

Xpert® Carba-R

REF **GXCARBAR-10**

For Information Only - Not a Controlled Copy



Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*

IVD

Trademark, Patents and Copyright Statements

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

Remel[™] is a trademark of Remel.

BBL[™] and Sensi-Disc[™] are trademarks of Becton Dickinson.

Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

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 2020. All rights reserved.

Declaraciones sobre marcas comerciales, patentes y derechos de propiedad intelectual

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

Remel[™] es una marca comercial de Remel.

BBL[™] y Sensi-Disc[™] son marcas comerciales de Becton Dickinson.

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

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 IMPLICACIÓN O POR ACCIÓN INNEGABLE. LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO TAMPOCO OTORGA NINGÚN DERECHO DE REVENTA.

Copyright © Cepheid 2020. Reservados todos los derechos.



Cepheid

904 Caribbean Drive

Sunnyvale, CA 94089

USA

Phone: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192

Xpert[®] Carba-R

Rx only

Solo para uso diagnóstico *in vitro*

1 Nombre patentado

Xpert[®] Carba-R

2 Denominación común o habitual

Ensayo Xpert Carba-R

3 Indicaciones del dispositivo

El ensayo Xpert Carba-R, realizado en los Sistema del instrumento GeneXpert[®], es una prueba de diagnóstico cualitativo *in vitro* concebida para la detección y la diferenciación de las secuencias de genes *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} y *bla*_{IMP} asociadas a la ausencia de sensibilidad a los carbapenemos. La prueba utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real automatizada.

El ensayo Xpert Carba-R está concebido como ayuda para el control de infecciones en la detección de bacterias no sensibles a los carbapenemos que colonizan a los pacientes en entornos sanitarios. Un resultado negativo del ensayo Xpert Carba-R no excluye la presencia de otros mecanismos de resistencia.

El ensayo Xpert Carba-R se debe usar con los siguientes tipos de muestras:

Colonias puras

El ensayo se realiza en colonias puras de *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter baumannii* o *Pseudomonas aeruginosa* no sensibles a los carbapenemos, cuando proliferan en agar de sangre o agar MacConkey. Para las pruebas de colonias puras, el ensayo Xpert Carba-R debe utilizarse junto con otras pruebas de laboratorio, como las pruebas fenotípicas de sensibilidad antimicrobiana.

La identificación de un gen de metalobetalactamasas *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM} o *bla*_{VIM} (esto es, los genes que codifican las metalobetalactamasas IMP, NDM y VIM, respectivamente) puede utilizarse para ayudar a los médicos a determinar las estrategias terapéuticas adecuadas para los pacientes que se sepa o se sospeche que tengan infecciones bacterianas no sensibles a los carbapenemos.

Muestras de hisopos rectales y perirectales

El ensayo se realiza en muestras de hisopos rectales y perirectales de pacientes con riesgo de colonización intestinal con bacterias no sensibles a los carbapenemos. Es necesario realizar cultivos simultáneos a fin de recuperar microorganismos para la tipificación epidemiológica, para las pruebas de sensibilidad antimicrobiana y para la identificación confirmatoria adicional de bacterias.

El ensayo Xpert Carba-R, cuando se realiza con muestras de hisopos rectales y perirectales, no está indicado para guiar o vigilar el tratamiento de infecciones bacterianas no sensibles a los carbapenemos, ni para determinar la infección por bacterias no sensibles a los carbapenemos.

4 Resumen y explicación

La propagación global de bacterias *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* y del género *Acinetobacter* productoras de carbapenemasa (esto es, microorganismos no sensibles a los carbapenemos) constituye un grave problema médico y de salud pública.^{1,2} Estas bacterias son a menudo resistentes a todos los betalactámicos y suelen ser corresponsables a varias clases de otros antimicrobianos, lo que deja muy pocas opciones de tratamiento.³ El seguimiento de la propagación de los microorganismos no sensibles a los carbapenemos se ve complicado por la diversidad de enzimas hidrolizantes de los carbapenemos que han surgido y por la capacidad de los genes para propagarse por varias especies bacterianas. Algunos de los genes de la resistencia, como los determinantes de la carbapenemasa de *Klebsiella pneumoniae* (KPC), se asocian a estirpes clonales satisfactorias de bacterias (p. ej., *K. pneumoniae* ST258),⁴ que tienen una ventaja selectiva en entornos hospitalarios donde se utilizan mucho los antimicrobianos. Las oportunidades de transmisión de microorganismos son a menudo frecuentes, lo que conlleva una mayor diseminación de los genes de la resistencia a través de plásmidos transmisibles e integrones. La cepa ST258 de *K. pneumoniae* ha causado varias epidemias en todo el mundo, sobre todo en Estados Unidos¹ y en Israel.⁵ Asimismo, personas que, en muchos casos, han visitado la India o Pakistán han introducido en Europa microorganismos que contienen el gen codificador de la Nueva Delhi metalobetalactamasa (NDM).⁶ Un tercer mecanismo de resistencia a los carbapenemos, mediado por la metalobetalactamasa mediada por integrón de Verona (VIM) ha sido tema de preocupación en Europa durante varios años. Otras metalobetalactamasas, como las de la clase imipenemasa (IMP), se han estado detectando en Japón y en otros países asiáticos durante muchos años, y se están propagando ahora por todo el mundo.³ Además, la oxacilinas de clase D, OXA-48, que a menudo media la resistencia a los carbapenemos de bajo nivel, se está propagando ahora rápidamente por Europa.^{7,8} En la actualidad, el método habitual para detectar pacientes colonizados por microorganismos no sensibles a los carbapenemos es el cultivo de muestras de hisopos rectales o perirectales en placas de agar selectivo para bacterias gramnegativas, como el agar MacConkey, seguido de una prueba de sensibilidad antimicrobiana de colonias de fermentación de lactosa, o utilizando medios de agar de detección selectivo.⁹ El primero es laborioso y puede requerir varios días para generar un resultado final, mientras que el último método varía considerablemente en sensibilidad y especificidad según el medio selectivo utilizado.

Un método rápido y preciso para determinar si una muestra de hisopo rectal o perirectal, o un aislado bacteriano no sensible a los carbapenemos, alberga una de estas cinco clases comunes de genes de resistencia a los carbapenemos sería una gran ayuda para los programas de control de infecciones, especialmente durante los brotes, ya que puede permitir: 1) identificar el gen de resistencia específico presente en el microorganismo y 2) diferenciar los microorganismos que tienen los genes de resistencia a los carbapenemos transmisibles más comunes que codifican las enzimas carbapenemasa de los microorganismos que son resistentes debido a otras betalactamasas y a cambios en la pared celular del microorganismo, que no requieren necesariamente la aplicación de precauciones de contacto al paciente.

Los retos terapéuticos asociados a las bacterias *Enterobacteriaceae* resistentes a los carbapenemos han creado una mayor conciencia de la necesidad de la detección rápida y de la implementación de medidas eficaces de contención y prevención de la transmisión. Los antimicrobianos, como las nuevas combinaciones de betalactámicos e inhibidores de betalactamasas, tienen diferentes actividades contra bacterias productoras de diferentes tipos de betalactamasas. Los resultados del ensayo Xpert Carba-R que indiquen la presencia de genes de metalobetalactamasas *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, y *bla*_{NDM} de colonias puras de los microorganismos indicados pueden ayudar a determinar una estrategia terapéutica que incluya combinaciones de betalactámicos e inhibidores de betalactamasas.^{10,11,12,13,14}

5 Principio del procedimiento

Los sistemas del instrumento GeneXpert automatizan e integran la preparación de muestras, la extracción y amplificación de ácidos nucleicos y la detección de la secuencia diana en muestras simples o complejas mediante ensayos de PCR en tiempo real. Los sistemas constan de un instrumento, un ordenador personal y software precargado para realizar pruebas y ver los resultados. Los sistemas requieren el uso de cartuchos desechables de un solo uso que contengan los reactivos para la PCR y alojen el proceso de la PCR. Como los cartuchos son autónomos, el riesgo de contaminación cruzada entre muestras es mínimo. Para obtener una descripción completa del sistema, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx* o el *Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity*.

El ensayo Xpert Carba-R incluye reactivos para la detección de secuencias de genes *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} y *bla*_{IMP}, así como un control de procesamiento de muestras (SPC) para controlar que el procesamiento de las bacterias diana sea el adecuado y para indicar la presencia de inhibidores en la reacción PCR. El SPC también garantiza que las condiciones (temperatura y tiempo) de la reacción PCR sean adecuadas para la reacción de amplificación y que los reactivos para la PCR funcionen correctamente. Un control interno adicional, el control de comprobación de la sonda (PCC) verifica la rehidratación de los reactivos, el llenado del tubo de PCR en el cartucho, la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes.

Los cebadores y las sondas del ensayo Xpert Carba-R detectan secuencias patentadas de las secuencias de genes *bla*_{KPC} (KPC), *bla*_{NDM} (NDM), *bla*_{VIM} (VIM), *bla*_{OXA-48} (OXA-48) y *bla*_{IMP} (IMP) asociadas a la ausencia de sensibilidad a los carbapenemos en bacterias gramnegativas.

6 Reactivos e instrumentos

6.1 Materiales suministrados



El kit del ensayo Xpert Carba-R contiene reactivos suficientes para procesar 10 muestras. El kit contiene lo siguiente:

Cartuchos del ensayo Xpert Carba-R con tubos de reacción integrados	10
• Microesfera 1, microesfera 2 y microesfera 3 (liofilizadas)	1 de cada por cartucho
• Reactivo 1	3 ml por cartucho
• Reactivo 2 (cloruro de guanidinio)	2,5 ml por cartucho
Frascos con reactivo para muestras del ensayo Xpert Carba-R	10
• Reactivo para muestras	5,0 ml por frasco
Pipetas de transferencia desechables (1,7 ml)	10
CD	1
• Archivos de definición del ensayo (ADF)	
• 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 la ficha de **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 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



• Conserve los cartuchos del ensayo Xpert Carba-R a 2-28 °C.

• No abra la tapa del cartucho hasta el momento de realizar la prueba.



• No utilice los reactivos ni los cartuchos después de la fecha de caducidad indicada.

• El reactivo para muestras es un líquido transparente incoloro. No utilice el reactivo para muestras si se ha vuelto turbio o ha cambiado de color.

• Utilice el cartucho en los 30 minutos siguientes a la apertura de su tapa.

• No utilice cartuchos que presenten fugas.

6.3 Materiales requeridos pero no suministrados

• Instrumento GeneXpert Dx o sistemas GeneXpert Infinity (el número de catálogo varía según la configuración): Instrumento GeneXpert, ordenador, lector de códigos de barras y manual del operador.

• Para el sistema GeneXpert Dx: Software GeneXpert Dx versión 4.3 o posterior

• Dispositivo de recogida de muestras: Número de catálogo 900-0370 de Cepheid

• Agar-sangre (p. ej., Remel™ Agar-sangre: Número de catálogo R01200 o equivalente)

• Agar MacConkey (p. ej., Agar MacConkey Remel™: Número de catálogo R01550 o equivalente)

• Discos de meropenem de 10 µg (p. ej., discos de prueba de sensibilidad antimicrobiana BD BBL™ Sensi-Disc™, meropenem, número de catálogo 231704 o equivalente)

• Pinzas estériles

• Asas de siembra estériles desechables de 10 µl (p. ej., Copan: Número de catálogo COPS-10, o Hardy Diagnostics: Número de catálogo L2002A o equivalente)

• Agitadora vorticial

- Impresora: Si se requiere una impresora, póngase en contacto con el servicio técnico de Cepheid para organizar la compra de una impresora recomendada.

6.4 Materiales disponibles pero no suministrados


- Control externo multivalente:
Xpert Carba-R QC Panel M219, número de catálogo M219 de Maine Molecular Quality Controls, Inc. (MMQCI, Scarborough, ME, EE. UU.), como control positivo externo (*Escherichia coli* inactivada que contiene un plásmido con secuencias de genes KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48) y control negativo externo (*E. coli* inactivada).
- Controles externos individuales:
Bacterias productoras de carbapenemasa *K. pneumoniae* KPC-2 (número de catálogo ATCC BAA-1705); *K. pneumoniae* NDM-1 (número de catálogo ATCC BAA-2146); *K. pneumoniae* VIM-1 (número de catálogo NCTC 13439); *K. pneumoniae* OXA-48 (número de catálogo NCTC 13442); y *Escherichia coli* IMP-1 (número de catálogo NCTC 13476) como controles positivos externos.

7 Advertencias y precauciones



- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Para uso exclusivo con receta.
- Trate todas las muestras biológicas, incluidos 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 Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention)^{15, 16} y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute)¹⁷ de Estados Unidos.
- Siga los procedimientos de seguridad del centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas y placas de agar con colonias puras.
- 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.
- Para evitar la contaminación de las muestras o los reactivos, se recomienda seguir las buenas prácticas de laboratorio, lo que incluye el cambio de guantes entre las manipulaciones de muestras.
- No utilice ningún otro reactivo en vez del reactivo para muestras del ensayo Xpert Carba-R.
- No abra la tapa del cartucho del ensayo Xpert Carba-R hasta que esté preparado para añadir una muestra.
- No utilice cartuchos que se hayan caído después de extraerlos del envase.
- No agite el cartucho. Si el cartucho se agita o se deja caer después de haber abierto su tapa, es posible que se obtengan resultados no válidos.
- No coloque la etiqueta de ID de la muestra en la tapa del cartucho ni sobre la etiqueta del código de barras.
- Cada cartucho de un solo uso del ensayo Xpert Carba-R se utiliza para procesar una sola prueba. No vuelva a utilizar los cartuchos usados.
- No utilice cartuchos con tubos de reacción dañados.
- Use guantes y bata de laboratorio limpios. Cámbiese los guantes entre los procesamientos de cada muestra.
- En caso de que la zona de trabajo o el equipo resulten contaminados con muestras o controles, limpie minuciosamente la zona contaminada con una dilución 1:10 de lejía clorada de uso doméstico y, a continuación, vuelva a limpiar la zona de trabajo con etanol al 70 %. Seque por completo las superficies de trabajo antes de seguir.

