

# Xpert<sup>®</sup> vanA

**REF** GXVANA-10

Instrucciones de uso

**IVD** **R**<sub>only</sub>

## **Declaraciones sobre marcas comerciales, patentes y copyright**

### Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, and Xpert® are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

The purchase of this product includes a limited, non-transferable license under U.S. Patent No. 7,449,289 (and its international counterparts), owned by GeneOhm Sciences Canada, Inc (a subsidiary of Becton, Dickinson and Company), to use such product for human IVD use with a GeneXpert® instrument. No right under U.S. Patent No. 7,449,289 is conveyed, expressly, by implication, or by estoppel, to use this product for any other purpose.

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

© 2012-2024 Cepheid.

Cepheid®, el logotipo de Cepheid, GeneXpert® y Xpert® son marcas comerciales de Cepheid, registradas en los EE. UU. y otros países.

Las restantes marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO OTORGA AL COMPRADOR EL DERECHO INTRANSFERIBLE DE UTILIZARLO SEGÚN ESTAS INSTRUCCIONES DE USO. NO SE OTORGA NINGÚN OTRO DERECHO DE FORMA EXPRESA, IMPLÍCITA O POR IMPEDIMENTO LEGAL. LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO TAMPOCO OTORGA NINGÚN DERECHO DE REVENTA.

© 2011–2024 Cepheid.

Consulte el apartado 29 Historial de revisiones para ver la descripción de los cambios.

For Information Only - Not a Controlled Copy

# Xpert<sup>®</sup> vanA

Solo para uso diagnóstico *in vitro*



## 1 Nombre patentado

Xpert<sup>®</sup> vanA

## 2 Denominación común o habitual

Prueba Xpert vanA

## 3 Indicaciones

La prueba Cepheid Xpert vanA realizada en el sistema GeneXpert<sup>®</sup> Dx es una prueba de diagnóstico cualitativa *in vitro*, diseñada para la detección rápida de la secuencia del gen *vanA* asociada a la resistencia a la vancomicina en bacterias obtenidas de muestras de hisopos rectales de pacientes con riesgo de colonización intestinal por bacterias resistentes a la vancomicina. La prueba utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real automatizada para detectar el gen *vanA* que se asocia con frecuencia a los enterococos resistentes a la vancomicina (ERV). La prueba Xpert vanA está indicada para facilitar la identificación, la prevención y el control de los microorganismos resistentes a la vancomicina que colonizan a pacientes en entornos sanitarios. La prueba Xpert vanA no está concebida para utilizarse para diagnosticar infecciones causadas por bacterias resistentes a la vancomicina, ni para guiar o monitorizar el tratamiento de infecciones bacterianas resistentes a la vancomicina. Es necesario realizar cultivos concomitantes a fin de recuperar microorganismos para la identificación de las bacterias resistentes a la vancomicina, para las pruebas de sensibilidad antimicrobiana y para la tipificación epidemiológica.

## 4 Resumen y explicación

Los enterococos son bacterias aerobias facultativas grampositivas, presentes en la flora intestinal humana. Dos de las especies más frecuentes son *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) y *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*).<sup>1</sup> Se calcula que los enterococos representan más de un tercio de todas las infecciones en la UCI.<sup>2</sup> Los enterococos resistentes a la vancomicina (ERV) se han convertido en una causa importante de infecciones hospitalarias, en particular en las unidades de trasplantes y en la UCI.<sup>3</sup> Al igual que el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), las infecciones por ERV se han asociado a una mayor morbilidad, mortalidad, estancia hospitalaria y costes hospitalarios. Datos recientes de la red nacional de seguridad sanitaria (National Healthcare Safety) muestran que el número de infecciones por ERV relacionadas con dispositivos es igual al número de infecciones por SARM relacionadas con dispositivos.<sup>4</sup>

Los primeros aislados de enterococos resistentes al glicopéptido vancomicina se notificaron simultáneamente en Francia y el Reino Unido a finales de la década de 1980. Desde entonces, el número de aislados resistentes ha aumentado de forma constante.<sup>5</sup> En la actualidad se conocen seis genes diferentes que median la resistencia a la vancomicina: *vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE* y *vanG*, aunque también se han identificado subtipos de *vanB* and *vanD*.<sup>6</sup> Los dos genes con mayor importancia clínica son *vanA* (que confiere resistencia de alto nivel a la teicoplanina y la vancomicina) y *vanB* (que confiere resistencia de nivel moderado a alto a la vancomicina, y resistencia ocasional a la teicoplanina). Mientras que el determinante *vanA* se ha identificado en nueve aislados estadounidenses de *Staphylococcus aureus*<sup>7</sup> y especies raras de estreptococos, el gen *vanB* parece estar distribuido de forma más amplia entre distintas especies intestinales aerobias.<sup>8-13</sup> Así, aunque la probabilidad de recuperar enterococos que contengan *vanA* en una muestra de heces positiva para *vanA* sigue siendo alta según los estudios publicados,<sup>14</sup> el valor predictivo de recuperar enterococos que contengan *vanB* en muestras de heces positivas para *vanB*

por PCR es mucho menor. Esto sugiere que el uso de una prueba de PCR para *vanB* en la población estadounidense, en la que la prevalencia de enterococos que contengan *vanB* es baja, puede ocasionar el aislamiento innecesario de pacientes identificados incorrectamente como portadores de ERV por un ensayo de *vanB*.

Las personas sensibles adquieren habitualmente la colonización por ERV en un entorno en el que hay una proporción elevada de otros pacientes colonizados o infectados por ERV (como unidades de cuidados intensivos, unidades de oncología, etc.). El que la colonización derive o no en infección depende de las características de virulencia del microorganismo y del estado de salud de la persona. Los pacientes inmunocompetentes tienen un menor riesgo de infección que las personas con un sistema inmunitario debilitado; no obstante, ambos grupos pueden desarrollar una infección tras la colonización.<sup>1</sup>

El riesgo de colonización por ERV se ha atribuido al uso de múltiples clases de antibióticos, incluidos glicopéptidos, cefalosporinas de tercera generación, combinaciones de inhibidores betalactámicos/betalactamasa y antibióticos con potente actividad antianaerobia.<sup>15</sup> La propagación de los ERV se produce por contacto con personas colonizadas o infectadas, habitualmente en un centro sanitario, aunque también se ha descrito la transmisión en residencias de ancianos. Por lo anterior, muchos centros, incluidos hospitales pediátricos<sup>16</sup>, están implementando programas de vigilancia activa para identificar a los portadores de ERV y aislarlos adecuadamente para reducir la transmisión del microorganismo.<sup>17</sup> Como parte de los programas de cribado de la vigilancia activa, se obtienen hisopos rectales o perirectales de los pacientes en el momento del ingreso, una vez por semana, después de un tratamiento antibiótico y en el momento del alta, y se analizan para detectar ERV.<sup>18</sup>

Los programas de vigilancia activa, en combinación con medidas de control de la infección como lavarse las manos y precauciones de contacto de los pacientes, son componentes importantes para prevenir la transmisión de ERV.<sup>16,17</sup> El uso de pruebas que proporcionan resultados rápidos para identificar a los pacientes portadores de ERV es también un factor importante para el control y la prevención eficaces de brotes hospitalarios de ERV.<sup>14</sup>

## 5 Principio del procedimiento

El sistema GeneXpert Dx automatiza e integra la purificación de muestras, la amplificación de ácidos nucleicos y la detección de la secuencia diana en muestras simples y complejas mediante pruebas de PCR y RT-PCR en tiempo real. El sistema está formado por un instrumento, ordenador personal y software precargado para realizar las pruebas y ver los resultados. El sistema requiere el uso de cartuchos desechables de un solo uso que contengan los reactivos para la PCR y alojen el proceso de la PCR. Dado que los cartuchos son independientes, se elimina el riesgo de contaminación cruzada entre las muestras. Para obtener una descripción completa del sistema, consulte el *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

La prueba Xpert *vanA* incluye reactivos para la detección del gen de resistencia a *vanA*, así como un control de procesamiento de muestras (sample processing control, SPC) interno para controlar el procesamiento adecuado de las bacterias diana y monitorizar la presencia de inhibidores en la prueba de PCR. El SPC también garantiza que las condiciones (temperatura y tiempo) de la PCR sean adecuadas para la reacción de amplificación y que los reactivos para la PCR funcionen correctamente. El control de comprobación de la sonda (PCC) comprueba la rehidratación de los reactivos, el llenado del tubo de PCR en el cartucho, la integridad de las sondas y la estabilidad del colorante.

