce la concentración de Astrovirus en las muestras clínicas obtenidas del KUL; los valores de Ct según el ensayo del KUL estaban en el intervalo de 12-27.

d. Muestra clínica.

e. Se desconoce la concentración de Sapovirus en las muestras clínicas obtenidas del KUL; los valores de Ct según el ensayo del KUL estaban en el intervalo de 19-23.

21.3 Reactividad analítica (inclusividad)

Se evaluó la reactividad analítica del Xpert Norovirus Assay respecto a 31 genotipos que representaban los dos genogrupos de norovirus (GI y GII). Las 31 cepas de norovirus evaluadas en este estudio se analizaron a una concentración cercana al LD del ensayo (tabla 9). Se analizaron tres réplicas para cada cepa.

Tabla 9. Resultados de reactividad analítica del Xpert Norovirus Assay

Cepa de norovirus	Concentración estimada (copias/ml) ^a	Resultado	
		GI	GII
GI.1	9,0 x 10 ⁶	POS.	NEG.
GI.2	3,7 x 10 ⁸	POS.	NEG.
GI.3	1,4 x 10 ⁶	POS.	NEG.
GI.4	1,0 x 10 ⁵	POS.	NEG.
GI.5 ^b	2,5 x 10 ⁵	POS.	NEG.
GI.6 ^b	2,5 x 10 ⁵	POS.	NEG.
GI.7 ^b	2,5 x 10 ⁵	POS.	NEG.
GI.8	3,7 x 10 ⁵	POS.	NEG.
GI.14	3,0 x 10 ⁶	POS.	NEG.
GII.1	3,6 x 10 ⁶	NEG.	POS.
GII.2	1,1 x 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.3 ^b	1,3 x 10 ³	NEG.	POS.
GII.4 (2006a)	1,2 x 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.4 (2006b)	2,4 x 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.4 (2008)	4,3 x 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.4 (2009) Nueva Orleans	1,7 x 10 ⁵	NEG.	POS.

Tabla 9. Resultados de reactividad analítica del Xpert Norovirus Assay (continuación)

Cepa de norovirus	Concentración estimada (copias/ml) ^a	Resultado	
		GI	GII
GII.4 (2010)	9,6 x 10 ⁴	NEG.	POS.
GII.4 (2012) Sidney	1,2 x 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.5 ^b	1,3 x 10 ³	NEG.	POS.
GII.6 ^b	1,3 x 10 ³	NEG.	POS.
GII.7	8,0 x 10 ⁴	NEG.	POS.
GII.8 ^b	1,3 x 10 ³	NEG.	POS.
GII.9 ^b	1,3 x 10 ³	NEG.	POS.
GII.10 ^b	1,3 x 10 ³	NEG.	POS.
GII.11	2,6 x 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.12	5,7 x 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.13	6,9 x 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.14	1,5 x 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.15	1,7 x 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.16 ^b	1,3 x 10 ³	NEG.	POS.
GII.17 ^b	1,3 x 10 ³	NEG.	POS.

- a. Se notificó el título o la concentración estimados en función del valor de Ct (debido a la dificultad para cultivar partículas de norovirus, no es posible proporcionar una concentración exacta). El valor de Ct obtenido para cada muestra clínica en el estudio de inclusividad se extrapoló al título obtenido en el estudio de LD con muestras de GI y GII bien caracterizadas, utilizando una curva patrón en los CDC.
- b. Se utilizaron transcritos de ARN desnudo para estas cepas, ya que no se disponía de muestras clínicas en el momento del análisis.

21.4 Estudio de sustancias interferentes

Las sustancias potencialmente interferentes que podían estar presentes en las heces se evaluaron directamente en relación al rendimiento del Xpert Norovirus Assay. Las sustancias potencialmente interferentes incluyeron hemoglobina, mucina, colesterol, triglicéridos y sangre completa, más otras sustancias endógenas y exógenas indicadas en la tabla 10.

Se analizaron 8 réplicas de las muestras negativas con cada sustancia en una matriz de heces negativas para determinar el efecto sobre el rendimiento del control de procesamiento de muestras (SPC). Se analizaron 8 réplicas de las muestras positivas con cada sustancia, con un aislado clínico de norovirus GI y otro de norovirus GII cerca del LD.