8 Peligros químicos^{18, 19}

- Pictograma de peligro del SGA de la ONU: 
- Palabra de advertencia: ATENCIÓN
- **Declaraciones de precaución del SGA de la ONU**
 - **Prevención**
 - Lavarse concienzudamente tras la manipulación.
 - Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
 - **Respuesta**
 - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.
 - Se necesita un tratamiento específico (ver información adicional de medidas de primeros auxilios).
 - Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
 - 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.
 - Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar.

9 Preparación y conservación de muestras

Muestras de hisopos rectales o perirrectales:

Para obtener información sobre los hisopos que han de utilizarse, consulte el Apartado 6.3, Materiales requeridos pero no suministrados.

- Recogida de un par de hisopos rectales: Inserte con cuidado las puntas de ambos hisopos aproximadamente 1 cm más allá del esfínter anal y gírelas suavemente. Véase «Materiales necesarios pero no suministrados» para los hisopos que se deben usar y la Figura 1 y la Figura 2 para los ejemplos de hisopos aceptables y no aceptables para su uso con el ensayo Xpert Carba-R.
- Recogida de un par de hisopos perirrectales: Inserte con cuidado las puntas de ambos hisopos no más de 1 cm en la abertura anal antes del esfínter anal y gírelas suavemente.
- Los hisopos en el tubo de transporte se pueden almacenar a 15-28 °C durante un máximo de cinco días.
- La Figura 1 siguiente ofrece ejemplos de muestras de hisopos aceptables que se pueden usar con el ensayo Xpert Carba-R, y la Figura 2 ofrece ejemplos de muestras de hisopos muy contaminadas que no se deben usar con el ensayo Xpert Carba-R.

15-28 °C



Figura 1. Ejemplos de muestras de hisopos aceptables para las pruebas con el ensayo Xpert Carba-R

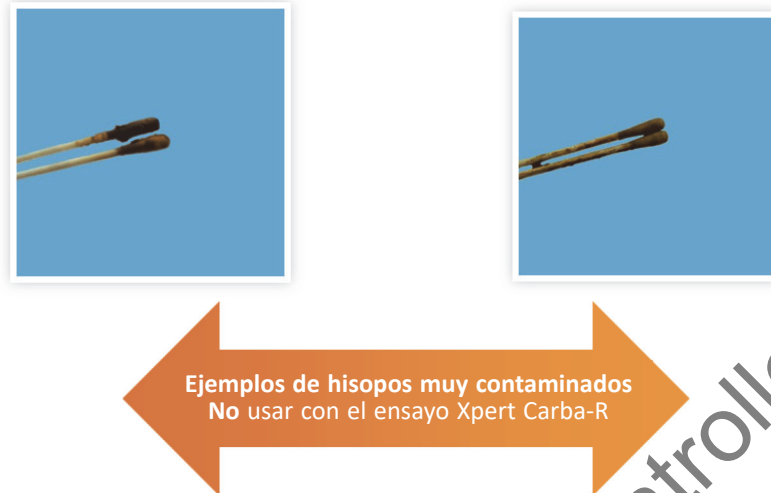


Figura 2. Ejemplos de muestras de hisopos no aceptables para las pruebas con el ensayo Xpert Carba-R

Aislados bacterianos:

1. Los microorganismos deben identificarse y la condición de ausencia de sensibilidad a los carbapenemos debe determinarse de acuerdo con el actual prospecto aprobado por la FDA, así como con la versión más reciente de la directriz CLSI M100²⁰ antes de realizar pruebas con el ensayo Xpert Carba-R.
2. Inocule el microorganismo en una placa de agar-sangre o de agar MacConkey, realice un estriado para aislarlo y coloque un disco de meropenem de 10 µg en el primer cuadrante de estriado como un medio para asegurar que el aislado conserva su ausencia de sensibilidad a los carbapenemos.
3. Incube la placa a 35 °C durante 18-24 horas al aire ambiente.
4. Utilice el método de suspensión directa de colonias tocando colonias aisladas con un hisopo o un asa para preparar una suspensión McFarland 0,5 del aislado bacteriano como se indica en la norma aprobada CLSI M07²¹. Los pasos también se describen a continuación.
 - A. Realice una suspensión de colonias aisladas seleccionadas de una placa de agar (p. ej., un medio no selectivo tal como agar-sangre que haya sido incubado de 18 a 24 horas) directamente en caldo o solución salina.
 - B. Ajuste la suspensión para lograr una turbidez equivalente al patrón McFarland 0,5. Esto produce una suspensión que contiene aproximadamente $1-2 \times 10^8$ UFC/ml para *E. coli* ATCC (American Type Culture Collection) 25922.
 - C. Utilice un dispositivo fotométrico o, si se realiza visualmente, luz adecuada para comparar el tubo de inóculo y el patrón McFarland 0,5 con una tarjeta con un fondo blanco y líneas de contraste negras.

10 Procedimiento

10.1 Preparación del cartucho

Importante	Introduzca el cartucho en el instrumento GeneXpert en los 30 minutos posteriores a la adición de la muestra al cartucho.
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Extraiga un cartucho del ensayo Xpert Carba-R, un frasco de reactivo para muestras y una pipeta de transferencia del kit. Abra el frasco de reactivo para muestras. 2. Para añadir la muestra al cartucho: <ul style="list-style-type: none"> • Para las muestras de hisopos rectales o perirrectales, para añadir la muestra de hisopo al cartucho: <ul style="list-style-type: none"> • De los dos hisopos, coloque un hisopo en el frasco de reactivo para muestras. Vuelva a introducir el hisopo no utilizado en el tubo de transporte y almacénelo.
Nota	Consulte el Apartado 9 para ver las condiciones de conservación de las muestras de hisopos rectales o perirrectales. El segundo hisopo restante se puede utilizar para repetir la prueba.

Nota Consulte el Apartado 14, Procedimiento de repetición de la prueba para repetir la prueba para las muestras de hisopos rectales o perirrectales.

- 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 por la marca rayada y acortar el hisopo lo suficiente para permitir que quepa en el frasco y que la tapa pueda cerrarse firmemente.
- Para aislados bacterianos, para añadir la suspensión McFarland 0,5 del aislado al cartucho:
 - Agite la suspensión McFarland 0,5 en el mezclador vórtex. Utilizando un asa de 10 µl, transfiera 10 µl de la suspensión McFarland 0,5 a un frasco de 5 ml de reactivo para muestras. Agite el asa un mínimo de tres veces en el reactivo para muestras. Después de la prueba inicial, la muestra restante en el frasco de reactivo para muestras puede conservarse a 2-28 °C durante un máximo de cinco días en caso de que sea necesario repetir la prueba.

Nota Consulte el Apartado 14, Procedimiento de repetición de la prueba, para obtener instrucciones sobre cómo repetir la prueba para muestras de aislados bacterianos.

Nota Asegúrese de que el asa de 10 µl esté llena con la muestra y que la suspensión de la muestra en el asa no se rompa al transferir la suspensión McFarland 0,5 al reactivo para muestras.

3. Tape bien el frasco de reactivo para muestras y agítelo en el mezclador vórtex a alta velocidad durante 10 segundos.
4. Abra la tapa del cartucho. Abra la tapa del reactivo para muestras. Utilizando la pipeta de transferencia suministrada, aspire la muestra preparada (reactivo para muestras que contiene la muestra del Paso 2) hasta la marca de la pipeta (aproximadamente 1,7 ml; consulte la Figura 3) y, a continuación, transfiera el material a la abertura grande de la cámara de muestras (consulte la Figura 4) del cartucho del ensayo Xpert Carba-R.
5. Cierre la tapa del cartucho y coloque este en el instrumento GeneXpert en los 30 minutos posteriores a la adición de la muestra al cartucho.

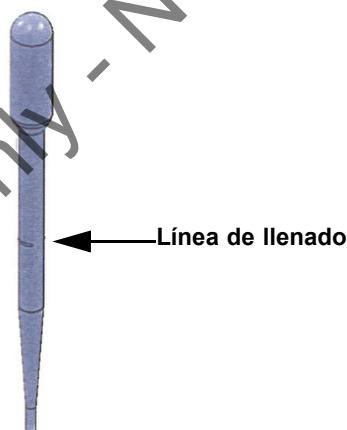


Figura 3. Pipeta de transferencia para transferir la muestra al cartucho

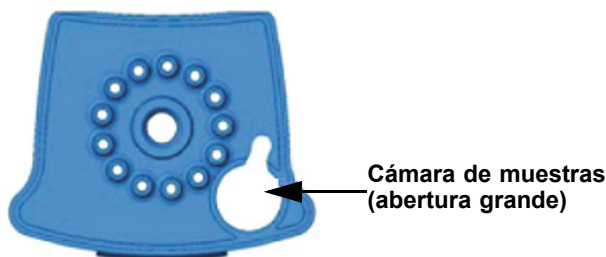


Figura 4. Cartucho del ensayo Xpert Carba-R (vista superior)

10.2 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 Carba-R. Este apartado incluye los pasos básicos para realizar la prueba. Para obtener instrucciones detalladas, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx* o el *Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity*.

Nota Los pasos que debe seguir pueden ser diferentes si el administrador del sistema cambió el flujo de trabajo predeterminado del sistema. El flujo de trabajo predeterminado se describe a continuación.

1. Encienda el sistema del instrumento GeneXpert:
 - Si está utilizando el instrumento GeneXpert Dx, encienda primero el instrumento y, a continuación, encienda el ordenador. El software GeneXpert se iniciará automáticamente o podría ser necesario hacer doble clic en el icono de 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 Xpertise 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 sistema del instrumento GeneXpert con su nombre de usuario y su contraseña.
3. En la ventana del sistema GeneXpert, haga clic en **Crear prueba (Create Test)** (GeneXpert Dx) o en **Solicitudes (Orders)** y **Solicitar prueba (Order Test)** (Infinity).
4. Escanee la Id. del paciente (Patient ID) (opcional). 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).
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).
6. Escanee el código de barras del cartucho del ensayo Xpert Carba-R. 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 del reactivo (Reagent Lot ID), N° de serie del cartucho (Cartridge SN) y Fecha de caducidad (Expiration Date).

Nota Si no se escanea el código de barras del cartucho del ensayo Xpert Carba-R, prepare otra prueba siguiendo el procedimiento de repetición de la prueba del Apartado 14.

7. Haga clic en **Iniciar prueba (Start Test)** (GeneXpert Dx) o en **Enviar (Submit)** (Infinity). Introduzca su contraseña si se le solicita.
8. En el sistema GeneXpert Infinity, 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. A continuación, extraiga el cartucho.
- D. Los cartuchos usados deben eliminarse en los recipientes de residuos de muestras adecuados de acuerdo con las prácticas habituales de su centro.

10.3 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 sistema GeneXpert Dx* 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 pantalla Ver resultados (View Results) para ver o generar un archivo de informe en formato PDF.

11 Control de calidad

CONTROL Controles de calidad integrados

Cada prueba incluye un control de procesamiento de muestras y un control de comprobación de la sonda.

- **Control de procesamiento de muestras (Sample Processing Control, SPC)** – Confirma que la muestra se procesó correctamente. El SPC contiene esporas de *Bacillus globigii* en forma de una microesfera seca que se incluye en cada cartucho para verificar el procesamiento adecuado de la muestra. El SPC confirma que la lisis de las bacterias ha tenido lugar si hay microorganismos presentes y comprueba además si el procesamiento de la muestra ha sido adecuado. Aparte de lo anterior, este control detecta la inhibición asociada a la muestra del ensayo de PCR en tiempo real, garantiza que las condiciones (temperatura y tiempo) de la reacción PCR sean correctas para la reacción de amplificación y que los reactivos para la PCR funcionen correctamente.

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 (Probe Check Control, PCC)** – Antes de iniciar la reacción PCR, el sistema GeneXpert mide la señal de fluorescencia de las sondas 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.

Controles externos

Los controles externos descritos en el Apartado 6.4 están disponibles, pero no se suministran y pueden utilizarse de acuerdo con las organizaciones de acreditación locales, provinciales/estatales y nacionales, según corresponda. Utilice siempre controles externos, siguiendo las instrucciones del fabricante.

12 Interpretación de los resultados

El sistema GeneXpert 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 (View Results). No se muestran las capturas de pantalla y las interpretaciones de todas las combinaciones de resultados posibles con los cinco analitos diana del ensayo Xpert Carba-R; no obstante, los ejemplos siguientes son representativos del tipo de resultados que pueden esperarse.

Nota

La tabla y las figuras siguientes muestran solamente ejemplos representativos de los tipos de resultados que pueden esperarse con el ensayo Xpert Carba-R. No se muestran todas las combinaciones de resultados posibles con los cinco analitos diana.