La prueba Cepheid Xpert *vanA* es una prueba diagnóstica *in vitro*, automatizada y rápida, para la detección cualitativa de secuencias del gen de resistencia a vancomicina *vanA* directamente en muestras de hisopos rectales. La prueba Xpert *vanA* en el sistema Cepheid GeneXpert Dx lleva a cabo una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) multiplex en tiempo real para la detección de ADN después de un paso de procesamiento inicial de la muestra.

## 6 Reactivos

### 6.1 Materiales suministrados

El kit de Xpert *vanA* contiene reactivos suficientes para procesar 10 muestras de pacientes o de control de calidad.

El kit contiene lo siguiente:

|  |                        |
|--|------------------------|
| <b>Cartuchos de Xpert <i>vanA</i> con tubos de reacción integrados</b> | <b>10</b>              |
| • Microesfera 1, 2 y 3 (liofilizada)                                   | 1 de cada por cartucho |
| • Reactivo 1   | 3,0 ml por cartucho    |
| • Reactivo 2 (hidróxido sódico)  | 3,0 ml por cartucho    |

|   |                  |
|---|------------------|
| <b>Reactivo para muestras Xpert vanA</b>  | <b>10</b>        |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Reactivo para muestras</li> </ul>  | 1 x 1,7 ml       |
| <b>CD</b>   | <b>1 por kit</b> |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Archivo de definición del ensayo (Assay Definition File, ADF)</li> <li>• Instrucciones para importar el ADF en el software GX</li> <li>• Instrucciones de uso (prospecto)</li> </ul> |                  |

**Nota** Las fichas de datos de seguridad (SDS, Safety Data Sheets) están disponibles en [www.cephheid.com](http://www.cephheid.com) o en [www.cephheidinternational.com](http://www.cephheidinternational.com) en la ficha **ASISTENCIA (SUPPORT)**.

**Nota** El estabilizador de proteínas de 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 las pruebas ante y post mórtem. Durante el procesamiento, no hubo mezcla del material con otros materiales de origen animal.

## 6.2 Conservación y manipulación

- Almacene los cartuchos y los reactivos Xpert vanA a una temperatura de 2–28 °C.
- No utilice los reactivos para muestras ni los cartuchos después de la fecha de caducidad indicada.
- No utilice ningún reactivo para muestras que presente turbidez o un cambio de color.

## 7 Materiales requeridos pero no suministrados

- Sistema GeneXpert Dx (el número de catálogo varía según la configuración): Instrumento GeneXpert, ordenador, lápiz lector de códigos de barras y manual del operador.
  - Para el sistema GeneXpert Dx: Software GeneXpert Dx versión 2.1 o posterior
- Impresora: Si se requiere una impresora, póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de Cepheid para organizar la compra de una impresora recomendada.
- Agitadora vorticial
- Pipetas de transferencia estériles desechables
- Dispositivo de recogida de muestras de Cepheid 900-0370 (sistema de transporte de cultivos con dos hisopos Copan Venturi Transystem®) (139CFM LQ STUART)

## 8 Materiales disponibles pero no suministrados

Gibson Laboratories, LLC, n.º de catálogo CeVRE-01 (Enterococcus faecium resistente a la vancomicina, vanA) como control positivo y n.º de catálogo CeVRE-02 (Enterococcus faecalis sensible a la vancomicina) como control negativo.


Además, pueden obtenerse cepas para los estudios de validación del ATCC y de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, División de Promoción de la Calidad Sanitaria (Centers for Disease Control and Prevention, Division of Healthcare Quality Promotion).

## 9 Advertencias y precauciones

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Para uso exclusivo con receta.
- Trate todas las muestras biológicas, incluidos los cartuchos usados, como agentes capaces de transmitir agentes infecciosos. 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 Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention)<sup>19</sup> y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute, anteriormente denominado National Committee for Clinical Laboratory Standards) de Estados Unidos.<sup>20</sup>

- Siga los procedimientos de seguridad de su centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- La prueba Xpert vanA no proporciona resultados de sensibilidad. Se requiere una alícuota independiente de la muestra y tiempo adicional para realizar el cultivo y las pruebas de sensibilidad.
- No sustituya los reactivos para muestras Xpert vanA por otros.
- No abra la tapa del cartucho Xpert vanA excepto cuando vaya a añadir la muestra o a repetir la prueba.
- No utilice cartuchos que se hayan caído o agitado después de haber añadido la muestra.
- No utilice cartuchos con tubos de reacción dañados (p. ej., doblados o rotos).
- Cada cartucho de un solo uso de la prueba Xpert vanA se utiliza para procesar una sola prueba. No vuelva a utilizar los cartuchos usados.
- 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 el procedimiento medioambiental 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 utilizados deben desecharse de conformidad con las directrices de la OMS (Organización Mundial de la Salud) sobre manipulación y eliminación de residuos médicos.
- Almacene el kit Xpert vanA a una temperatura de 2-28 °C.
- El reactivo 2 contiene hidróxido sódico (pH > 12,5); (H302, H315, H319), que se considera corrosivo para los ojos y la piel, y requiere el uso de protección ocular y cutánea.

## 10 Peligros químicos<sup>21, 22</sup>

- Pictograma de peligro del SGA de la ONU: 
- Palabra de advertencia: ADVERTENCIA
- **Declaraciones de peligro del SGA de la ONU**
  - Nocivo en caso de ingestión
  - Provoca irritación cutánea.
  - Provoca irritación ocular grave.
- **Declaraciones de precaución del SGA de la ONU**
  - **Prevención**
    - Lavarse concienzudamente tras la manipulación.
    - No comer, beber ni fumar cuando se utilice este producto.
    - Evitar su liberación al medio ambiente.
    - Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección
  - **Respuesta**
    - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.
    - Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
    - Se necesita un tratamiento específico; consulte la información adicional de medidas de primeros auxilios.
    - 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
    - EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar.
    - Enjuagarse la boca.
  - **Almacenamiento/eliminación**
    - Eliminar el contenido o el recipiente en conformidad con los reglamentos locales, regionales, nacionales e internacionales.

## 11 Recogida, transporte y conservación de las muestras

Las muestras de hisopos rectales pueden recogerse con el dispositivo de recogida de muestras de Cepheid (REF 900-0370 o equivalente) siguiendo los procedimientos habituales del centro del usuario. Los hisopos de muestras se colocan de nuevo en el tubo de transporte de plástico (se recomienda utilizar medio Stuarts líquido y el dispositivo de recogida de Cepheid o de Copan), y se envían a la zona de pruebas del GeneXpert para procesarlos. La muestra de hisopo puede conservarse durante 24 horas a temperatura ambiente o hasta 5 días a 2-8 °C antes de analizarla. Las muestras pueden analizarse después de un ciclo de congelación y descongelación.