Todos los resultados se compararon con controles positivos y negativos preparados en una matriz de heces negativa. Todas las muestras de control positivas y negativas se notificaron correctamente con el Xpert Norovirus Assay.

Se observó inhibición del Xpert Norovirus Assay en presencia de cloruro de benzalconio (1 % p/v, 0,2 % p/v y 0,04 % p/v). Se notificaron resultados negativos falsos de la prueba para la diana de norovirus GII con cloruro de benzalconio (1 % p/v). En presencia de sulfato de bario (5 % p/p), se observó un efecto inhibitor estadísticamente significativo en el Ct de norovirus GII en las muestras positivas con relación al control (valor de $p < 0,05$). No se observó ningún efecto significativo sobre el Ct del norovirus GII con relación al control en presencia de sulfato de bario (1 % p/p).

Ninguna otra sustancia potencialmente interferente tuvo efectos inhibidores y no se notificaron resultados negativos falsos con estas sustancias.

Tabla 10. Sustancias potencialmente interferentes en el Xpert Norovirus Assay

Sustancias endógenas		
Sustancia	Descripción/principio activo	Concentración analizada
Ácido esteárico/palmitico (1:1)	Ácidos grasos/ ácido esteárico, ácido palmítico	5 % p/p
Colesterol	Grasa fecal/colesterol	5 % p/v
Hemoglobina	Hemoglobina humana	12,5 % p/v
Mucina	Proteína de mucina purificada	5 % p/v
Sangre completa	Sangre humana completa	10 % v/v
Triglicérido	Mezcla de grasa fecal y triglicérido	5 % p/v
Sustancias exógenas		
Sustancia	Descripción/principio activo	Concentración analizada
Amoxicilina	Antibiótico/amoxicilina	5 % p/v
Ampicilina	Sal de ampicilina sódica	152 µmol/l
Aspartamo	Aspartamo	5 % p/v
CaCO ₃	Carbonato cálcico	5 % p/v
Cloruro de benzalconio Alcohol comercial	Toallitas antisépticas/ cloruro de benzalconio en etanol	1 %, 0,2 %, 0,04 % p/v
Hidrocortisona	Hidrocortisona	50 % p/v
Ibuprofeno	Ibuprofeno	5 % p/v
Imodium	Clorhidrato de loperamida	5 % v/v
Kaopectate	Atapulgita	5 mg/ml
Laxante de aceite mineral Rexall	Aceite mineral	50 % v/v
Metronidazol	Metronidazol	5 % p/v
Mycostatin	Nistatina	50 % p/p
Naprosyn	Naproxeno sódico	2,2 µmol/ml
Novaluzid	Mg(OH) ₂ , Al(OH) ₃ y MgCO ₃	5 % p/v
Paracetamol	Paracetamol	5 % p/v
Pursenid	Glucósidos de senna	5 % p/v
Subsalicilato de bismuto	Salicilato de bismuto (III) (uno de los principios activos del Peptobismol)	1 % p/v
Sulfato de bario	Medio de contraste/sulfato de bario	5 % p/p, 1 % p/p
Sulfato de polimixina B Bacitracina-zinc	Polisporina/sulfato de polimixina B y bacitracina-zinc	50 % p/v

21.5 Estudio de contaminación por arrastre

Se llevó a cabo un estudio para demostrar que los cartuchos GeneXpert autocontenidos de un solo uso evitan la contaminación por arrastre en muestras negativas analizadas después de analizar muestras sumamente positivas en el mismo módulo GeneXpert. El estudio se llevó a cabo procesando una muestra negativa en el mismo módulo GeneXpert inmediatamente después de una muestra sumamente positiva para norovirus GII. El plan de análisis se repitió 21 veces con dos módulos GeneXpert para un total de 42 análisis de 20 muestras positivas y 22 muestras negativas. Diecinueve muestras positivas se notificaron correctamente como **NORO GI NO DETECTADO; NORO GII DETECTADO (NORO GI NOT DETECTED; NORO GII DETECTED)** y una muestra positiva se notificó como **ERROR**. Las 22 muestras negativas se notificaron correctamente como **NORO GI NO DETECTADO; NORO GII NO DETECTADO (NORO GI NOT DETECTED; NORO GII NOT DETECTED)**.