Tabla 1. Resultados representativos del ensayo Xpert Carba-R, con sus interpretaciones

Resultado	Interpretación
IMP DETECTADO (IMP DETECTED); VIM NO DETECTADO (VIM NOT DETECTED); NDM NO DETECTADO (NDM NOT DETECTED); KPC NO DETECTADO (KPC NOT DETECTED); OXA48 NO DETECTADO (OXA48 NOT DETECTED) Consulte la Figura 5.	Se ha detectado la secuencia de ADN diana de IMP; no se han detectado las secuencias de ADN diana de VIM, NDM, KPC y OXA-48. <ul style="list-style-type: none"> • La amplificación por PCR del ADN diana de IMP arroja un valor de Ct dentro del rango válido y un criterio de valoración de fluorescencia por encima del valor umbral configurado; las secuencias de ADN diana de VIM, NDM, KPC y OXA-48 están ausentes o por debajo del nivel de detección del ensayo. • SPC: No aplicable. El SPC se omite porque la amplificación de ADN diana de IMP pueden competir con este control. • PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación. • Las estrategias terapéuticas que incluyan antimicrobianos, tales como las combinaciones de betalactámicos e inhibidores de betalactamasas con actividad limitada o nula contra las bacterias productoras de metalobetalactamasas, deben utilizarse con cautela. Los resultados del ensayo Xpert Carba-R que muestren la presencia de genes de metalobetalactamasas <i>bla</i>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM}, y <i>bla</i>_{NDM} de colonias puras de los microorganismos indicados pueden ayudar a determinar una estrategia terapéutica para los pacientes que se sepa o se sospeche que tengan infecciones bacterianas no sensibles a los carbapenemos.

Tabla 1. Resultados representativos del ensayo Xpert Carba-R, con sus interpretaciones (continuación)

Resultado	Interpretación
<p>IMP NO DETECTADO (IMP NOT DETECTED); VIM DETECTADO (VIM DETECTED); NDM NO DETECTADO (NDM NOT DETECTED); KPC NO DETECTADO (KPC NOT DETECTED); OXA48 NO DETECTADO (OXA48 NOT DETECTED)</p> <p>Consulte la Figura 6.</p>	<p>Se ha detectado la secuencia de ADN diana de VIM; no se han detectado las secuencias de ADN diana de IMP, NDM, KPC y OXA-48.</p> <ul style="list-style-type: none"> • La amplificación por PCR del ADN diana de VIM arroja un valor de Ct dentro del rango válido y un criterio de valoración de fluorescencia por encima del valor umbral configurado; las secuencias de ADN diana de IMP, NDM, KPC y OXA-48 están ausentes o por debajo del nivel de detección del ensayo. • SPC: No aplicable. El SPC se omite porque la amplificación de ADN diana de VIM puede competir con este control. • PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación. • Las estrategias terapéuticas que incluyan antimicrobianos, tales como las combinaciones de betalactámicos e inhibidores de betalactamasas con actividad limitada o nula contra las bacterias productoras de metalobetalactamasas, deben utilizarse con cautela. Los resultados del ensayo Xpert Carba-R que muestren la presencia de genes de metalobetalactamasas <i>bla</i>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} y <i>bla</i>_{NDM} de colonias puras de los microorganismos indicados pueden ayudar a determinar una estrategia terapéutica para los pacientes que se sepa o se sospeche que tengan infecciones bacterianas no sensibles a los carbapenemos.
<p>IMP NO DETECTADO (IMP NOT DETECTED); VIM DETECTADO (VIM DETECTED); NDM DETECTADO (NDM DETECTED); KPC NO DETECTADO (KPC NOT DETECTED); OXA48 NO DETECTADO (OXA48 NOT DETECTED)</p> <p>Consulte la Figura 7.</p>	<p>Se han detectado las secuencias de ADN diana de VIM y NDM; no se han detectado las secuencias de ADN diana de IMP, KPC y OXA-48.</p> <ul style="list-style-type: none"> • La amplificación por PCR de ADN diana de VIM y NDM arroja valores de Ct dentro de los rangos válidos y criterios de valoración de fluorescencia por encima de los valores umbral configurados; las secuencias de ADN diana de IMP, KPC y OXA-48 están ausentes o por debajo del nivel de detección del ensayo. • SPC: No aplicable. El SPC se omite porque las amplificaciones de ADN diana de VIM y NDM pueden competir con este control. • PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación. • Las estrategias terapéuticas que incluyan antimicrobianos, tales como las combinaciones de betalactámicos e inhibidores de betalactamasas con actividad limitada o nula contra las bacterias productoras de metalobetalactamasas, deben utilizarse con cautela. Los resultados del ensayo Xpert Carba-R que muestren la presencia de genes de metalobetalactamasas <i>bla</i>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} y <i>bla</i>_{NDM} de colonias puras de los microorganismos indicados pueden ayudar a determinar una estrategia terapéutica para los pacientes que se sepa o se sospeche que tengan infecciones bacterianas no sensibles a los carbapenemos.
<p>IMP DETECTADO (IMP DETECTED); VIM NO DETECTADO (VIM NOT DETECTED); NDM DETECTADO (NDM DETECTED); KPC NO DETECTADO (KPC NOT DETECTED); OXA48 NO DETECTADO (OXA48 NOT DETECTED)</p> <p>Consulte la Figura 8.</p>	<p>Se han detectado las secuencias de ADN diana de IMP y NDM; no se han detectado las secuencias de ADN diana de VIM, KPC y OXA-48.</p> <ul style="list-style-type: none"> • La amplificación por PCR de ADN diana de IMP y NDM arroja valores de Ct dentro de los rangos válidos y criterios de valoración de fluorescencia por encima de los valores umbral configurados; las secuencias de ADN diana de VIM, KPC y OXA-48 están ausentes o por debajo del nivel de detección del ensayo. • SPC: No aplicable. El SPC se omite porque las amplificaciones de ADN diana de IMP y NDM pueden competir con este control. • PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación. • Las estrategias terapéuticas que incluyan antimicrobianos, tales como las combinaciones de betalactámicos e inhibidores de betalactamasas con actividad limitada o nula contra las bacterias productoras de metalobetalactamasas, deben utilizarse con cautela. Los resultados del ensayo Xpert Carba-R que muestren la presencia de genes de metalobetalactamasas <i>bla</i>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} y <i>bla</i>_{NDM} de colonias puras de los microorganismos indicados pueden ayudar a determinar una estrategia terapéutica para los pacientes que se sepa o se sospeche que tengan infecciones bacterianas no sensibles a los carbapenemos.

Tabla 1. Resultados representativos del ensayo Xpert Carba-R, con sus interpretaciones (continuación)

Resultado	Interpretación
<p>IMP DETECTADO (IMP DETECTED); VIM DETECTADO (VIM DETECTED); NDM NO DETECTADO (NDM NOT DETECTED); KPC NO DETECTADO (KPC NOT DETECTED); OXA48 DETECTADO (OXA48 DETECTED)</p> <p>Consulte la Figura 9.</p>	<p>Se han detectado las secuencias de ADN diana de IMP, VIM y OXA-48; no se han detectado las secuencias de ADN diana de NDM y KPC.</p> <ul style="list-style-type: none"> • La amplificación por PCR de ADN diana de IMP, VIM y OXA-48 arroja valores de Ct dentro de los rangos válidos y criterios de valoración de fluorescencia por encima de los valores umbral configurados; las secuencias de ADN diana de KPC y NDM están ausentes o por debajo del nivel de detección del ensayo. • SPC: No aplicable. El SPC se omite porque las amplificaciones de ADN diana de IMP, VIM y OXA-48 pueden competir con este control. • PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación. • Las estrategias terapéuticas que incluyan antimicrobianos, tales como las combinaciones de betalactámicos e inhibidores de betalactamasas con actividad limitada o nula contra las bacterias productoras de metalobetalactamasas, deben utilizarse con cautela. Los resultados del ensayo Xpert Carba-R que muestren la presencia de genes de metalobetalactamasas <i>bla</i>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} y <i>bla</i>_{NDM} de colonias puras de los microorganismos indicados pueden ayudar a determinar una estrategia terapéutica para los pacientes que se sepa o se sospeche que tengan infecciones bacterianas no sensibles a los carbapenemos.
<p>IMP DETECTADO (IMP DETECTED); VIM DETECTADO (VIM DETECTED); NDM DETECTADO (NDM DETECTED); KPC NO DETECTADO (KPC NOT DETECTED); OXA48 DETECTADO (OXA48 DETECTED)</p> <p>Consulte la Figura 10.</p>	<p>Se han detectado las secuencias de ADN diana de IMP, VIM, NDM y OXA-48; no se ha detectado la secuencia de ADN diana de KPC.</p> <ul style="list-style-type: none"> • La amplificación por PCR de ADN diana de IMP, VIM, NDM y OXA-48 arroja valores de Ct dentro de los rangos válidos y criterios de valoración de fluorescencia por encima de los valores umbral configurados; la secuencia de ADN diana de KPC está ausente o por debajo del nivel de detección del ensayo. • SPC: No aplicable. El SPC se omite porque las amplificaciones de ADN diana de IMP, VIM, NDM y OXA-48 pueden competir con este control. • PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación. • Las estrategias terapéuticas que incluyan antimicrobianos, tales como las combinaciones de betalactámicos e inhibidores de betalactamasas con actividad limitada o nula contra las bacterias productoras de metalobetalactamasas, deben utilizarse con cautela. Los resultados del ensayo Xpert Carba-R que muestren la presencia de genes de metalobetalactamasas <i>bla</i>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} y <i>bla</i>_{NDM} de colonias puras de los microorganismos indicados pueden ayudar a determinar una estrategia terapéutica para los pacientes que se sepa o se sospeche que tengan infecciones bacterianas no sensibles a los carbapenemos.
<p>IMP DETECTADO (IMP DETECTED); VIM DETECTADO (VIM DETECTED); NDM DETECTADO (NDM DETECTED); KPC DETECTADO (KPC DETECTED); OXA48 DETECTADO (OXA48 DETECTED)</p> <p>Consulte la Figura 11.</p>	<p>Se han detectado las secuencias de ADN diana de IMP, VIM, NDM, KPC y OXA-48.</p> <ul style="list-style-type: none"> • La amplificación por PCR de ADN diana de IMP, VIM, NDM, KPC y OXA-48 arroja valores de Ct dentro de los rangos válidos y criterios de valoración de fluorescencia por encima de los valores umbral configurados. • SPC: No aplicable. El SPC se omite porque las amplificaciones de ADN diana de IMP, VIM, NDM, KPC y OXA-48 pueden competir con este control. • PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación. • Las estrategias terapéuticas que incluyan antimicrobianos, tales como las combinaciones de betalactámicos e inhibidores de betalactamasas con actividad limitada o nula contra las bacterias productoras de metalobetalactamasas, deben utilizarse con cautela. Los resultados del ensayo Xpert Carba-R que muestren la presencia de genes de metalobetalactamasas <i>bla</i>_{IMP}, <i>bla</i>_{VIM} y <i>bla</i>_{NDM} de colonias puras de los microorganismos indicados pueden ayudar a determinar una estrategia terapéutica para los pacientes que se sepa o se sospeche que tengan infecciones bacterianas no sensibles a los carbapenemos.

Tabla 1. Resultados representativos del ensayo Xpert Carba-R, con sus interpretaciones (continuación)

Resultado	Interpretación
IMP NO DETECTADO (IMP NOT DETECTED); VIM NO DETECTADO (VIM NOT DETECTED); NDM NO DETECTADO (NDM NOT DETECTED); KPC NO DETECTADO (KPC NOT DETECTED); OXA48 NO DETECTADO (OXA48 NOT DETECTED) Consulte la Figura 12.	No se han detectado las secuencias de ADN diana de IMP, VIM, NDM, KPC y OXA-48. <ul style="list-style-type: none"> Las secuencias de ADN diana de IMP, VIM, NDM, KPC y OXA-48 están ausentes o por debajo del nivel de detección del ensayo. SPC: SUPERADO (PASS); la amplificación por PCR de la secuencia de ADN de SPC arroja un valor de Ct dentro del rango válido y un criterio de valoración de fluorescencia por encima del valor umbral configurado. PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
NO VÁLIDO (INVALID) Consulte la Figura 13.	No puede determinarse la presencia o ausencia de secuencias de ADN diana de IMP, VIM, NDM, KPC y OXA-48. Utilice las instrucciones del Apartado 14, Procedimiento de repetición de la prueba para repetir la prueba. <ul style="list-style-type: none"> SPC: NO SUPERADO (FAIL); ausencia de amplificación por PCR de la secuencia de ADN de SPC o el Ct del SPC no está dentro del rango válido y el criterio de valoración de fluorescencia está por debajo del valor umbral configurado. PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
ERROR	No puede determinarse la presencia o ausencia de secuencias de ADN diana de IMP, VIM, NDM, KPC y OXA-48. Utilice las instrucciones del Apartado 14, Procedimiento de repetición de la prueba para repetir la prueba. <ul style="list-style-type: none"> SPC: SIN RESULTADO (NO RESULT) PCC: NO SUPERADO (FAIL)*; uno o más de los resultados de la comprobación de la sonda no superaron la comprobación. El PCC falló, debido probablemente a que el tubo de reacción no se llenó correctamente o se detectó un problema de integridad de la sonda. * Si la comprobación de la sonda se superó, el error se debe a un fallo de los componentes del sistema.
SIN RESULTADO (NO RESULT)	No puede determinarse la presencia o ausencia de secuencias de ADN diana de IMP, VIM, NDM, KPC y OXA-48. Utilice las instrucciones del Apartado 14, Procedimiento de repetición de la prueba para repetir la prueba. No se obtuvieron suficientes datos para producir un resultado de la prueba (por ejemplo, el usuario paró la prueba que estaba en curso o se produjo un corte del suministro eléctrico). <ul style="list-style-type: none"> SPC: SIN RESULTADO (NO RESULT) PCC: No corresponde