## 12 Procedimiento

### 12.1 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 (Xpert vanA):

1. Extraiga el cartucho y el reactivo para muestras del envase.
2. Retire un hisopo del recipiente de transporte.

**Nota** Solo se requiere un hisopo.

3. Introduzca el hisopo en el tubo que contiene el reactivo para muestras.

**Nota** Utilice una gasa estéril para reducir al mínimo los riesgos de contaminación.

4. Sujete el hisopo por el vástago cerca del borde del tubo, levante el hisopo unos milímetros del fondo del tubo y presione el vástago contra el borde del tubo para romperlo. Asegúrese de que el hisopo sea lo suficiente corto para que la tapa pueda cerrarse bien.
5. Cierre la tapa y agite en la agitadora vorticial a alta velocidad durante 10 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 Xpert vanA.
7. Cierre la tapa del cartucho.

### 12.2 Inicio de la prueba

**Antes de comenzar la prueba, asegúrese de que:**

- Importante**
- El sistema está ejecutando la versión correcta del software GeneXpert Dx que se muestra en la sección Materiales requeridos pero no suministrados.
  - Se ha importado al software el archivo de definición del ensayo correcto.

Este apartado describe los pasos básicos para realizar la prueba. Para obtener instrucciones detalladas, consulte la *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

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

1. Encienda el GeneXpert Dx System y, a continuación, encienda el ordenador e inicie sesión. El software GeneXpert se iniciará automáticamente. Si no lo hace, haga doble clic en el icono de acceso rápido al software GeneXpert Dx en el escritorio de Windows®.
2. Inicie una sesión con su nombre de usuario y contraseña.
3. En la ventana del **sistema GeneXpert**, haga clic en **Crear prueba (Create Test)**. Aparece la pantalla **Crear prueba (Create Test)**. Se abre el cuadro de diálogo **Escanear código de barras de Id. del paciente (Scan Patient ID barcode)**.
4. Escanee o escriba la Id. paciente (Patient ID). Si escribe la Id. paciente (Patient ID), asegúrese de escribirla correctamente.

La Id. paciente (Patient ID) se asocia a los resultados de la prueba, y se muestra en la ventana **Ver resultados (View Results)** y en todos los informes. Se abre el cuadro de diálogo **Escanear código de barras de Id. de la muestra (Scan Sample ID barcode)**.

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 asocia a los resultados de la prueba, y se muestra en la ventana **Ver resultados (View Results)** y en todos los informes. Se abre el cuadro de diálogo **Escanear código de barras de cartucho (Scan Cartridge Barcode)**.

6. Escanee el código de barras del cartucho. 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° de serie del cartucho (Cartridge S/N) y Fecha de caducidad (Expiration Date).

#### Nota

Si el código de barras del cartucho no se escanea, repita la prueba con un cartucho nuevo. Si ha escaneado el código de barras del cartucho en el software y el archivo de definición del ensayo no está disponible, aparece una pantalla que indica que el archivo de definición del ensayo no está cargado en el sistema. Si aparece esta pantalla, póngase en contacto con el servicio técnico de Cepheid.

7. Haga clic en **Iniciar prueba (Start Test)**. En el cuadro de diálogo que aparece, introduzca su contraseña, si es necesario.
8. Abra la puerta del módulo del instrumento que tiene la luz verde intermitente y cargue el cartucho.
9. Cierre la puerta. La prueba se inicia y la luz verde deja de parpadear.  
Una vez finalizada la prueba, la luz se apaga.
10. Espere hasta que el sistema desbloquee la puerta del módulo antes de abrirla y retire el cartucho.
11. Elimine los cartuchos usados en los recipientes de residuos de muestras adecuados de acuerdo con las prácticas habituales de su institución.

## 13 Visualización e impresión de los resultados

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

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.

## 14 Control de calidad

### 14.1 Controles de calidad integrados

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):** Garantiza que la muestra se ha procesado correctamente. El SPC que se incluye en cada cartucho verifica el procesamiento adecuado de las bacterias de la muestra. El SPC confirma que se ha producido la lisis de las bacterias resistentes a la vancomicina si los microorganismos están presentes, y verifica que el procesamiento de la muestra es adecuado. Además, este control detecta la inhibición asociada a la muestra de la prueba de PCR en tiempo real. 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 sistema GeneXpert Dx mide la señal de fluorescencia de las sondas para monitorizar 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.

**Controles externos:** se pueden utilizar controles externos de acuerdo con los requisitos de las organizaciones de acreditación locales, regionales y nacionales, según corresponda.

Fuentes de controles externos:



- Microbiologics®, n.º de catálogo 0366 (*Enterococcus faecalis* sensible a la vancomicina)
- Universidad de Göteborg (Culture Collection of Göteborg) CCUG36804 (*Enterococcus faecium* resistente a la vancomicina, *vanA*)
- Gibson Laboratories, LLC, n.º de catálogo CeVRE-01 (*Enterococcus faecium* resistente a la vancomicina, *vanA*) y n.º de catálogo CeVRE-02 (*Enterococcus faecalis* sensible a la vancomicina)

For Information Only - Not a Controlled Copy

## 15 Interpretación de los resultados

El sistema GeneXpert interpola los resultados a partir de las señales fluorescentes medidas y los algoritmos de cálculo incorporados, y los muestra en la ventana Ver resultados (View Results) (Figura 1, Figura 2 y Figura 3). Los resultados posibles son:

Tabla 1. Resultados e interpretación

| Resultado                              | Interpretación   |
|--|--|
| <b>POSITIVO (POSITIVE)</b><br>Figura 1 | Se detecta ADN diana de <i>vanA</i> . <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>vanA</i> POSITIVO (POSITIVE); la diana de <i>vanA</i> tiene un Ct dentro del rango válido y un criterio de valoración por encima del valor mínimo configurado.</li> <li>• SPC—N/A (no aplicable) [NA (not applicable)]; el SPC se omite, ya que la amplificación de <i>vanA</i> podría competir con este control.</li> <li>• Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.</li> </ul>   |
| <b>NEGATIVO (NEGATIVE)</b><br>Figura 2 | No se detecta ADN diana de <i>vanA</i> . El SPC satisface los criterios de aceptación. <ul style="list-style-type: none"> <li>• NEGATIVO (NEGATIVE); no se detecta ADN diana de <i>vanA</i>.</li> <li>• SPC—SUPERADO (PASS); el SPC tiene un valor Ct dentro del rango válido y un criterio de valoración por encima del valor mínimo configurado.</li> <li>• Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.</li> </ul>  |
| <b>NO VÁLIDO (INVALID)</b><br>Figura 3 | No puede determinarse la presencia o ausencia de <i>vanA</i> ; repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del apartado Procedimiento de repetición de la prueba siguiente. El SPC no satisface los criterios de aceptación, la muestra no se procesó correctamente o la PCR se ha inhibido. <ul style="list-style-type: none"> <li>• NO VÁLIDO (INVALID); no puede determinarse la presencia o ausencia de ADN de <i>vanA</i>.</li> <li>• SPC—NO SUPERADO (FAIL); los resultados de las dianas de <i>vanA</i> son negativos, el valor Ct del SPC no está dentro del rango válido y el criterio de valoración del SPC está por debajo del valor mínimo configurado.</li> <li>• Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.</li> </ul> |

| Resultado                        | Interpretación  |
|----------------------------------|---|
| <b>ERROR</b>                     | <p>No puede determinarse la presencia o ausencia de <i>vanA</i>; repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del apartado Procedimiento de repetición de la prueba siguiente. El control de comprobación de la sonda falló, probablemente debido a que el tubo de reacción no se llenó bien, a que se detectó un problema con la integridad de las sondas o a que se excedieron los límites máximos de presión.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>vanA</i>—SIN RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>• SPC—SIN RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>• Comprobación de la sonda—NO SUPERADO (FAIL); todos o uno de los resultados de la comprobación de la sonda no han superado la comprobación</li> <li>• *Si la comprobación de la sonda se superó, el error se debe a un fallo en los componentes del sistema.</li> </ul> |
| <b>SIN RESULTADO (NO RESULT)</b> | <p>No puede determinarse la presencia o ausencia de <i>vanA</i>; repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del apartado Procedimiento de repetición de la prueba siguiente. No se obtuvieron suficientes datos para producir un resultado de la prueba (por ejemplo, si el usuario detuvo una prueba que estaba en curso).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>vanA</i>—SIN RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>• SPC—SIN RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>• Comprobación de la sonda—N/A (no aplicable) [NA (not applicable)]</li> </ul>  |