22 Reproducibilidad

Dos técnicos distintos analizaron un grupo de 7 muestras con concentraciones variables de norovirus GI y GII dos veces en cinco días distintos, en cada uno de los tres centros (7 muestras x 2 veces/día x 5 días x 2 técnicos x 3 centros). Se utilizó un lote de cartuchos Xpert Norovirus Assay en cada uno de los 3 centros de análisis. El Xpert Norovirus Assay se llevó a cabo siguiendo el procedimiento del Xpert Norovirus Assay. Los resultados se resumen en la tabla 11.

Tabla 11. Resumen de los resultados de reproducibilidad

Id. muestra	Centro 1	Centro 2	Centro 3	Global
Neg.	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
GI - Neg. alto	30,0 % (6/20)	15,0 % (3/20)	30,0 % (6/20)	25,0 % (15/60)
GI - Pos. bajo	100 % (20/20)	85,0 % (17/20)	95,0 % (19/20)	93,3 % (56/60)
GI - Pos. mod.	100 % (19/19)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (59/59) ^a
GII - Neg. alto	25,0 % (5/20)	30,0 % (6/20)	35,0 % (7/20)	30,0 % (18/60)
GII - Pos. bajo	100 % (20/20)	95,0 % (19/20)	90,0 % (18/20)	95,0 % (57/60)
GII - Pos. mod.	95,0 % (19/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	98,3 % (59/60)

a. Una muestra ambigua 2x

La reproducibilidad del Xpert Norovirus Assay se evaluó también en términos de la señal fluorescente expresada en valores de Ct para cada diana detectada. La media, la desviación estándar (SD) y el coeficiente de variación (CV) entre centros, entre días y entre técnicos para cada miembro del grupo de muestras se muestran en la tabla 12.

Tabla 12. Resumen de los datos de reproducibilidad

Muestra	Canal del ensayo (analito)	N ^a	Ct medio	Entre centros		Entre días		Entre usuarios		Intraensayo		Total	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Neg.	SPC	60	31,9	0,17	0,5	0,06	0,2	0,06	0,2	0,26	0,8	0,32	1,0
GI - Neg. alto	GI	60	39,4	0	0	0,46	1,2	0	0	1,80	4,6	1,86	4,7
GI - Pos. bajo	GI	59	37,9	0,29	0,8	0	0	0,36	1,0	1,03	2,7	1,13	3,0
GI - Pos. mod. ^b	GI	57	34,7	0,09	0,2	0,07	0,2	0	0	0,41	1,2	1,01	1,2
GII - Neg. alto	GII	54	38,9	0	0	0	0	0,77	2,0	1,77	4,5	1,93	5,0
GII - Pos. bajo	GII	60	37,3	0	0	0	0	0,58	1,6	1,33	3,6	1,45	3,9
GII - Pos. mod. ^b	GII	59	34,3	0,22	0,6	0	0	0	0	0,45	1,3	0,50	1,5

a. Resultados (de 60) con valores de Ct distintos a cero

b. n=3 muestras atípicas (2 GI pos. mod. y 1 GII pos. mod.) que estaban a más de 5 desviaciones estándar de la media se consideraron muestras atípicas y se eliminaron del análisis.

23 Precisión del sistema del instrumento

Se realizó un estudio de precisión interno para comparar el rendimiento de los sistemas de instrumentos GeneXpert Dx y GeneXpert Infinity. Dos técnicos analizaron un grupo de 7 muestras con distintas concentraciones de norovirus GI y norovirus GII en 12 días diferentes. Cada técnico llevó a cabo cuatro análisis de cada muestra del grupo por día en cada uno de los dos sistemas de instrumentos (7 muestras x 4 veces/día x 12 días x 2 técnicos x 2 sistemas de instrumentos). Se utilizaron tres lotes de cartuchos del Xpert Norovirus Assay para este estudio. El Xpert Norovirus Assay se llevó a cabo siguiendo el procedimiento del Xpert Norovirus. Los resultados se resumen en la tabla 13.