Figura 5. Ensayo Carba-R – IMP detectado

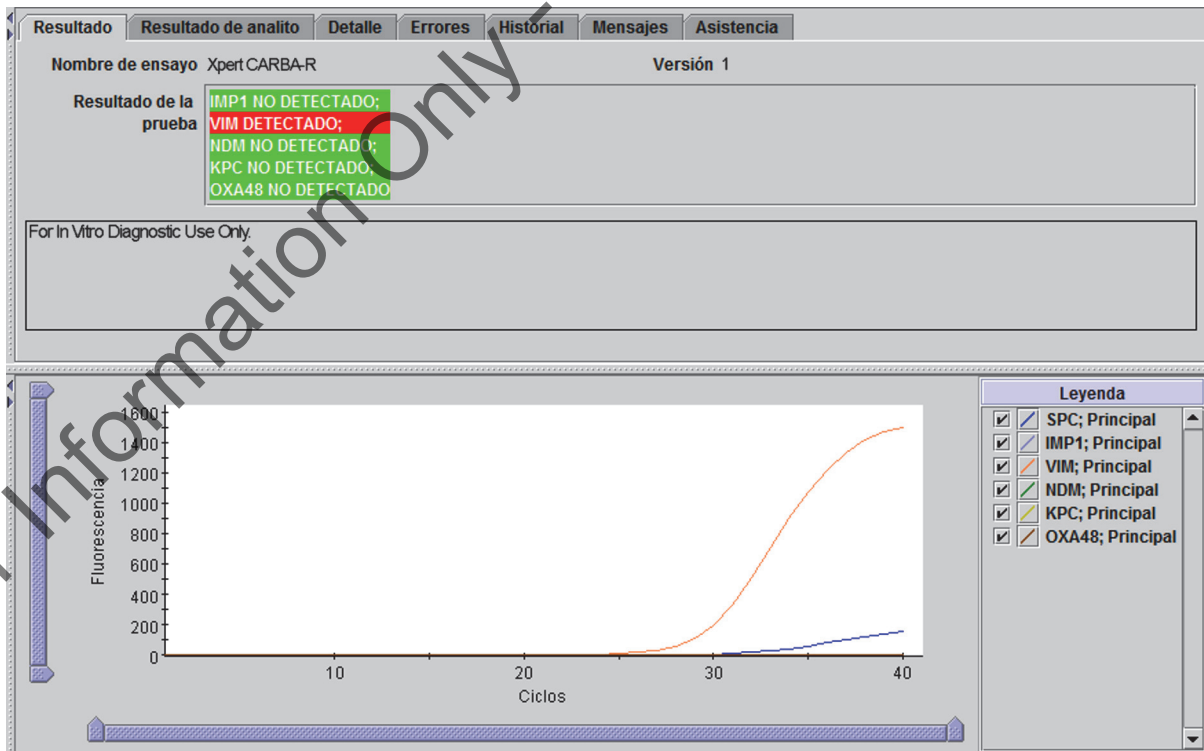


Figura 6. Ensayo Carba-R – VIM detectado

Nota No se muestran ejemplos de muestras positivas para NDM, positivas para KPC y positivas para OXA.