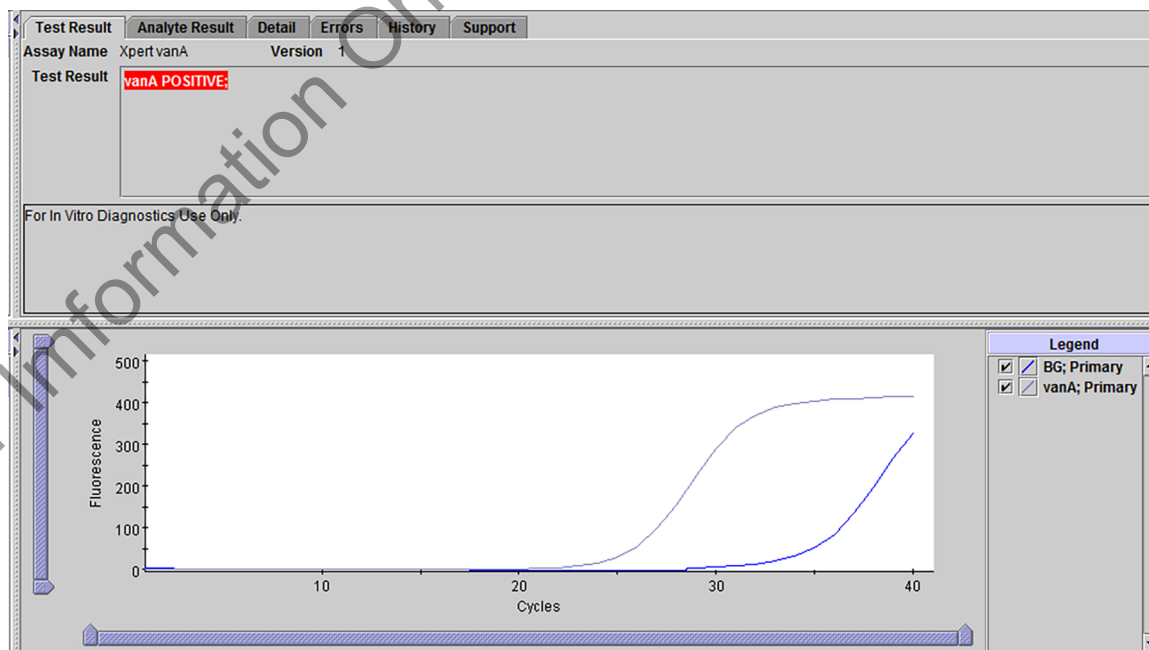


Figura 1. Ejemplo de un resultado vanA positivo

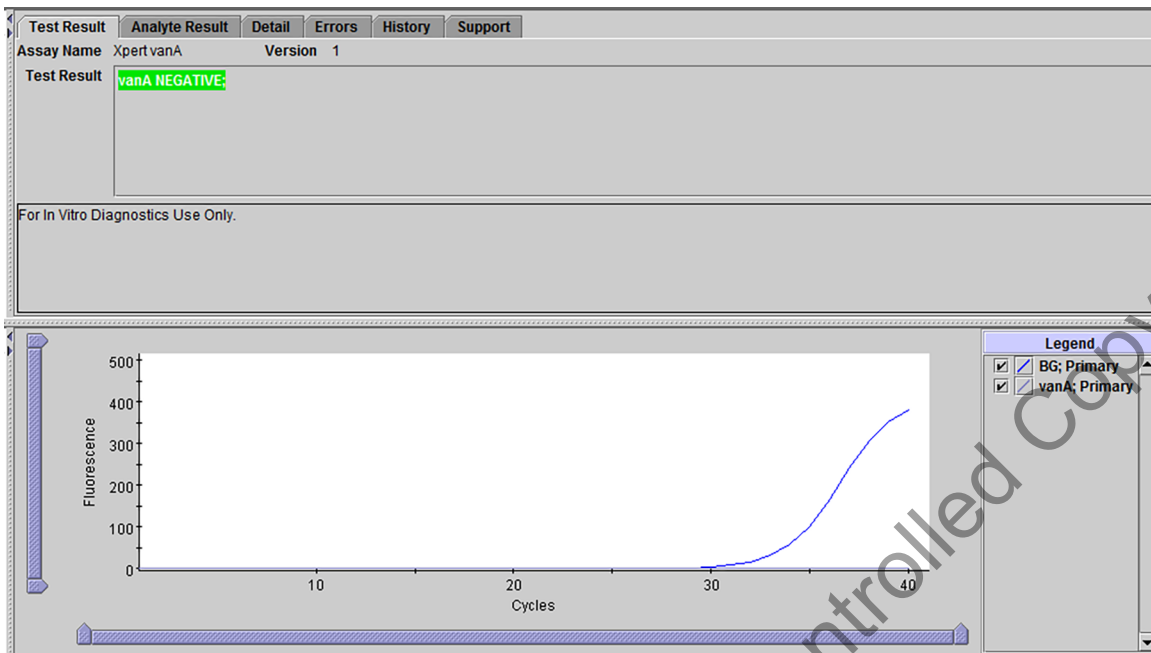


Figura 2. Ejemplo de un resultado vanA negativo

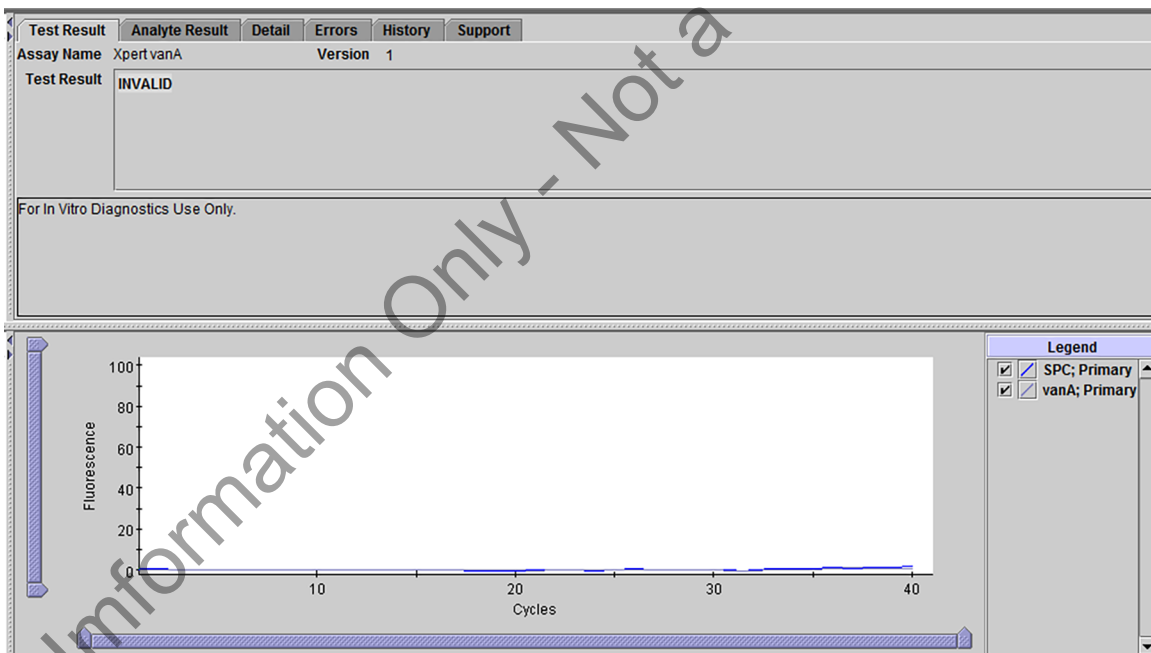


Figura 3. Ejemplo de un resultado no válido

## 16 Repetición de pruebas

### 16.1 Razones para repetir la prueba

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 siguiente, titulado Apartado 16.2.