Tabla 13. Resumen de los resultados de precisión de los sistemas de instrumentos (Dx frente a Infinity)

Muestra	GeneXpert Dx			Infinity			% de concordancia total por muestra
	Op 1	Op 2	Inst	Op 1	Op 2	Inst	
Neg.	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
GI - Neg. alto	14,6 % (7/48)	10,4 % (5/48)	12,5 % (12/96)	14,6 % (7/48)	25,0 % (12/48)	19,8 % (19/96)	16,2 % (31/192)
GI - Pos. bajo	100 % (48/48)	97,9 % (47/48)	99,0 % (95/96)	97,9 % (47/48)	97,9 % (47/48)	97,9 % (94/96)	98,4 % (189/192)
GI - Pos. mod.	100 % ^a (47/47)	100 % (48/48)	100 % (95/95)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (191/191)
GII - Neg. alto	25,0 % (12/48)	29,2 % (14/48)	27,1 % (26/96)	29,2 % (14/48)	31,3 % (15/48)	30,2 % (29/96)	28,7 % (55/192)
GII - Pos. bajo	89,6 % (43/48)	89,6 % (43/48)	89,6 % (86/96)	83,3 % (40/48)	95,7 % (44/46)	87,5 % (84/96)	88,5 % (170/192)
GII - Pos. mod.	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (48/48)	100 % ^b (47/47)	100 % (95/95)	100 % (191/191)

a. Una muestra GI pos. mod. no se analizó

b. Una muestra GII pos. mod. produjo resultados ambiguos y no se volvió a analizar.

La precisión del ensayo Xpert Norovirus Assay también se evaluó en términos de la señal fluorescente expresada en valores de Ct para cada diana detectada. La media, la desviación estándar (SD) y el coeficiente de variación (CV) entre instrumentos, entre lotes, entre días, entre técnicos e intraensayo para cada miembro del grupo de muestras se indican en la tabla 14.

Tabla 14. Resumen de los datos de precisión

Muestra	Canal del ensayo (analito)	N ^a	Ct medio	Entre instrumentos		Entre lotes		Entre días		Entre usuarios		Intraensayo		Total	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Neg.	SFC	192	31,8	0	0	0,44	1,4	0	0	0,08	0,2	0,39	1,2	0,59	1,9
GI - Neg. alto	GI	188	38,6	0,19	0,5	0,25	0,7	0,18	0,5	0	0	1,40	3,6	1,45	3,8
GI - Pos. bajo	GI	192	37,1	0,39	1,1	0,26	0,7	0,19	0,5	0	0	0,95	2,6	1,08	2,9
GI - Pos. mod.	GI	191	34,0	0	0	0,36	1,1	0,04	0,1	0,08	0,2	0,38	1,1	0,53	1,6
GII - Neg. alto	GII	178	38,7	0,16	0,4	0	0	0,29	0,7	0	0	2,03	5,3	2,06	5,3
GII - Pos. bajo	GII	187	37,6	0,10	0,2	0	0	0	0	0,45	1,2	1,65	4,4	1,71	4,6
GII - Pos. mod.	GII	191	34,3	0	0	0,09	0,2	0	0	0,17	0,5	0,42	1,2	0,46	1,3

a. Resultados (de 192) con valores de Ct distintos de cero.