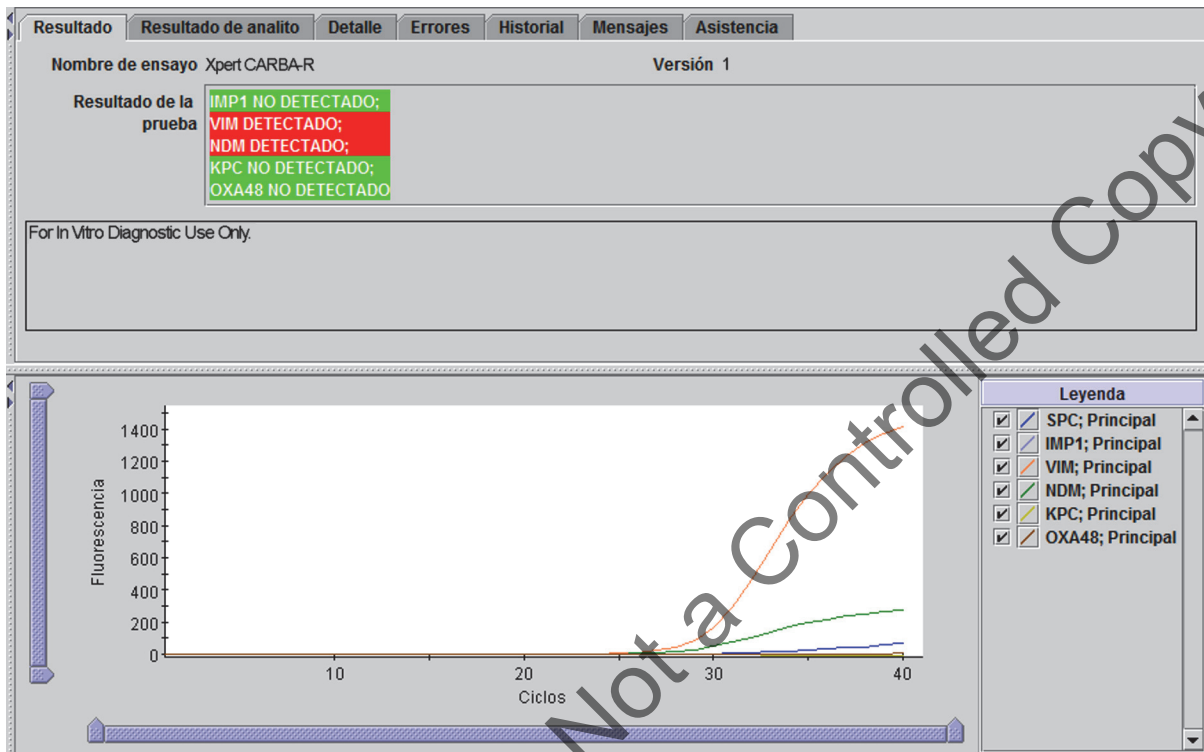


Figura 7. Ensayo Carba-R – VIM y NDM detectados

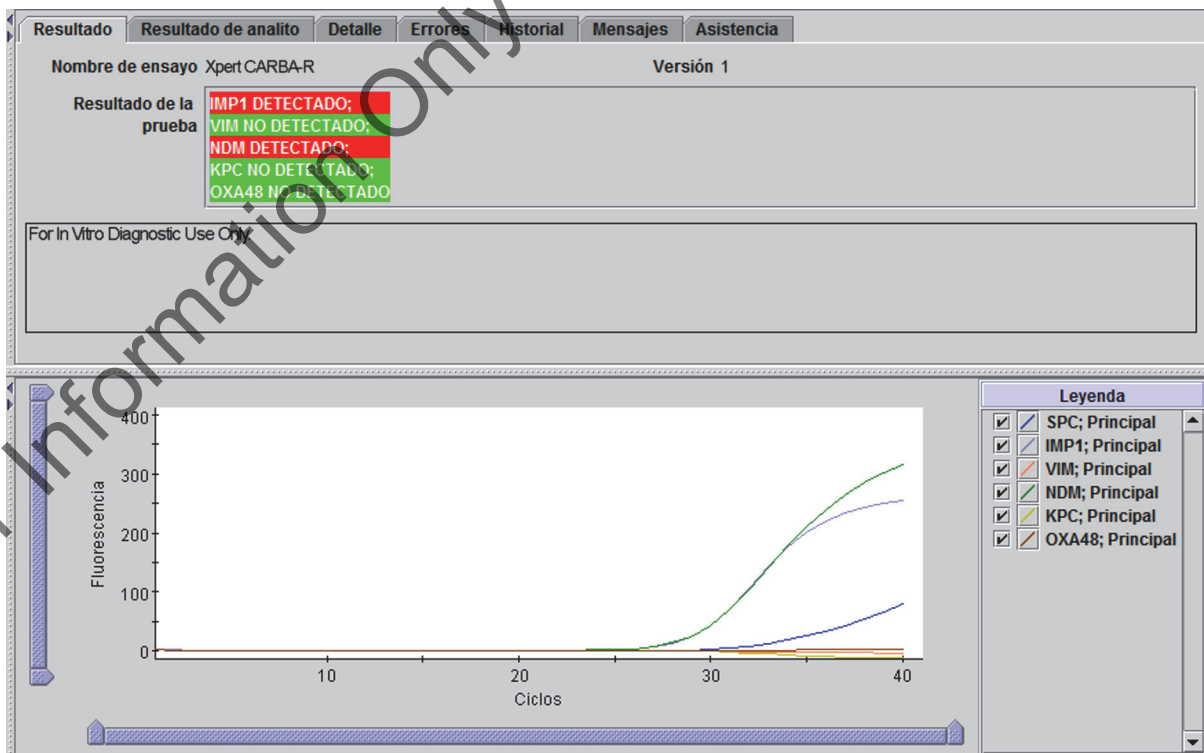


Figura 8. Ensayo Carba-R – IMP y NDM detectados

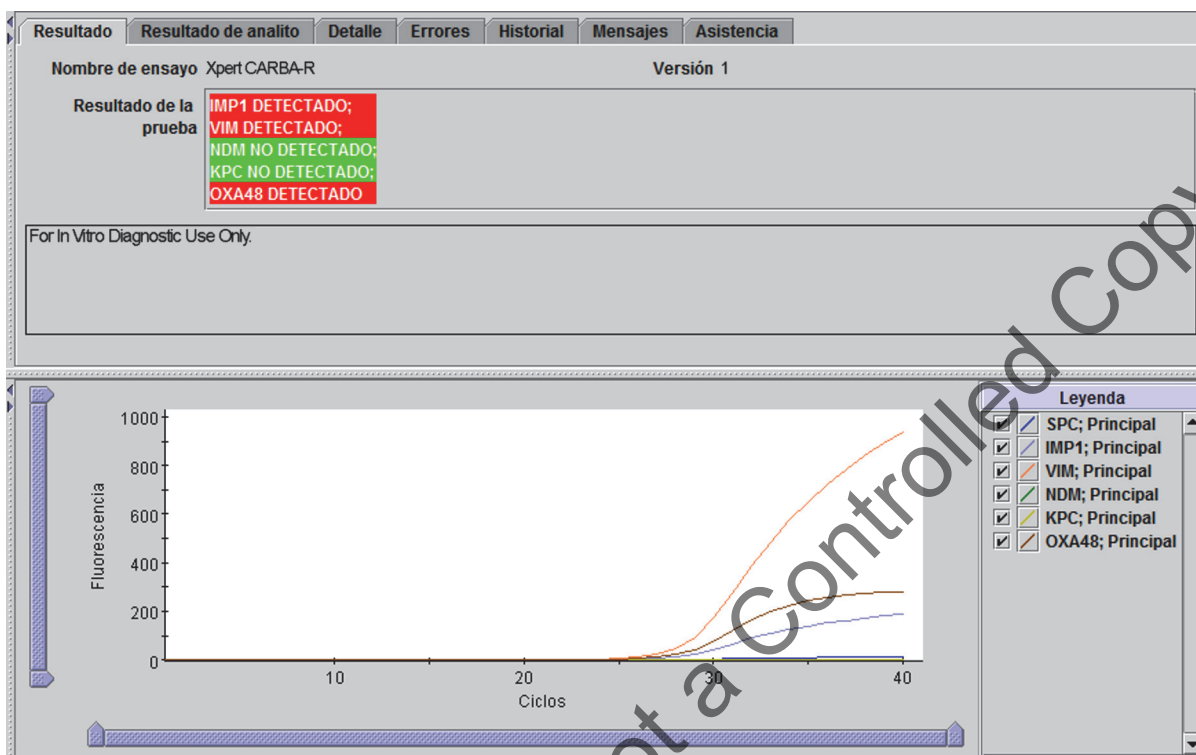


Figura 9. Ensayo Carba-R – IMP, VIM y OXA-48 detectados

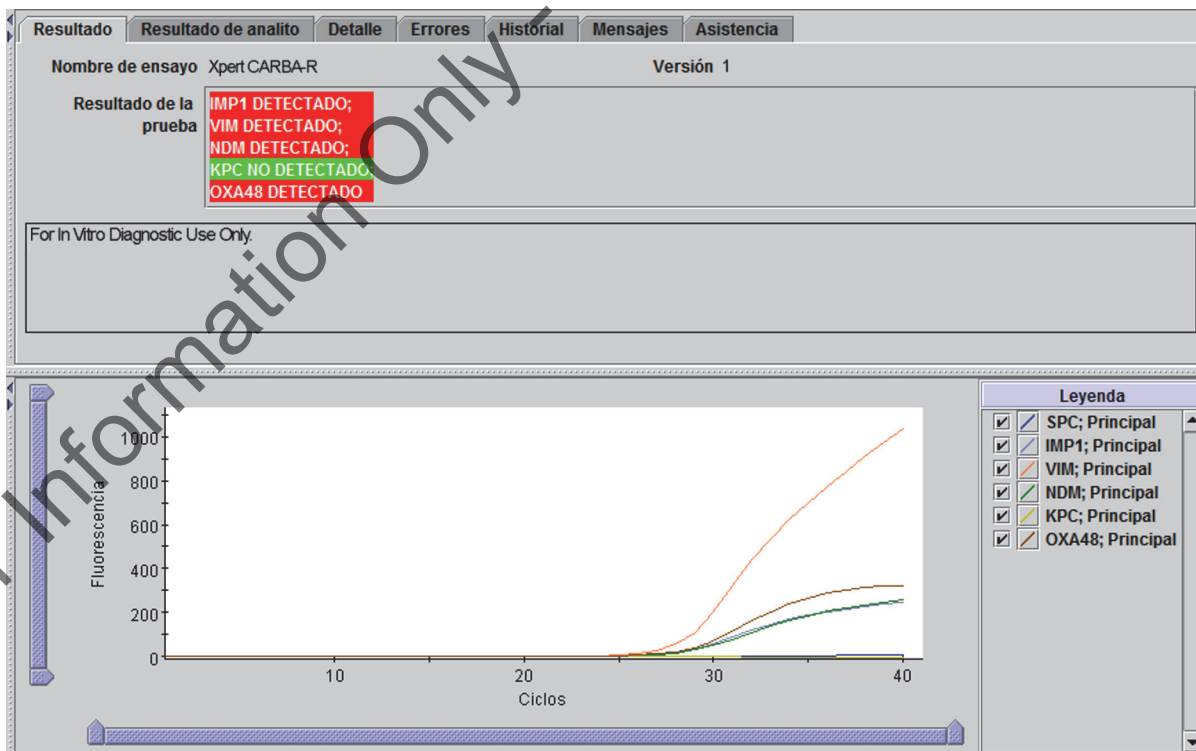


Figura 10. Ensayo Carba-R – IMP, VIM, NDM y OXA-48 detectados



Figura 11. Ensayo Carba-R – IMP, VIM, NDM, KPC y OXA-48 detectados

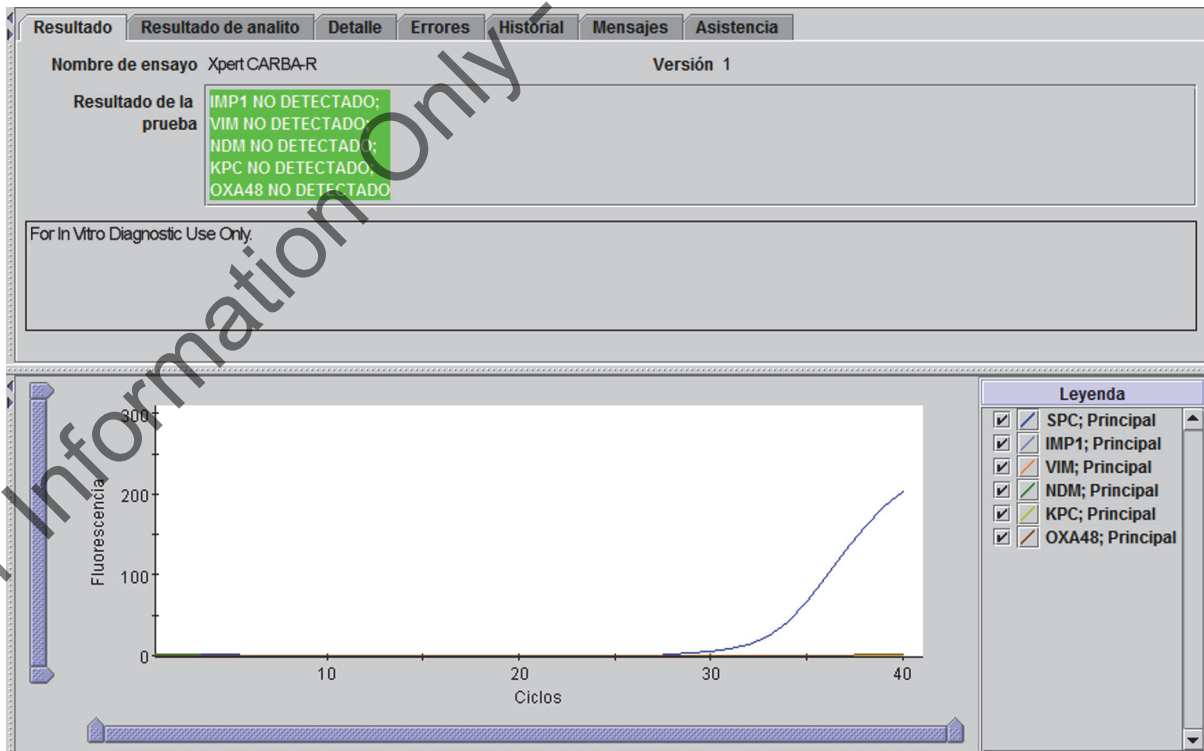


Figura 12. Ensayo Carba-R – IMP, VIM, NDM, KPC y OXA-48 no detectados

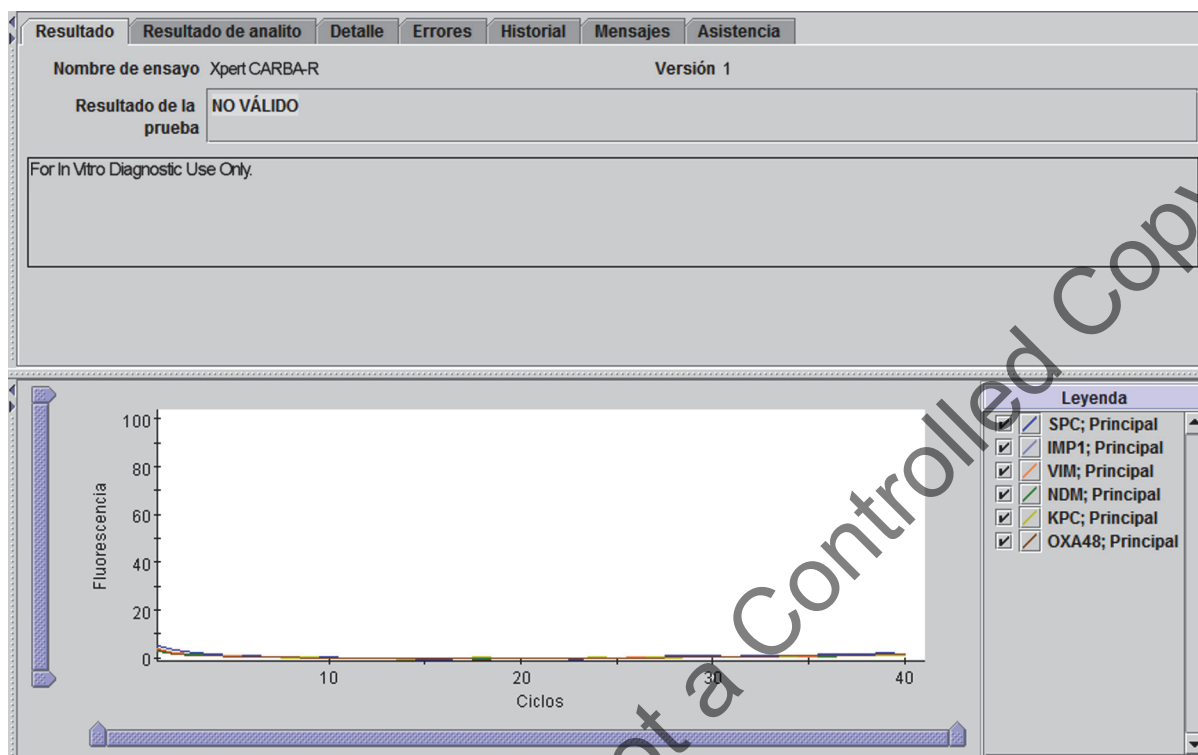


Figura 13. Ensayo Carba-R – No válido

13 Razones para repetir la prueba

Repita la prueba con un cartucho nuevo (no vuelva a utilizar el cartucho) y un frasco de reactivo para muestras nuevo. Para obtener información sobre el procedimiento de repetición de la prueba, consulte el Apartado 14, Procedimiento de repetición de la prueba.

- Un resultado **NO VÁLIDO (INVALID)** indica que el control SPC no superó la comprobación. La muestra no se procesó correctamente, la PCR se inhibió o el volumen de muestra añadido era inadecuado.
- Un resultado de **ERROR** indica que el control de comprobación de la sonda no superó la comprobación y que el ensayo 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, a que se excedieron los límites máximos de presión o a que se detectó un error de posición de una válvula.
- **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.
- Si un control externo deja de actuar según lo esperado, repita la prueba con el control externo o póngase en contacto con el Servicio técnico de Cepheid para recibir asistencia.

14 Procedimiento de repetición de la prueba

14.1 Procedimiento de repetición de prueba de muestras de hisopos rectales y perirectales

1. Extraiga un cartucho nuevo, un frasco de reactivo para muestras nuevo y una pipeta de transferencia nueva del kit.
2. Retire el hisopo restante del recipiente de transporte.
3. Inserte el hisopo en un nuevo frasco de reactivo para muestras. 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 por la marca rayada y acortar el hisopo lo suficiente para permitir que quepa en el frasco y que la tapa pueda cerrarse firmemente.
4. Tape bien el frasco de reactivo para muestras nuevo y agítelo en el mezclador vórtex a alta velocidad durante 10 segundos.
5. Abra la tapa del cartucho. Utilizando la pipeta de transferencia suministrada, aspire el reactivo para muestras hasta la marca de la pipeta; a continuación, transfiera el material al interior de la cámara de muestras del cartucho del ensayo Xpert Carba-R.
6. Cierre la tapa del cartucho y coloque este en el instrumento GeneXpert en los 30 minutos siguientes. Siga el Apartado 10.2, Inicio de la prueba.

14.2 Procedimiento de repetición de la prueba de muestras de aislados bacterianos

1. Extraiga un cartucho nuevo, un frasco de reactivo para muestras nuevo y una pipeta de transferencia nueva del kit.
2. Transfiera todo el contenido de muestra que quede en el frasco de reactivo para muestras al frasco de reactivo para muestras nuevo.
3. Tape bien el frasco de reactivo para muestras nuevo y agítelo en el mezclador vórtex a alta velocidad durante 10 segundos.
4. Abra la tapa del cartucho. Utilizando la pipeta de transferencia suministrada, aspire el reactivo para muestras hasta la marca de la pipeta; a continuación, transfiera el material al interior de la cámara de muestras del cartucho del ensayo Xpert Carba-R.
5. Cierre la tapa del cartucho y coloque este en el instrumento GeneXpert en los 30 minutos siguientes. Siga el Apartado 10.2, Inicio de la prueba.

Nota

Para aislados bacterianos, no realice el procedimiento de repetición de la prueba más de una vez, ya que las diluciones repetidas pueden arrojar resultados negativos falsos.

15 Limitaciones

15.1 Limitaciones generales

- El ensayo Xpert Carba-R detecta *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} y *bla*_{IMP} de muestras de hisopos rectales y perirectales y de colonias puras, y no está pensado para la identificación bacteriana. La detección de estas secuencias de genes no indica la presencia de microorganismos viables.
- El ensayo Xpert Carba-R no es una herramienta de subtipificación y no informa de variantes de los genes *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{NDM}, *bla*_{KPC} o *bla*_{OXA-48}.
- Se ha demostrado que ciertas especies de bacterias, como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*, muestran resistencia a los carbapenemos debido a mecanismos de resistencia intrínsecos.
- La detección de otros genes de OXA-carbapenemasa, aparte de *bla*_{OXA-48} y *bla*_{OXA-181}, no se ha evaluado en el estudio.
- Los análisis *in silico* utilizados para predecir las variantes detectadas por el ensayo se basaron en una comparación de secuencias de los genes diana disponibles en GenBank con la secuencia del amplicón y los oligonucleótidos cebador/sonda del ensayo Xpert Carba-R de cada diana de gen. En 2014-2015 se realizaron búsquedas BLAST de análisis *in silico*. No se han realizado análisis *in silico* de nuevas variantes de secuencias de los cinco genes diana depositadas en la base de datos después de 2015.
- Las mutaciones o los polimorfismos en las regiones de unión de los cebadores o las sondas pueden afectar a la detección de variantes actuales, nuevas o desconocidas de *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} y *bla*_{IMP}, y hacer que se obtenga un resultado negativo falso.
- El ensayo Xpert Carba-R generará un resultado negativo para IMP al analizar muestras que contiene secuencias de genes IMP-7, IMP-13 o IMP-14.
- Se desconoce la eficacia del ensayo Xpert Carba-R con genes de carbapenemasa no diana, distintos de *bla*_{SPM}, *bla*_{SME} y *bla*_{IMI}.
- Dado que la detección de secuencias de genes *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} y *bla*_{IMP} depende del número de microorganismos presentes en la muestra, la fiabilidad de los resultados dependerá de la manipulación y conservación correctas de las muestras.
- La prueba con el Xpert Carba-R deberá utilizarse como complemento de otros métodos disponibles.
- En ocasiones, el ensayo Xpert Carba-R puede dar resultados **NO VÁLIDOS (INVALID)** debido a un control SPC que no supere la comprobación, o llevar a una situación de **ERROR** o **SIN RESULTADO (NO RESULT)**, y obligar a repetir la prueba, lo que puede provocar un retraso en la obtención de los resultados finales.