Un resultado **NO VÁLIDO (INVALID)** indica que el SPC de los controles no superó la comprobación. La muestra no se procesó correctamente o la PCR se inhibió.

Un resultado de **ERROR** indica que el control de comprobación de la sonda no superó la comprobación y que la prueba se interrumpió, debido posiblemente a que el tubo de reacción no se llenó correctamente, a que se detectó un problema de integridad de la sonda de reactivo o a que se excedieron los límites máximos de presión.

**SIN RESULTADO (NO RESULT)** indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, si el operador detuvo una prueba en curso.

## 16.2 Procedimiento de repetición de la prueba

Para repetir la prueba antes de 3 horas de haber obtenido un resultado indeterminado (es decir, **NO VÁLIDO [INVALID]**, **ERROR** o **SIN RESULTADO [NO RESULT]**), utilice un cartucho Xpert vanA nuevo (no vuelva a utilizar el cartucho) y un vial de reactivo para muestras nuevo. Transfiera todo el contenido restante de la cámara S a un nuevo reactivo para muestras. Agite en la agitadora vorticial y añada todo el contenido del reactivo para muestras a la cámara de muestras del nuevo cartucho de Xpert vanA.

## 17 Limitaciones

- Se desconoce el rendimiento de la prueba Cepheid Xpert vanA para detectar la secuencia del gen vanA de microorganismos distintos a *Enterococcus*.
- La eficacia de la prueba Xpert vanA se validó únicamente mediante los procedimientos proporcionados únicamente en estas instrucciones de uso. Las modificaciones de estos procedimientos pueden afectar a la eficacia de la prueba.
- No se recomienda utilizar otros sistemas de recogida y transporte de muestras que no sea el dispositivo de recogida de muestras de Cepheid (sistema de transporte de cultivos con dos hisopos Copan Venturi Transystem®) (139CFM LQ STUART). El uso de otros sistemas de recogida y transporte no se ha calificado.
- La crema de hidrocortisona (hidrocortisona al 1 %) y el Pepto-Bismol® (subsalicilato de bismuto al 1-5 %) pueden interferir con la prueba Xpert vanA. Cuando se analizaron en el estudio de interferencias, la crema de hidrocortisona y el Pepto-Bismol® arrojaron valores de Ct ligeramente superiores a los del control de tampón.
- La prueba Xpert vanA detecta únicamente el gen vanA, no el microorganismo, por lo que los genes vanA que lleven otros microorganismos distintos a los enterococos, como las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la vancomicina, también pueden producir un resultado positivo.
- Debido al factor de dilución asociado con el procedimiento de repetición de la prueba, es posible que las muestras positivas para vanA, muy próximas o en el límite de detección (LD) de la prueba Xpert vanA, puedan dar un resultado falso negativo al repetir la prueba.
- Pueden obtenerse resultados erróneos de la prueba debido a la recogida incorrecta de la muestra, a no seguirse los procedimientos recomendados para la recogida, manipulación y conservación de las muestras, a un error técnico, a la confusión de la muestra o a que el número de microorganismos en la muestra sea demasiado bajo para detectarse mediante la prueba. El estricto cumplimiento de las instrucciones de este prospecto es necesario para evitar resultados erróneos.
- Debido a que la detección de la secuencia del gen vanA depende del número de microorganismos presentes en la muestra que contienen el gen vanA, los resultados fiables dependerán de la recogida, manipulación y conservación correctas de las muestras.
- Un resultado positivo de la prueba no indica necesariamente la presencia de microorganismos viables. Sin embargo, presupone la presencia de bacterias que contienen van A.
- Las mutaciones o polimorfismos en las regiones de unión de la sonda o el cebador pueden afectar a la detección de variantes nuevas o desconocidas de vanA, y pueden producir un resultado falso negativo.
- Los valores de predicción positivos y negativos dependen en gran medida de la prevalencia. La eficacia de la prueba Xpert vanA puede variar en función de la prevalencia y de la población analizada.
- Los resultados de las pruebas también pueden verse afectados por el tratamiento concomitante con antibióticos o porque la muestra contenga un número de microorganismos inferior al límite de detección de la prueba.

## 18 Características de eficacia diagnóstica

### 18.1 Valores esperados

En el estudio clínico del ensayo Xpert vanA se incluyó un total de 1231 muestras de hisopos rectales de tres centros del estudio. El número y el porcentaje de casos positivos para vanA por cultivo enriquecido con secuenciación bidireccional, calculados por grupo de edad, se presentan en la tabla 1.

Tabla 2. Prevalencia observada de vanA por grupo de edad

| Grupo de edad | N   | Prevalencia de vanA |
|---------------|-----|---------------------|
| 2-5           | 3   | 0 % (0/3)           |
| 6-21          | 19  | 5,3 % (1/19)        |
| 22-59         | 466 | 12,7 % (59/466)     |
| >60           | 743 | 13,9 % (103/743)    |

## 18.2 Eficacia clínica

La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert *vanA* se determinó en un estudio de investigación multicéntrico prospectivo, realizado en tres instituciones de EE. UU., mediante la comparación de la prueba Xpert *vanA* con el cultivo de referencia, seguida de secuenciación bidireccional para la confirmación de aislados de *Enterococcus* resistentes a la vancomicina.

Los sujetos incluyeron individuos cuya atención médica ordinaria exigía pruebas de ERV. Se utilizó un hisopo de un conjunto de dos hisopos para el manejo del paciente, y el otro hisopo se utilizó para la prueba Xpert *vanA*. El hisopo sobrante designado para el manejo del paciente se envió a un laboratorio central para el cultivo de referencia.

Los hisopos de muestras sobrantes designados para el análisis de cultivos se almacenaron a 2-8 °C y se enviaron en bolsas de hielo al laboratorio central de cultivo en las 48 horas siguientes a la recogida. El cultivo de referencia se inició en las 16 horas posteriores a la recepción o en los 5 días posteriores a la recogida del hisopo.

Posteriormente, cada hisopo se colocó en un caldo de enriquecimiento. Las placas se incubaron a 35 °C y se examinaron a las 48 y 72 horas. El caldo se incubó también a 35 °C durante 48 horas y se subcultivó en un agar de azida esculina biliar con 6 µg/ml de vancomicina.

Las colonias pequeñas de color gris con un halo negro se consideraron sospechosas de ERV. La identificación presunta se llevó a cabo mediante tinción de Gram, catalasa y prueba de PYR (L-pirrolidónil-beta-naftilamida) en disco. Las muestras de ERV presuntas fueron *cocos* o *cocobacilos* grampositivos, y muestras PYR positivas. Los ERV presuntos se identificaron definitivamente utilizando la tira API20S (BioMérieux, Francia). Por último, se analizó la sensibilidad de los aislados de ERV a los glucopéptidos, utilizando tiras reactivas de  $\alpha$ -test de vancomicina (AB Biodisk, Suecia). La sensibilidad a la teicoplanina de los aislados se determinó mediante dilución en agar.

Tras las pruebas del cultivo de referencia, se preparó ADN a partir de aislados de *Enterococcus* resistentes a la vancomicina y se envió a un segundo laboratorio de referencia para la secuenciación bidireccional utilizando cebadores específicos de *vanA* alternativos (es decir, diferentes de los utilizados en la prueba Xpert *vanA*).