24 Bibliografía

1. Kapikian AZ, et al. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol* 1972;10(5):1075-1081.
2. Mead PS, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis.* 1999;5(5):607-625.
3. Kaplan JE, et al. An outbreak of acute nonbacterial gastroenteritis in a nursing home: demonstration of person-to-person transmission by temporal clustering of cases. *Am J Epidemiol* 1982; 116(6):940-948.
4. Johnston CP, et al. Outbreak management and implications of a nosocomial Norovirus outbreak. *Clin Infect Dis.* 2007; 45(5):534-540.
5. Corwin AL, et al. Shipboard impact of a probable Norwalk virus outbreak from coastal Japan. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61(6):898-903.
6. Leshem E, et al. Effects and Clinical Significance of GII.4 Sydney Norovirus, United States, 2012-2013. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(8):1231-1238.
7. Straub TM, et al. *In vitro* cell culture infectivity assay for human noroviruses. *Emerg Inf Dis.* 2007; 13(3): 396-403.
8. CDC. Updated Norovirus Outbreak Management and Disease Prevention Guidelines. *MMWR Recomm Rep.* 2011; 60(No. RR-3):1-15.
9. Okitsu-Negishi S, et al. Detection of norovirus antigens from recombinant virus-like particles and stool samples by a commercial norovirus enzyme-linked immunosorbent assay kit. *J Clin Microbiol* 2006;44(10):3784-3786.
10. Burton-MacLeod JA, et al. Evaluation and comparison of two commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits for detection of antigenically diverse human noroviruses in stool samples. *J Clin Microbiol* 2004;42(6):2587-2595.
11. Dimitriadis A, et al. Evaluation of a commercial enzyme immunoassay for detection of norovirus in outbreak specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005;24(9):615-618.
12. Richards AF, et al. Evaluation of a commercial ELISA for detecting Norwalk-like virus antigen in faeces. *J Clin Virol* 2003;26(1):109-115.
13. Morillo SG, et al. Norovirus 3rd generation kit: an improvement for rapid diagnosis of sporadic gastroenteritis cases and valuable for outbreak detection. *J Virol Methods* 2011;173(1):13-16.
14. Wilhelmi de Cal I, et al. Evaluation of two commercial enzyme immunoassays for the detection of norovirus in faecal samples from hospitalised children with sporadic acute gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect* 2007;13(3):341-343.
15. Costantini V, et al. Diagnostic accuracy and analytical sensitivity of IDEIA Norovirus assay for routine screening of human norovirus. *J Clin Microbiol* 2010;48(8):2770-2778.
16. MacCannell T, et al. Guideline for the prevention and control of Norovirus Gastroenteritis outbreaks in healthcare settings. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011; 32(10):939-969.
17. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories (refer to latest edition, available at <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>).
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition, available at <http://shopping.netsuite.com/clsi>). CLSI, Wayne, PA.
19. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
20. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

25 Oficinas centrales de Cepheid

Sede central corporativa	Sede central europea
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089 EE. UU.	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont France
Teléfono: + 1 408 541 4191	Teléfono: + 33 563 825 300
Fax: + 1 408 541 4192	Fax: + 33 563 825 301
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com

26 Asistencia técnica
















Antes de ponerse en contacto con el servicio técnico de Cepheid, reúna la información siguiente:

- Nombre del producto
- Número de lote
- Número de serie del instrumento
- Mensajes de error (si los hubiera)
- Versión de software y, si corresponde, «Service Tag» (número de servicio técnico).

Región	Teléfono	Correo electrónico
EE. UU.	+ 1 888 838 3222	techsupport@cepheid.com
Australia y Nueva Zelanda	+ 1800 130 821 + 0800 001 028	techsupportANZ@cepheid.com
Bélgica, Países Bajos y Luxemburgo	+ 33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Brasil y Latinoamérica	+ 55 11 3524 8373	latamsupport@cepheid.com
China	+ 86 021 5406 5387	techsupportchina@cepheid.com
Francia	+ 33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Alemania	+ 49 69 710 480 480	support@cepheideurope.com
India, Bangladesh, Bután, Nepal y Sri Lanka	+ 91 11 48353010	techsupportindia@cepheid.com
Italia	+ 39 800 902 567	support@cepheideurope.com
Portugal	+ 351 800 913 174	support@cepheideurope.com
España	+ 34 919 90 67 62	support@cepheideurope.com
Sudáfrica	+ 27 861 22 76 35	support@cepheideurope.com
Reino Unido	+ 44 3303 332 533	support@cepheideurope.com
Otros países europeos, de Oriente Próximo y africanos	+ 33 563 825 319 + 971 4 253 3218	support@cepheideurope.com
Otros países no indicados anteriormente	+ 1 408 400 8495	techsupport@cepheid.com

La información de contacto de otras oficinas de Cepheid está disponible en nuestros sitios web www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com, en la pestaña **ASISTENCIA (SUPPORT)**. Seleccione la opción **Ponerse en contacto con nosotros (Contact Us)**.

27 Tabla de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	No volver a utilizar
	Código de lote
	Consulte las instrucciones de uso
	Precaución
	Fabricante
	País de fabricación
	Contiene una cantidad suficiente para <n> pruebas
	Control
	Fecha de caducidad
	Límites de temperatura
	Riesgos biológicos
	Advertencia
	Para uso exclusivo con receta



Cepheid
 904 Caribbean Drive
 Sunnyvale, CA 94089
 USA