15.2 Limitaciones de las muestras rectales y perirrectales

- No se ha evaluado la eficacia del ensayo Xpert Carba-R con muestras de hisopos rectales o perirrectales de pacientes pediátricos.
- Los estudios analíticos que utilizan combinaciones de dos poblaciones bacterianas en las muestras de hisopos artificiales indican que cuando una especie bacteriana productora de carbapenemasa se inocula próximo al LD y otra especie bacteriana productora de carbapenemasa está presente en concentraciones iguales o mayores a 5×10^6 UFC/hisopo, es posible que no se detecte la diana de baja concentración. Se ha informado de colonización simultánea con dos o más microorganismos productores de carbapenemasa con el ensayo Xpert Carba-R, pero es raro. La falta de detección de una segunda diana debe tener un impacto mínimo en el tratamiento del paciente, ya que los procedimientos de aislamiento se deben establecer para los pacientes que muestran cualquier resultado positivo para un microorganismo productor de carbapenemasa.
- Se pueden observar interferencias con el ensayo Xpert Carba-R con sulfato de bario a una concentración de $>0,1\%$ p/v y Pepto-Bismol a $>0,01\%$ p/v en pruebas con muestras de matriz de hisopos rectales.
- Se pueden observar interferencias con el ensayo Xpert Carba-R con sulfato de bario a una concentración de $>0,1\%$ p/v y Pepto-Bismol a una concentración de $>0,025\%$ p/v en pruebas con muestras de matriz de hisopos perirrectales.
- En las muestras de hisopos rectales que contienen la diana VIM, la interferencia puede ocurrir si la grasa fecal está presente a concentraciones de $0,25\%$ p/v, lo que produce valores de umbral del ciclo demorado.
- Además de los grupos de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* analizados en el estudio artificial, también se evaluaron otros no *Enterobacteriaceae*: *Pseudomonas stutzeri* (1), *Pseudomonas oryzihabitans* (1), *Pseudomonas putida* (2) y *Empedobacter brevis* (1). No se ha evaluado la eficacia del ensayo Xpert Carba-R con otras no *Enterobacteriaceae* aparte de estas seis especies y, por tanto, no se conoce.
- Con las muestras de hisopos rectales, el ensayo Xpert Carba-R mostró un porcentaje de concordancia positiva reducido (PPA de $55,6\%$) para la detección de la secuencia de genes *bla*_{VIM} en *Pseudomonas aeruginosa*. Se observaron cuatro (4) resultados negativos falsos con el ensayo en muestras en las que se recuperaron *Pseudomonas aeruginosa* que contenían la secuencia *bla*_{VIM} mediante el método de referencia.
- Con las muestras de hisopos rectales, el ensayo Xpert Carba-R mostró un porcentaje de concordancia positiva reducido (PPA de $85,7\%$) para la detección de la secuencia de genes *bla*_{IMP} en *Acinetobacter baumannii* durante el estudio artificial. Además, se observó un porcentaje de concordancia total bajo ($86,1\%$) entre centros para el Estudio de Reproducibilidad con muestras con concentraciones bajas de microorganismos que albergan la secuencia de genes *bla*_{IMP}.
- El ensayo Xpert Carba-R no ha evaluado los anaerobios resistentes a los carbapenemos potencialmente presentes en muestras fecales.
- La detección de *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} y/o *bla*_{IMP} de muestras de hisopos rectales y perirrectales puede proceder de microorganismos distintos de *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*.
- No se ha evaluado totalmente la eficacia del ensayo Xpert Carba-R con aislados sensibles que contienen las secuencias de genes de *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48}, y/o *bla*_{IMP}.

15.3 Limitaciones de las colonias puras

- Para las colonias puras, la eficacia del ensayo Xpert Carba-R con bacterias distintas a *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* o *Acinetobacter baumannii* no se ha evaluado. Los microorganismos deben identificarse y la condición de ausencia de sensibilidad a los carbapenemos debe determinarse antes de realizar pruebas con el ensayo Xpert Carba-R.
- La prueba puede arrojar resultados erróneos debido a técnicas de cultivo incorrectas, al incumplimiento de los procedimientos recomendados para la preparación de la suspensión McFarland 0,5 y para la manipulación y la conservación, a un error técnico, a la confusión de la muestra o a que el número de microorganismos contenidos en la muestra es demasiado bajo para que la prueba lo detecte. El estricto cumplimiento de las instrucciones de este prospecto es necesario para evitar resultados erróneos.

16 Valores esperados

En el estudio clínico del ensayo Xpert Carba-R, se evaluó un total de 2543 muestras, que incluían muestras de hisopos rectales y perirrectales y muestras artificiales, en 8 centros de estudio dentro y fuera de Estados Unidos. Resultados del ensayo Xpert Carba-R comparados con el análisis de secuenciación bidireccional de ADN por gen diana y en cultivo para cada una de las muestras combinadas prospectivas y artificiales se presenta en la Tabla 2.

En el estudio clínico del ensayo Xpert Carba-R separado, se evaluó un total de 467 aislados bacterianos en 4 centros de estudio de dentro y fuera de Estados Unidos. Los resultados del ensayo Xpert Carba-R comparados con el análisis de secuenciación bidireccional de ADN por gen diana para cada uno de los dos tipos de agar, se presentan en la Tabla 8, la Tabla 9, la Tabla 10, la Tabla 11 y la Tabla 12.

17 Eficacia diagnóstica

17.1 Eficacia clínica - Muestras de hisopos rectales y perirrectales

La eficacia diagnóstica del ensayo Xpert Carba-R con muestras de hisopos rectales y perirrectales se determinó en un estudio de investigación multicéntrico. El porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el porcentaje de concordancia negativa (NPA) del ensayo Xpert Carba-R se evaluó en relación a un método de referencia de análisis de secuenciación de ADN bidireccional/PCR y en cultivo (caldo de enriquecimiento MacConkey).

Ocho centros de distintos lugares (seis en Estados Unidos y dos en Europa) recogieron prospectivamente muestras de pares de hisopos rectales o perirrectales de pacientes hospitalizados o en centros sanitarios de cuidados prolongados. Se excluyeron del estudio las muestras de hisopos rectales y perirrectales muy contaminados, según las indicaciones del apartado 9 (Preparación y conservación de muestras). Debido a la baja prevalencia de cada uno de los genes diana del ensayo Xpert Carba-R en ausencia de un brote, en el estudio se incluyeron también muestras artificiales.

Un hisopo del par fue utilizado para las pruebas del ensayo Xpert Carba-R. El segundo hisopo se inoculó a un caldo de enriquecimiento MacConkey y se usó para las pruebas del método de referencia. Un laboratorio de cultivo de referencia determinó la presencia de microorganismos no sensibles a los carbapenemos cultivando en el caldo de enriquecimiento MacConkey de cada una de las muestras. El caldo de enriquecimiento MacConkey fue examinado para detectar la presencia de microorganismos no sensibles a los carbapenemos al principio colocando el caldo sobre placas de agar MacConkey con un disco de meropenem. Para muestras que mostraban una proliferación de bacterias gram-negativas alrededor del disco de meropenem, se determinó la confirmación de no sensibilidad a los carbapenemos en colonias aisladas usando el método de difusión en disco (por documento M02 del CLSI), así como el documento M100 del CLSI.²⁰ El ADN extraído de aislados no sensibles a los carbapenemos fue purificado, cuantificado y amplificado usando cebadores específicos para todos los 5 genes dianas; las regiones amplificadas incluían más bases que las regiones amplificadas por el ensayo Xpert Carba-R. La producción del tamaño adecuado del producto de amplificación se confirmó en el Bioanalyzer Agilent 2100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE. UU.).

Si las bandas mostradas en el bioanalyzer se correspondieron con el tamaño esperado del amplicón de alguno de los cinco genes diana detectados por el ensayo Xpert Carba-R, el amplicón del aislado se envió a un laboratorio independiente para el análisis de secuenciación bidireccional de referencia, que se validó para la detección de las cinco dianas del ensayo Xpert Carba-R. Si el bioanalyzer no mostró bandas para ninguno de los cinco genes diana, el aislado no se envió para el análisis de secuencias y el resultado del método de referencia se consideró negativo para los cinco genes diana.

Resultados de muestras prospectivas obtenidas con el ensayo Xpert Carba-R en comparación con el método de referencia

Este estudio clínico incluyó inicialmente un total de 802 muestras de hisopos rectales prospectivas, de las cuales 785 reunían los requisitos para su inclusión. De las 785 muestras que reunían los requisitos, 755 muestras se incluyeron en el conjunto final de datos después de las exclusiones basadas en las desviaciones del protocolo (incluidos 16 microorganismos *Stenotrophomonas maltophilia* que se excluyeron debido a su resistencia intrínseca a los carbapenemos probados).

Este estudio clínico incluyó inicialmente un total de 963 muestras de hisopos perirrectales prospectivas, de las cuales 947 reunían los requisitos para su inclusión. De las 947 muestras que reunían los requisitos, 924 muestras se incluyeron en el conjunto final de datos después de las exclusiones basadas en las desviaciones del protocolo (incluidos 10 microorganismos *Stenotrophomonas maltophilia*, uno *Pseudomonas putida* y uno *Pseudomonas stutzeri* que se excluyeron debido a los criterios del diseño del estudio).

Cuando se analizó con las muestras de hisopos rectales prospectivas, el ensayo Xpert Carba-R demostró un intervalo PPA de 60,0 % a 100 % para las cuatro dianas del ensayo (*bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}*, y *bla_{OXA-48}*) en relación con el método de referencia (Tabla 2). En el caso de las secuencias de los genes *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-48}* y *bla_{IMP}*, el NPA osciló entre 98,6 %-99,9 % en relación con el método de referencia (Tabla 2).

Cuando se analizó con las muestras de hisopos perirrectales prospectivas, el ensayo Xpert Carba-R demostró un PPA de 100 % para las tres dianas del ensayo (*bla_{NDM}*, *bla_{KPC}* y *bla_{OXA-48}*) en relación con el método de referencia. En el caso de las secuencias de los genes *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-48}* y *bla_{IMP}*, el NPA osciló entre 99,6 %-100 % en relación con el método de referencia (Tabla 2).

Con las muestras de hisopos rectales y perirrectales prospectivas combinadas, el ensayo Xpert Carba-R demostró un intervalo PPA de 60,0 % a 100 % para las cuatro dianas del ensayo (*bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}*, y *bla_{OXA-48}*) en relación con el método de referencia (Tabla 2). En el caso de las secuencias de los genes *bla_{KPC}*, *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-48}* y *bla_{IMP}*, el NPA osciló entre 99,3 %-99,9 % en relación con el método de referencia (Tabla 2).

Para las muestras con resultados discordantes (el ensayo Xpert Carba-R era positivo para un gen diana pero no se aisló un microorganismo no sensible a los carbapenemos mediante el cultivo de referencia), el análisis discordante se realizó usando secuenciación bidireccional en ADN extraído directamente del caldo de enriquecimiento MacConkey. Los resultados de los análisis de discrepancias se indican en las notas al pie de la Tabla 2.

Tabla 2. Eficacia del Xpert Carba-R frente a cultivo de referencia + secuenciación - muestras prospectivas

Tipo de muestra	Diana	N	PV	PF	NV	NF	PPA (IC del 95 %)	NPA (IC del 95 %)
Rectal ^a	IMP	755	0	1 ^b	754	0	NA	99,9 % (99,3-100)
	VIM	755	6	8 ^c	737	4	60,0 % (31,3-83,2)	98,9 % (97,9-99,5)
	NDM	755	7	3 ^d	745	0	100 % (64,6-100)	99,6 % (98,8-99,9)
	KPC	755	29	6 ^{e,f}	720	0	100 % (88,3-100)	99,2 % (98,2-99,6)
	OXA-48	755	29	10 ^g	715	1	96,7 % (83,3-99,4)	98,6 % (97,5-99,2)
Perirrectal ^h	IMP	924	0	0	924	0	NA	100 % (99,6-100)
	VIM	924	0	0	924	0	NA	100 % (99,6-100)
	NDM	924	1	0	923	0	100 % (20,7-100)	100 % (99,6-100)
	KPC	924	2	4 ⁱ	918	0	100 % (34,2-100)	99,6 % (98,9-99,8)
	OXA-48	924	1	1 ^j	922	0	100 % (20,7-100)	99,9 % (99,4-100)
Combinada ^{a,h}	IMP	1679	0	1 ^b	1678	0	NA	99,9 % (99,7-100)
	VIM	1679	6	8 ^c	1661	4	60,0 % (31,3-83,2)	99,5 % (99,1-99,8)
	NDM	1679	8	3 ^d	1668	0	100 % (67,6-100)	99,8 % (99,5-99,9)
	KPC	1679	31	10 ^k	1638	0	100 % (89,0-100)	99,4 % (98,9-99,7)
	OXA-48	1679	30	11 ^l	1637	1	96,8 % (83,8-99,4)	99,3 % (98,8-99,6)

N = Número, PV = positivo verdadero, PF = positivo falso, NV = negativo verdadero, NF = negativo falso.