La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert *vanA* se calculó en relación a los resultados del cultivo directo con secuenciación bidireccional y del cultivo enriquecido con secuenciación bidireccional.

## 18.3 Resultados generales

Se analizó un total de 1231 muestras con la prueba Xpert *vanA*, cultivo y secuenciación bidireccional.

### Eficacia frente al cultivo directo

En comparación con el cultivo directo con secuenciación bidireccional, la prueba Xpert *vanA* mostró un porcentaje de concordancia positiva del 98,4 % y un porcentaje de concordancia negativa del 92,4 % (Tabla 3).

Tabla 3. Eficacia de la prueba Xpert *vanA* frente al cultivo directo con secuenciación bidireccional

| Prueba Xpert vanV   | Cultivo directo + secuenciación |      |      |       |
|---|---------------------------------|------|------|-------|
|   |                                 | Pos  | Neg  | Total |
|   | Pos                             | 126  | 84   | 210   |
|   | Neg                             | 2    | 1019 | 1021  |
| Total   | 128                             | 1103 | 1231 |       |
| % de concordancia positiva: 98,4 %<br>% de concordancia negativa: 92,4 %<br>Exactitud: 93,0 %<br>VPP: 60,0%<br>VPN: 99,8 %<br>Prevalencia: 10,4 % |                                 |      |      |       |

El 94,0 % (1180/1255) de las muestras aptas procesadas con las pruebas Xpert vanA arrojó resultados satisfactorios en el primer intento. Las 75 muestras restantes dieron resultados indeterminados en el primer intento (26 «NO VÁLIDO» [INVALID], 49 «ERROR» y 0 «SIN RESULTADO» [NO RESULT]). Sesenta y dos (62) de las 75 muestras indeterminadas en el primer intento con cantidad suficiente para repetir la prueba, el 82,3 % (51/62) dio un resultado en el segundo intento. La tasa global de éxito de la prueba (combinando el primer y el segundo intentos) fue del 98,1 % (1231/1255).

#### Eficacia frente al cultivo enriquecido

En comparación con el cultivo enriquecido con secuenciación bidireccional, la prueba Xpert vanA mostró un porcentaje de concordancia positiva del 86,5 % y un porcentaje de concordancia negativa del 93,5 % (Tabla 4).

**Tabla 4. Eficacia de la prueba Xpert vanA frente al cultivo enriquecido con secuenciación bidireccional**

| Prueba Xpert vanV  | Cultivo enriquecido + secuenciación |      |      |       |
|--|-------------------------------------|------|------|-------|
|  |                                     | Pos  | Neg  | Total |
|  | Pos                                 | 141  | 69   | 210   |
|  | Neg                                 | 22   | 999  | 1021  |
| Total  | 163                                 | 1068 | 1231 |       |
| % de concordancia positiva: 86,5 %<br>% de concordancia negativa: 93,5 %<br>Exactitud: 92,6 %<br>VPP: 67,1 %<br>VPN: 97,8 %<br>Prevalencia: 13,2 % |                                     |      |      |       |

El 94,0 % (1180/1255) de las muestras aptas procesadas con las pruebas Xpert vanA arrojó resultados satisfactorios en el primer intento. Las 75 muestras restantes dieron resultados indeterminados en el primer intento (26 «NO VÁLIDO» [INVALID], 49 «ERROR» y 0 «SIN RESULTADO» [NO RESULT]). Sesenta y dos (62) de las 75 muestras indeterminadas en el primer intento con cantidad suficiente para repetir la prueba, el 82,3 % (51/62) dio un resultado en el segundo intento. La tasa global de éxito de la prueba (combinando el primer y el segundo intentos) fue del 98,1 % (1231/1255).

## 19 Uso de antibióticos

De los 1231 casos incluidos en el conjunto de datos principal, se informó del uso de antibióticos en las 3 semanas anteriores a la recogida de las muestras en 414 casos y se confirmó la no utilización de antibióticos en 483; en 334 casos, no se pudo determinar el estado respecto al uso de antibióticos. El uso de antibióticos no produjo diferencias estadísticamente significativas en el rendimiento de la prueba.

## 20 Especificidad analítica

Se recogieron, cuantificaron y analizaron cuarenta y dos cepas bacterianas y fúngicas con la prueba Xpert vanA. Las cepas procedieron de la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC), de la Colección de Cultivos de la Universidad de Göteborg (CCUG), de la Colección Alemana de Microorganismos y Cultivos Celulares (DSMZ), y de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC).

Los microorganismos analizados se identificaron como grampositivos (22) y gramnegativos (18), incluidas cepas de *Pseudomonas spp.* y *Acinetobacter spp.* resistentes a antibióticos, y levaduras (2). Los microorganismos se clasificaron además como aerobios (24), anaerobios (14) o microaerófilos (2). Entre las especies analizadas se incluyeron dos (2) cepas sensibles a la vancomicina, que representaban a *E. faecalis* y *E. faecium*.

Cada cepa se analizó por triplicado a concentraciones que abarcan desde  $8,5 \times 10^8$  hasta  $2,3 \times 10^{10}$  UFC/hisopo. Los hongos levaduriformes se analizaron a aproximadamente  $10^7$  células por hisopo. Se incluyeron controles positivos y negativos en el estudio. En las condiciones del estudio, todos los aislados se notificaron como «vanA NEGATIVO (vanA NEGATIVE)». La especificidad analítica fue del 100 %.

## 21 Reactividad analítica (inclusividad)/Evaluación de un panel de cepas de provocación bien caracterizadas

Se analizaron treinta cepas de enterococos resistentes a la vancomicina (*vanA* y *vanB*) y 20 cepas de enterococos sensibles a la vancomicina (todas proporcionadas por los CDC) con la prueba Xpert vanA. De las 30 cepas de enterococos resistentes a la vancomicina, 10 fueron identificadas como *vanA* y 20 fueron identificadas como *vanB* por los CDC. Se seleccionaron cepas de enterococos que representaban en líneas generales la diversidad genética encontrada en los enterococos. Los cultivos madre se prepararon mediante la suspensión del crecimiento bacteriano de placas de agar en tampón PBS con un 15 % de glicerol. La concentración de cada solución stock se ajustó a  $5,6 \times 10^9$  a  $2,1 \times 10^{10}$  UFC/ml. Todas las cepas se diluyeron serialmente hasta aproximadamente 360 UFC/hisopo y se analizaron por triplicado.

En las condiciones de este estudio, las 20 cepas sensibles a la vancomicina se notificaron correctamente como «vanA NEGATIVO (vanA NEGATIVE)». De las 10 cepas de enterococos resistentes a la vancomicina positivas para *vanA* analizadas, una cepa se notificó como «vanA NEGATIVO (vanA NEGATIVE)». Cuando se secuenció esta cepa, los datos coincidieron al 100 % con una secuencia de referencia de *vanB*, lo que confirma que la prueba Xpert vanA notificó correctamente la cepa como «vanA NEGATIVO (vanA NEGATIVE)». Las 9 cepas restantes de enterococos resistentes a la vancomicina positivas para *vanA* se notificaron correctamente como «vanA POSITIVO (vanA POSITIVE)». Entre las 20 cepas de enterococos resistentes a *vanB* (no *vanA*), todas se notificaron correctamente como «vanA NEGATIVO (vanA NEGATIVE)». Los resultados del estudio de reactividad analítica (inclusividad) se resumen en la Tabla 5; la información del genotipo fue proporcionada por los CDC.