- a. De las 755 muestras de hisopos rectales prospectivas evaluadas en el estudio, 636 muestras no produjeron un aislado de cultivo. De las restantes 119 muestras, se recuperaron 112 microorganismos no sensibles a los carbapenemos mediante el cultivo de referencia además de 7 microorganismos sensibles a los carbapenemos [*Pseudomonas aeruginosa* (5); *Escherichia coli* (1), y *Enterobacter cloacae* (1)].
- b. Resultados de las pruebas mediante secuenciación: 1 de 1 dio negativo en IMP.
- c. Resultados de las pruebas mediante secuenciación: 2 de 8 dieron positivo en VIM; 6 de 8 dieron negativo en VIM.
- d. Resultados de las pruebas mediante secuenciación: 1 de 3 dio positivo en NDM; 2 de 3 dieron negativo en NDM.
- e. Resultados de las pruebas mediante secuenciación: 1 de 6 dio positivo en KPC; 5 de 6 dieron negativo en KPC.
- f. El centro informó que el paciente recibía ertapenem durante el tiempo de la recogida de muestras.
- g. Resultados de las pruebas mediante secuenciación: 3 de 10 dieron positivo en OXA-48; 7 de 10 dieron negativo en OXA-48.
- h. De las 924 muestras de hisopos perirrectales prospectivas evaluadas en el estudio, 891 muestras no produjeron un aislado de cultivo. De las restantes 33 muestras, se recuperaron 31 microorganismos no sensibles a los carbapenemos mediante el cultivo de referencia, además de dos microorganismos sensibles a los carbapenemos (*Pseudomonas aeruginosa*).
- i. Resultados de las pruebas mediante secuenciación: 4 de 4 dieron negativo en KPC.
- j. Resultados de las pruebas mediante secuenciación: 1 de 1 dio negativo en OXA-48.
- k. Resultados de las pruebas mediante secuenciación: 1 de 10 dio positivo en KPC; 9 de 10 dieron negativo en KPC.
- l. Resultados de las pruebas mediante secuenciación: 3 de 11 dieron positivo en OXA-48; 8 de 11 dieron negativo en OXA-48.

La eficacia del ensayo Xpert Carba-R en las muestras rectales y perirrectales prospectivas combinadas se muestra en la Tabla 3 por especies. Solo se incluyen en la Tabla 3 microorganismos para los que al menos se recogió una muestra positiva.

Tabla 3. Eficacia del Xpert Carba-R frente al cultivo de referencia + Secuenciación por tipo de microorganismo - Muestras rectales y perirrectales prospectivas

Especie ^a	Diana	N	PV	PF	NV	NF	PPA (IC del 95 %)	NPA (IC del 95 %)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	IMP	1	0	0	1	0	NA	100 % (20,7-100)
	VIM	1	0	0	1	0	NA	100 % (20,7-100)
	NDM	1	0	0	1	0	NA	100 % (20,7-100)
	KPC	1	1	0	0	0	100 % (20,7-100)	NA
	OXA-48	1	0	0	1	0	NA	100 % (20,7-100)
<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP	4	0	0	4	0	NA	100 % (51,0-100)
	VIM	4	1	0	3	0	100 % (20,7-100)	100 % (43,9-100)
	NDM	4	0	0	4	0	NA	100 % (51,0-100)
	KPC	4	0	0	4	0	NA	100 % (51,0-100)
	OXA-48	4	1	0	3	0	100 % (20,7-100)	100 % (43,9-100)
<i>E. coli</i>	IMP	10	0	0	10	0	NA	100 % (72,3-100)
	VIM	10	0	0	10	0	NA	100 % (72,3-100)
	NDM	10	3	0	7	0	100 % (43,9-100)	100 % (67,6-100)
	KPC	10	2	0	8	0	100 % (34,2-100)	100 % (64,6-100)
	OXA-48	10	3	0	7	0	100 % (43,9-100)	100 % (64,6-100)

Tabla 3. Eficacia del Xpert Carba-R frente al cultivo de referencia + Secuenciación por tipo de microorganismo - Muestras rectales y perirrectales prospectivas (continuación)

Especie ^a	Diana	N	PV	PF	NV	NF	PPA (IC del 95 %)	NPA (IC del 95 %)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	IMP	1	0	0	1	0	NA	100 % (20,7-100)
	VIM	1	0	0	1	0	NA	100 % (20,7-100)
	NDM	1	0	0	1	0	NA	100 % (20,7-100)
	KPC	1	0	0	1	0	NA	100 % (20,7-100)
	OXA-48	1	1	0	0	0	100 % (20,7-100)	NA
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP	63	0	1	62	0	NA	98,4 % (91,5-99,7)
	VIM	63	0	1	62	0	NA	98,4 % (91,5-99,7)
	NDM	63	5	1	57	0	100 % (56,6-100)	98,3 % (90,9-99,7)
	KPC	63	28	1	34	0	100 % (87,9-100)	97,1 % (85,5-99,5)
	OXA-48	63	25	3	34	1	96,2 % (81,1-99,3)	91,9 % (78,7-97,2)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP	58	0	0	58	0	NA	100 % (93,8-100)
	VIM	58	5	0	49	4	55,6 % (26,7-81,1)	100 % (92,7-100)
	NDM	58	0	1	57	0	NA	98,3 % (90,9-99,7)
	KPC	58	0	2	56	0	NA	96,6 % (88,3-99,1)
	OXA-48	58	0	0	58	0	NA	100 % (93,8-100)

a. Se recuperaron *Acinetobacter baumannii* (14) y *Enterobacter amnigenus* (1), pero ni el método de referencia ni el ensayo Xpert Carba-R detectaron secuencias diana en ellas.

El ensayo Xpert Carba-R detectó múltiples dianas en nueve muestras prospectivas. Los detalles se presentan en la Tabla 4, junto con el resultado de la secuenciación discrepante.

Tabla 4. Muestras prospectivas rectales y perirrectales con múltiples dianas detectadas

Muestra	Dianas detectadas por el ensayo Xpert Carba-R	Dianas detectadas por la secuenciación de referencia	Resultados de pruebas discrepantes - Dianas detectadas por la secuenciación de referencia
1	KPC, OXA-48	NEG	NEG
2	VIM, KPC	NEG ^a	NEG ^a
3	VIM, OXA-48	OXA-48	OXA-48
4	KPC, OXA-48	KPC	KPC, OXA-48
5	NDM, OXA-48	NDM	NDM, OXA-48
6	VIM, NDM	NEG ^a	NEG
7	NDM, KPC	KPC	NDM, KPC
8	VIM, KPC	VIM	VIM, KPC
9	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48	NA

- a. Un microorganismo no fue aislado en el cultivo de referencia, por tanto no se realizó la secuenciación de referencia.

Resultados de muestras artificiales obtenidas con el ensayo Xpert Carba-R en comparación con el método de referencia

También se analizó un total de 864 muestras artificiales (432 preparadas en matriz de hisopos rectales y 432 en matriz de hisopos perirrectales) como parte del estudio clínico.

Además de los grupos de *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* analizados en el estudio artificial, también se evaluaron otras 5 cepas no *Enterobacteriaceae*: *Pseudomonas stutzeri* (1), *Pseudomonas oryzae* (1), *Pseudomonas putida* (2) y *Empedobacter brevis* (1).

Cuando se analizaron con muestras artificiales, el ensayo Xpert Carba-R demostró un intervalo de PPA de 95 % a 100 % en las dianas del ensayo (bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{OXA-48} y bla_{IMP}). Los NPA para las secuencias de genes bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{OXA-48} y bla_{IMP} era de 100 % en relación con el método de referencia (Tabla 5).

Tabla 5. Eficacia del Xpert Carba-R frente al método de referencia - Muestras artificiales

Matriz	Diana	N	PV	PF	NV	NF	PPA (IC del 95 %)	NPA (IC del 95 %)
Rectal	IMP	432	76	0	352	4	95,0 % (87,8-98,0)	100 % (98,9-100)
	VIM	432	81	0	350	1	98,8 % (93,4-99,8)	100 % (98,9-100)
	NDM	432	80	0	352	0	100 % (95,4-100)	100 % (98,9-100)
	KPC	432	80	0	352	0	100 % (95,4-100)	100 % (98,9-100)
	OXA-48	432	79	0	352	1	98,8 % (93,3-99,8)	100 % (98,9-100)
Perirrectal	IMP	432	80	0	352	0	100 % (95,4-100)	100 % (98,9-100)
	VIM	432	82	0	350	0	100 % (95,5-100)	100 % (98,9-100)
	NDM	432	80	0	352	0	100 % (95,4-100)	100 % (98,9-100)
	KPC	432	80	0	352	0	100 % (95,4-100)	100 % (98,9-100)
	OXA-48	432	80	0	352	0	100 % (95,4-100)	100 % (98,9-100)
Combinada	IMP	864	156	0	704	4	97,5 % (93,7-99,0)	100 % (99,5-100)
	VIM	864	163	0	700	1	99,4 % (96,6-99,9)	100 % (99,5-100)
	NDM	864	160	0	704	0	100 % (97,7-100)	100 % (99,5-100)
	KPC	864	160	0	704	0	100 % (97,7-100)	100 % (99,5-100)
	OXA-48	864	159	0	704	1	99,4 % (96,5-99,9)	100 % (99,5-100)

Estudio de equivalencia de los hisopos perirrectales y los hisopos rectales

Para demostrar la equivalencia de las muestras de hisopos perirrectales y las muestras de hisopos rectales, se realizó un estudio monocéntrico de muestras de hisopos rectales y perirrectales recientes recogidas prospectivamente de pacientes internos hospitalizados que habían dado su consentimiento al uso de las muestras en el estudio.

Se utilizaron conjuntos de hisopos emparejados suministrados en el dispositivo de recogida de muestras Cepheid para obtener muestras de cada sujeto. Un conjunto de hisopos emparejados se utilizó para obtener la muestra de hisopo perirrectal y un segundo conjunto de hisopos emparejados se utilizó para obtener la muestra de hisopo rectal. La muestra de hisopo perirrectal se obtuvo primero, seguida de la muestra de hisopo rectal del mismo sujeto. Se utilizó uno de los hisopos de cada conjunto de hisopos emparejados para las pruebas del ensayo Xpert Carba-R. El segundo hisopo de cada conjunto de hisopos emparejados se utilizó para las pruebas de cultivo y susceptibilidad cuando una o las dos muestras de hisopos perirrectales o rectales dieron positivo en una o más dianas en el ensayo Xpert Carba-R. Si tanto la muestra del hisopo perirrectal como la del rectal dieron negativo en el ensayo Xpert, no se realizó ningún cultivo.

Si el resultado del cultivo fue negativo y el del ensayo Xpert Carba-R fue positivo, se llevó a cabo una secuenciación bidireccional del ADN extraído de colonias aisladas que manifestaron una ausencia de sensibilidad a los carbapenemos mediante el método de difusión en disco del CLSI, o del ADN extraído de caldo MacConkey con disco de meropenem. Los resultados del método de referencia no se utilizaron para cambiar los datos de eficacia para el estudio de equivalencia de los hisopos.

Este estudio clínico incluyó inicialmente un total de 207 muestras, todas las cuales reunían los requisitos para su inclusión. De las 207 muestras que reunían los requisitos, 201 se incluyeron en el conjunto de datos final utilizado para los análisis. Se excluyeron 6 muestras de hisopos (4 perirrectales y 2 rectales) debido a que arrojaron resultados indeterminados en el ensayo Xpert Carba-R. De las 201 muestras incluidas en los análisis de los datos, 92 (45,8 %) se obtuvieron en mujeres y 109 (54,2 %) en hombres. En total, un 45,8 % (92/201) de las muestras se obtuvieron en sujetos de entre 21 y 65 años, y un 54,2 % (109/201) se obtuvieron en sujetos de >65 años de edad.

La eficacia (PPA y NPA) del ensayo Xpert Carba-R con muestras de hisopos perirrectales se determinó comparando los resultados de dichos hisopos con los obtenidos utilizando el ensayo Xpert Carba-R con muestras de hisopos rectales del mismo sujeto. Los cálculos de PPA y NPA se muestran en la Tabla 6. Cuando se compararon con los resultados obtenidos utilizando el ensayo Xpert Carba-R con muestras de hisopos rectales, las muestras de hisopos perirrectales mostraron un PPA y un NPA globales del 94,7 % (IC del 95 %: 75,4-99,1) y del 97,8 % (IC del 95 %: 94,5-99,1), respectivamente.

Tabla 6. Ensayo Xpert Carba-R - Muestras de hisopos perirrectales frente a muestras de hisopos rectales

Ensayo Xpert Carba-R - Muestras de hisopos rectales				
Ensayo Xpert Carba-R - Muestras de hisopos perirrectales		Pos	Neg	Total
	Pos	18 ^a	4 ^b	22
	Neg	1 ^c	178	179
	Total	19	182	201
PPA			94,7 % (IC del 95 %: 75,4-99,1)	
NPA			97,8 % (IC del 95 %: 94,5-99,1)	

- En una de las muestras, la prueba Xpert dio positivo en KPC y OXA-48 con el hisopo rectal y positivo para OXA-48 solamente con el hisopo perirrectal. En el cultivo, la muestra dio negativo tanto con el hisopo rectal como con el perirrectal. Los resultados de la secuencia de los caldos MacConkey dieron negativo con el hisopo perirrectal y positivo en OXA-48 con el hisopo rectal.
- 2 de 4 dieron positivo en el cultivo tanto con los hisopos rectales como con los perirrectales, los resultados de la secuencia de aislados fueron ambos positivos en OXA-48, 1 de 4 dio negativo en el cultivo tanto con los hisopos rectales como con los perirrectales, el resultado de la secuencia de muestras rectales no estuvo disponible debido a que no se guardó el aislado, el aislado perirrectal se interpretó como sensible a los carbapenemos y el protocolo no requirió secuenciación.
- Negativo en el cultivo tanto con los hisopos rectales como con los perirrectales, los resultados de la secuencia de los caldos MacConkey fueron ambos positivos en OXA-48.