**Tabla 5. Tabla resumen de la reactividad analítica (inclusividad). Resultados de la prueba Xpert vanA en un panel de muestras de enterococos suministrado por los CDC**

| Id. de la muestra | Organismo | Genotipo <sup>a</sup> | Resultado de Xpert vanA |
|-------------------|-----------|-----------------------|-------------------------|
|-------------------|-----------|-----------------------|-------------------------|



| Id. de la muestra | Organismo               | Genotipo <sup>a</sup> | Resultado de Xpert vanA          |
|-------------------|-------------------------|-----------------------|----------------------------------|
| NJ-5              | <i>E. faecalis</i>      | Sensible              | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VA32              | <i>E. casseliflavus</i> | Sensible              | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS110             | <i>E. faecalis</i>      | Sensible              | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS119             | <i>E. faecalis</i>      | Sensible              | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS307             | <i>E. faecalis</i>      | Sensible              | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS314             | <i>E. faecalis</i>      | Sensible              | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS406             | <i>E. faecium</i>       | Sensible              | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS413             | <i>E. casseliflavus</i> | Sensible              | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS414             | <i>E. casseliflavus</i> | Sensible              | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS418             | <i>E. casseliflavus</i> | Sensible              | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS517             | <i>E. faecalis</i>      | Sensible              | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS604             | <i>E. faecium</i>       | Sensible              | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS615             | <i>E. faecium</i>       | Sensible              | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS719             | <i>E. faecalis</i>      | Sensible              | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS804             | <i>E. casseliflavus</i> | Sensible              | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| NJ-4              | <i>E. gallinarium</i>   | Sensible (vanC)       | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS106             | <i>E. gallinarium</i>   | Sensible (vanC)       | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS411             | <i>E. gallinarium</i>   | Sensible (vanC)       | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS608             | <i>E. gallinarium</i>   | Sensible (vanC)       | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS807             | <i>E. gallinarium</i>   | Sensible (vanC)       | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| E38-10            | <i>E. faecalis</i>      | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| E6-1              | <i>E. faecium</i>       | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |

| Id. de la muestra  | Organismo   | Genotipo <sup>a</sup> | Resultado de Xpert vanA          |
|--------------------|-------------|-----------------------|----------------------------------|
| NJ-2               | E. faecium  | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VA16               | E. faecalis | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VA36               | E. faecium  | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VA38               | E. faecium  | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VA63               | E. faecalis | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VA8                | E. faecium  | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VA89               | E. faecalis | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS102              | E. faecalis | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS103              | E. faecium  | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS111              | E. faecalis | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS112              | E. faecium  | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS319              | E. faecalis | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS415              | E. faecalis | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS416              | E. faecalis | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS501              | E. faecalis | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS506              | E. faecium  | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS514              | E. faecalis | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VS605              | E. faecium  | vanB                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| A256               | E. faecalis | vanA                  | vanA POSITIVO<br>(vanA POSITIVE) |
| NJ-1               | E. faecium  | vanA                  | vanA POSITIVO<br>(vanA POSITIVE) |
| VA100 <sup>b</sup> | E. faecium  | vanA                  | vanA NEGATIVO<br>(vanA NEGATIVE) |
| VA29               | E. faecium  | vanA                  | vanA POSITIVO<br>(vanA POSITIVE) |

| Id. de la muestra | Organismo   | Genotipo <sup>a</sup> | Resultado de Xpert vanA       |
|-------------------|-------------|-----------------------|-------------------------------|
| VA6               | E. faecium  | vanA                  | vanA POSITIVO (vanA POSITIVE) |
| VS105             | E. faecium  | vanA                  | vanA POSITIVO (vanA POSITIVE) |
| VS318             | E. faecium  | vanA                  | vanA POSITIVO (vanA POSITIVE) |
| VS420             | E. faecium  | vanA                  | vanA POSITIVO (vanA POSITIVE) |
| VS511             | E. faecium  | vanA                  | vanA POSITIVO (vanA POSITIVE) |
| VS611             | E. faecalis | vanA                  | vanA POSITIVO (vanA POSITIVE) |

<sup>a</sup> La información del genotipo contenida en la columna gris fue suministrada por los CDC.

<sup>b</sup> La secuenciación confirmó que esta muestra era del subtipo *vanB*, no *vanA* como señalaban los CDC.

## 22 Sensibilidad analítica

Se realizaron estudios con el fin de determinar los intervalos de confianza del 95 % para el límite de detección (LD) analítico de *Enterococcus faecium* (*vanA*) diluido en una matriz fecal de origen humano que puede ser detectada por la prueba Xpert *vanA*. La matriz fecal consistió en heces líquidas humanas (*vanA* negativas) esterilizadas en autoclave y diluidas 1:10 en tampón Tris. El LD se define como el número mínimo de unidades formadoras de colonias (UFC) por hisopo que pueden distinguirse de forma reproducible de muestras negativas con una confianza del 95%.

El LD analítico se calculó utilizando de 4 a 10 réplicas a cada dilución. El LD se confirmó procesando un total de 20 réplicas a la concentración del LD calculado.

En las condiciones de este estudio, el límite de detección de la prueba Xpert *vanA* en una muestra de hisopo rectal simulada es de 37 UFC.

## 23 Sustancias interferentes

Se analizaron 16 sustancias exógenas usadas ocasionalmente o encontradas en muestras de heces con la prueba Xpert *vanA* para determinar posibles interferencias. Las sustancias analizadas se indican en la Tabla 6. Ninguna de las 16 sustancias analizadas mostró una interferencia detectable con *vanA*. Sin embargo, la crema de hidrocortisona (hidrocortisona al 1 %) y el Pepto-Bismol® (subsalicilato de bismuto al 1-5 %) pueden interferir con la prueba Xpert *vanA*. Cuando se analizaron en el estudio de interferencias, la crema de hidrocortisona y el Pepto-Bismol® arrojaron valores de Ct ligeramente superiores a los del control de tampón.

**Tabla 6. Sustancias analizadas que no interfirieron con la prueba de *vanA***

| Sustancia                         | Sustancia                            |
|-----------------------------------|--------------------------------------|
| Sangre total                      | Vaselina                             |
| Hospital Universitario Karolinska | Unilever                             |
| Mucina (porcina)                  | Dulcolax®                            |
| Sigma                             | Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals |
| Kaopectate®                       | Toallitas portátiles Preparation H®  |
| Chattem                           | Wyeth Consumer Healthcare            |

| Sustancia   | Sustancia   |
|---|---|
| Imodium®<br>McNeil-PPC                              | Vancomycin<br>Fluka   |
| Fleet®<br>CB Fleet Company                          | Metronidazol<br>Actavis   |
| Grasas fecales<br>Hospital Universitario Karolinska | Anusol® Plus<br>TM Warner-Lambert Company                                   |
| K-Y Jelly/Gelée®<br>McNeil-PPC                      | E-Z-HDTM sulfato de bario de alta densidad para suspensión<br>E-Z-EM Canada |
| <sup>a</sup> Crema de hidrocortisona<br>Longs Drugs | <sup>a</sup> Pepto-Bismol®<br>Procter & Gamble                              |

<sup>a</sup> Cuando se analizaron en el estudio de interferencia, los resultados arrojaron valores de Ct ligeramente superiores a los del control de tampón.

## 24 Reproducibilidad

Se analizó un grupo de cuatro muestras con concentraciones variables de vanA en 10 días diferentes por dos usuarios distintos en cada uno de los tres centros (4 muestras x 2 usuarios/día x 10 días x 3 centros). Un lote de la prueba Xpert vanA se utilizó en cada uno de los 3 centros de análisis. Las pruebas Xpert vanA se realizaron de acuerdo con el procedimiento de la prueba Xpert vanA. Los resultados se resumen en las Tabla 7 y Tabla 8.

Tabla 7. Resumen de los resultados de reproducibilidad (todos)<sup>a</sup>

| % de concordancia <sup>a</sup>     |                  |                   |                   |                                     |
|------------------------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------------------------|
| ID de la muestra                   | Centro 1         | Centro 2          | Centro 3          | % de concordancia total por muestra |
| Neg                                | 100 %<br>(20/20) | 90%<br>(18/20)    | 100 %<br>(20/20)  | 96,7%<br>(58/60)                    |
| vanA neg alto                      | 100 %<br>(20/20) | 100 %<br>(20/20)  | 95 %<br>(19/20)   | 98,3 %<br>(59/60)                   |
| vanA pos bajo                      | 100 %<br>(20/20) | 100 %<br>(20/20)  | 100 %<br>(20/20)  | 100 %<br>(60/60)                    |
| vanA pos moderado                  | 100 %<br>(20/20) | 95 %<br>(19/20)   | 100 %<br>(20/20)  | 98,3 %<br>(59/60)                   |
| % de concordancia total por centro | 100 %<br>(80/80) | 96,3 %<br>(77/80) | 98,8 %<br>(79/80) | 98,3 %<br>(236/240)                 |

<sup>a</sup> Para muestras negativas y negativas altas, el % de concordancia = (n.º de resultados negativos/total de muestras procesadas); para muestras positivas bajas y moderadas, el % de concordancia = (n.º de resultados positivos/total de muestras procesadas).

Tabla 8. Resumen de resultados del valor Ct por nivel de muestra y diana

| Bg                |       |      |        |
|-------------------|-------|------|--------|
| Nivel             | Media | DE   | CV     |
| vanA neg alto     | 32,88 | 0,60 | 1,83 % |
| vanA pos bajo     | 32,88 | 0,77 | 2,34 % |
| vanA pos mod      | 32,80 | 0,78 | 2,38 % |
| Neg               | 33,15 | 0,65 | 1,96 % |
| vanA <sup>a</sup> |       |      |        |
| Nivel             | Media | DE   | CV     |
| vanA pos bajo     | 33,76 | 1,00 | 2,95 % |
| vanA pos mod      | 30,35 | 1,33 | 4,40 % |

<sup>a</sup> Valor de corte de Ct para vanA=40

## 25 Referencias

1. Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA; Rood JI (editors). Gram-Positive Pathogens. ASM Press, Washington D.C. 2000.
2. deBruin MA, Riley LW. Does vancomycin prescribing intervention affect vancomycin-resistant enterococcus infection and colonization in hospitals? A systematic review. BMC Infect Dis. 2007;7:24.
3. Calderwood MS, Mauer A, Tolentino J, et al. Epidemiology of vancomycin-resistant enterococci among patients on an adult stem cell transplant unit: observations from an active surveillance program. Infect Control Hosp Epidemiol. 2008;29:1019-1025.
4. Hidron A, Edwards JR, Patel J, et al. NHSN Annual Update: Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. Infect Control Hosp Epidemic. 2008;29:996-1011.
5. Cetinkaya Y, Falk P and Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. Clin Micro Rev. 2000;13:686-707.
6. Courvalin P. Vancomycin resistance in Gram-positive cocci. Clin Infect Dis. 2006;42 Supply 1: S25-34.
7. Sievert DM, Rudrik JT, Patel JB, et al. Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus in the United States, 2002-2006. Clin Infect Dis. 2008;46:668-674.
8. Zirakzadeh A, Patel R. Vancomycin-resistant enterococci: Colonization, infection, detection and treatment. Mayo Clin Proc. 2006;81:529-536.
9. Ballard SA, Pertile KK, Lim M, et al. Molecular characterization of vanB elements in naturally occurring gut anaerobes. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49(5):1688-1694.
10. Petrichi AK, Luinstra KE, Groves D, et al. Direct detection of vanA and vanB genes in clinical specimens for rapid identification of VRE using multiplex PCR. Mol Cellular Probes. 1999;13:275-281.
11. Domingo MC, Huletsky A, Bernal R, et al. Characterization of a Tn5382-like transposon containing the vanB2 gene cluster in a Clostridium strain isolated from human faeces. J Antimicrob Chemother. 2005;55:466-474.
12. Domingo MC, Huletsky A, Giroux K, et al. High prevalence of glycopeptides resistance genes vanB, vanD, and vanG not associated with enterococci in human fecal flora. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49(11):4784-4786.
13. Ballard SA, Grabsch EA, Johnson PDR and Grayson ML. Comparison of three PCR primer sets for identification of vanB gene carriage in feces and correlation with carriage of vancomycin-resistant enterococci: Interference by vanB containing anaerobic bacillii. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49(1):77-81.
14. Sloan LM, Uhl JR, Vetter EA, et al. Comparison of the Roche LightCycler vanA/vanB Detection Assay and culture for detection of vancomycin-resistant enterococci from perianal swabs. J Clin Micro. 2004;42:2636-2643.
15. Rice LB. Antibiotics and gastrointestinal colonization by vancomycin-resistant enterococci. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2005;24:804-814.
16. Milstone AM, Song X, Beers C, et al. Unrecognized burden of Methicillin-resistant Staphylococcus aureus and vancomycin-resistant Enterococcus carriage in pediatric intensive care units. Infect Control Hosp Epidemiol. 2008;29:1174-1176.

17. Huang SS, Rifas-Shiman SL, Pottinger JM, et al. Improving the assessment of vancomycin-resistant enterococci by routine screening. *J Infect Dis.* 2007;195:339-346.
18. Perencevich EN, Fisman DN, Lipsitch M, et al. Projected benefits of active surveillance for vancomycin-resistant enterococci in intensive care units. *CID.* 2004;38:1108-1115.
19. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). Número de publicación del HHS (CDC) 93-8395.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute (anteriormente denominado National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Documento M29 (consultar la última edición).
21. REGLAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 16 de diciembre de 2008 sobre el etiquetado de clasificación, y el envasado de sustancias y mezclas que modifica y anula la Lista de Declaraciones de Precaución, Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE (que modifica la normativa (CE) N.º 1907/2006).
22. Normas de salud y seguridad en el trabajo, comunicación de riesgos, sustancias tóxicas y peligrosas (26 de marzo de 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

## 26 Oficinas centrales y

### Sede central corporativa

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Teléfono: + 1 408 541 4191  
Fax: + 1 408 541 4192  
[www.cepheid.com](http://www.cepheid.com)

### Sede central europea

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

Teléfono: + 33 563 825 300  
Fax: + 33 563 825 301  
[www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com)

## 27 Asistencia técnica

Before contacting Cepheid Technical Support, collect the following information:

- Product name
- Lot number
- Serial number of the instrument
- Error messages (if any)
- Software version and, if applicable, Computer Service Tag Number

### Servicio técnico en los Estados Unidos















Teléfono: + 1 888 838 3222 Correo electrónico: [techsupport@cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)

### Servicio técnico en Francia

Teléfono: + 33 563 825 319 Correo electrónico: [support@cepheideurope.com](mailto:support@cepheideurope.com)

La información de contacto de todas las oficinas del servicio técnico de Cepheid está disponible en nuestro sitio web: [www.cepheid.com/en/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en/support/contact-us).

## 28 Tabla de símbolos

| Símbolo   | Significado   |
|---|---|
|    | Número de catálogo                                  |
|   | Para uso exclusivo con receta                       |
|    | Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> |
|    | No volver a utilizar                                |
|    | Código de lote                                      |
|    | Consultar 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   |



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Teléfono: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192



## 29 Historial de revisiones

Descripción de los cambios: 300-9105-ES, Rev. D a E

Propósito: Correcciones

| Apartado  | Descripción del cambio   |
|---|--|
| Recogida, transporte y conservación de las muestras | Se han corregido los cambios no deseados en el tipo de muestra y en el almacenamiento de muestras. |
| Valores esperados                                   | Se ha vuelto a incluir el apartado de valores esperados en las instrucciones de uso.               |

For Information Only - Not a Controlled Copy