17.2 Eficacia clínica – Aislados bacterianos

La eficacia diagnóstica del ensayo Xpert Carba-R con aislados bacterianos se determinó en un estudio de investigación multicéntrico mediante la comparación del ensayo Xpert Carba-R con la secuenciación bidireccional de referencia de la diana de ADN amplificada. Las muestras del estudio incluyeron aislados bacterianos cultivados en agar-sangre y agar MacConkey.

Para su inclusión en el estudio, los aislados deben haberse identificado previamente como de *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* o *Acinetobacter baumannii*. Para la determinación de la sensibilidad, los aislados deben haber sido intermedios o resistentes al meropenem, al ertapenem o al imipenem según CLSI M100-S24.²² Los aislados de *Pseudomonas aeruginosa* o *Acinetobacter baumannii* deben haber sido intermedios o resistentes al imipenem o al meropenem. Estos microorganismos son intrínsecamente resistentes al ertapenem. Para la evaluación de la especificidad, los aislados pueden haber sido sensibles o resistentes al meropenem, al ertapenem y al imipenem según CLSI M100-S24.²² Los aislados de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* deben haber sido sensibles tanto al imipenem como al meropenem. Los aislados se analizaron solamente una vez en el estudio.

En este estudio clínico se consideraron inicialmente 489 aislados bacterianos (431 aislados de inventarios clínicos y 58 aislados recientes), de los cuales 485 fueron aptos para la inclusión. Los aislados no aptos incluyeron cuatro aislados considerados previamente en el estudio.

De los 485 aislados aptos, 467 (410 aislados de inventarios clínicos y 57 aislados recientes) se incluyeron en el conjunto de datos final utilizado para los análisis presentados en este informe; dos aislados se excluyeron porque no se realizaron pruebas de referencia; y dieciséis aislados se excluyeron porque no se identificaron como *Enterobacteriaceae*, *A. baumannii* o *P. aeruginosa*.

Para realizar las pruebas con el ensayo Xpert Carba-R, se obtuvieron colonias bien aisladas cultivadas en cada uno de los tipos de agar y se diluyeron a una suspensión equivalente al patrón McFarland 0,5 utilizando el método de suspensión directa de colonias según CLSI M07-A9.²³

Para la secuenciación de referencia, se purificó, cuantificó y amplificó ADN de aislados de cultivos utilizando cebadores específicos de todos los 5 genes diana que amplifican regiones más grandes de las dianas del ensayo que los cebadores incluidos en el ensayo Xpert Carba-R. La producción del tamaño adecuado del producto de amplificación se confirmó en el bioanalizador Agilent 2100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE. UU.).

Si las bandas mostradas en el bioanalizador se correspondieron con el tamaño esperado del amplicón de alguno de los cinco genes diana detectados por el ensayo Xpert Carba-R, el amplicón del aislado se envió a un laboratorio independiente para el análisis de secuenciación bidireccional de referencia, que se validó para la detección de las cinco dianas del ensayo Xpert Carba-R. Si el bioanalizador no mostró bandas para ninguno de los cinco genes diana, el aislado no se envió para el análisis de secuencias y el resultado del método de referencia se consideró negativo para los cinco genes diana.

El ensayo Xpert Carba-R detectó varias dianas en muestras de diez aislados. Los detalles se presentan en la Tabla 7, junto con el resultado de la secuenciación de referencia.

Tabla 7. Aislados con varias dianas detectadas

Aislado	Tipo de agar ^a	Dianas detectadas por el ensayo Xpert Carba-R	Dianas detectadas por la secuenciación de referencia
1	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
2	AS	VIM, KPC	VIM
3	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
4	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
5	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
6	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
7	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
8	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
9	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48
10	AS, MC	NDM, OXA-48	NDM, OXA-48

a. AS = agar-sangre; MC = agar MacConkey

Cuando se probó con aislados de agar-sangre, el ensayo Xpert Carba-R mostró una sensibilidad y una especificidad globales del 100,0 % (IC del 95 %: 99,0-100) y del 98,1 % (IC del 95 %: 93,2-99,5), respectivamente, con relación a la secuenciación de referencia realizada a partir de los aislados de agar-sangre (Tabla 8). El resultado combinado se definió como positivo en el ensayo Xpert Carba-R si el ensayo dio positivo para alguna de las dianas, y negativo en el ensayo Xpert Carba-R si el ensayo dio negativo para todas las dianas.

Tabla 8. Xpert Carba-R (agar-sangre) frente a secuenciación de referencia (aislado cultivado en agar-sangre): Combinado

Diana	N	PV	PF	NV	NF	Sensibilidad (IC del 95 %)	Especificidad (IC del 95 %)
Combinada	467	364 ^a	2 ^a	101	0	100 % (99,0-100)	98,1 % (93,2-99,5)

a. Los resultados combinados representan los resultados por aislado. En algunos aislados se observaron resultados de varias dianas.

Cuando la prueba se realizó con aislados de agar-sangre, el ensayo Xpert Carba-R mostró una sensibilidad y una especificidad de >99 % en cada uno de las cinco dianas del ensayo, con relación a la secuenciación de referencia realizada a partir de los aislados de agar-sangre (Tabla 9).

En los casos de los aislados que arrojaron resultados discordantes en el ensayo Xpert Carba-R y en la secuenciación de referencia, se realizaron análisis de discrepancias utilizando secuenciación bidireccional en aislados de las placas de agar MacConkey. Los resultados de los análisis de discrepancias se indican en las notas al pie de la Tabla 9 y la Tabla 11.

Tabla 9. Xpert Carba-R (agar-sangre) frente a secuenciación de referencia (aislado cultivado en agar-sangre): Por diana

Diana	N	PV	PF	NV	NF	Sensibilidad (IC del 95 %)	Especificidad (IC del 95 %)
IMP	467	40	1 ^a	426	0	100 % (91,2-100)	99,8 % (98,7-100)
VIM	467	82	1 ^b	384	0	100 % (95,5-100)	99,7 % (98,5-100)
NDM	467	78	0	389	0	100 % (95,3-100)	100 % (99,0-100)
KPC	467	84	1 ^c	382	0	100 % (95,6-100)	99,7 % (98,5-100)
OXA-48	467	89	0	378	0	100 % (95,9-100)	100 % (99,0-100)

- El resultado de la secuenciación de ADN bidireccional de este aislado positivo falso para IMP mostró una homología de la secuencia del 92,95 %, lo que estuvo ligeramente por debajo del criterio umbral del 95 %. No se realizó análisis de discrepancias.
- Resultados del análisis de discrepancias: 1 de 1 fue positivo para VIM.
- El resultado positivo falso de este aislado se debió probablemente a la contaminación cruzada con KPC durante la preparación de la muestra. El análisis de discrepancias no produjo una concordancia de secuencia con la diana de KPC. El análisis de discrepancias produjo una concordancia de secuencia para la diana de VIM, por lo que este aislado está clasificado como un PV en la evaluación «Combinada» presentada en la Tabla 8.

Cuando se probó con aislados de agar MacConkey, el ensayo Xpert Carba-R mostró una sensibilidad y una especificidad globales del 100 % (IC del 95 %: 99,0-100) y del 97,1 % (IC del 95 %: 91,8-99,0), respectivamente, con relación a la secuenciación de referencia realizada a partir de los aislados de agar-sangre (Tabla 10). El resultado combinado se definió como positivo en el ensayo Xpert Carba-R si el ensayo dio positivo para alguna de las dianas, y negativo en el ensayo Xpert Carba-R si el ensayo dio negativo para todas las dianas.

Tabla 10. Xpert Carba-R (agar MacConkey) frente a secuenciación de referencia (aislado cultivado en agar-sangre): Combinado

Diana	N	PV	PF	NV	NF	Sensibilidad (IC del 95 %)	Especificidad (IC del 95 %)
Combinada	467	364 ^a	3	100	0	100 % (99,0-100)	97,1 % (91,8-99,0)

- Los resultados combinados representan los resultados por aislado. En algunos aislados se observaron resultados de varias dianas.

Cuando la prueba se realizó con aislados de agar MacConkey, el ensayo Xpert Carba-R mostró una sensibilidad y una especificidad de >99 % en cada una de las cinco dianas del ensayo, con relación a la secuenciación de referencia realizada a partir de los aislados de agar-sangre (Tabla 11).

Tabla 11. Xpert Carba-R (agar MacConkey) frente a secuenciación de referencia (aislado cultivado en agar-sangre): Por diana

Diana	N	PV	PF	NV	NF	Sensibilidad (IC del 95 %)	Especificidad (IC del 95 %)
IMP	467	40	1 ^a	426	0	100 % (91,2-100)	99,8 % (98,7-100)
VIM	467	82	1 ^b	384	0	100 % (95,5-100)	99,7 % (98,5-100)
NDM	467	78	1 ^c	388	0	100 % (95,3-100)	99,7 % (98,6-100)
KPC	467	84	0	383	0	100 % (95,6-100)	100 % (99,0-100)
OXA-48	467	89	0	378	0	100 % (95,9-100)	100 % (99,0-100)

- El resultado de la secuenciación de ADN bidireccional de este aislado positivo falso para IMP mostró una homología de la secuencia del 92,95 %, lo que estuvo ligeramente por debajo del criterio umbral del 95 %. No se realizó análisis de discrepancias.
- Resultados del análisis de discrepancias: 1 de 1 fue positivo para VIM.
- El centro clínico informó que la caracterización interna de este aislado positivo falso antes del análisis del estudio dio positivo en diana de gen NDM. El análisis de discrepancias no produjo una concordancia de secuencia para ninguna de las 5 dianas de gen.

La eficacia del ensayo Xpert Carba-R por grupo específico de microorganismos y tipo de agar (agar-sangre y agar MacConkey) se muestra en la Tabla 12. El resultado global se definió como positivo en el ensayo Xpert Carba-R si el ensayo dio positivo para alguna de las dianas, y negativo en el ensayo Xpert Carba-R si el ensayo dio negativo para todas las dianas.

Tabla 12. Xpert Carba-R frente a secuenciación de referencia

Medio	Microorganismos	Diana	N	PV	PF	NV	NF	Sensibilidad (IC del 95 %)	Especificidad (IC del 95 %)
Agar-sangre	<i>Enterobacteriaceae</i>	IMP	343	4	0	339	0	100 % (51,0-100)	100 % (98,9-100)
		VIM	343	51	1	291	0	100 % (93,0-100)	99,7 % (98,1-99,9)
		NDM	343	73	0	270	0	100 % (95,0-100)	100 % (98,6-100)
		KPC	343	83	1	259	0	100 % (95,6-100)	99,6 % (97,9-99,9)
		OXA-48	343	89	0	254	0	100 % (95,9-100)	100 % (98,5-100)
		Total	343	291 ^a	1 ^a	51	0	100 % (98,7-100)	98,1 % (89,9-99,7)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP	80	16	1	63	0	100 % (80,6-100)	98,4 % (91,7-99,7)
		VIM	80	31	0	49	0	100 % (89,0-100)	100 % (92,7-100)
		NDM	80	0	0	80	0	NA	100 % (95,4-100)
		KPC	80	1	0	79	0	100 % (20,7-100)	100 % (95,4-100)
		OXA-48	80	0	0	80	0	NA	100 % (95,4-100)
		Total	80	48	1	31	0	100 % (92,6-100)	96,9 % (84,3-99,5)
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP	44	20	0	24	0	100 % (83,9-100)	100 % (86,2-100)
		VIM	44	0	0	44	0	NA	100 % (92,0-100)
		NDM	44	5	0	39	0	100 % (56,6-100)	100 % (91,0-100)
		KPC	44	0	0	44	0	NA	100 % (92,0-100)
		OXA-48	44	0	0	44	0	NA	100 % (92,0-100)
		Total	44	25	0	19	0	100 % (86,7-100)	100 % (83,2-100)

Tabla 12. Xpert Carba-R frente a secuenciación de referencia (continuación)

Medio	Microorganismos	Diana	N	PV	PF	NV	NF	Sensibilidad (IC del 95 %)	Especificidad (IC del 95 %)
Agar MacConkey	<i>Enterobacteriaceae</i>	IMP	343	4	0	339	0	100 % (51,0-100)	100 % (98,9-100)
		VIM	343	51	1	291	0	100 % (93,0-100)	99,7 % (98,1-99,9)
		NDM	343	73	1	269	0	100 % (95,0-100)	99,6 % (97,9-99,9)
		KPC	343	83	0	260	0	100 % (95,6-100)	100 % (98,5-100)
		OXA-48	343	89	0	254	0	100 % (95,9-100)	100 % (98,5-100)
		Total	343	291 ^a	2	50	0	100 % (98,7-100)	96,2 % (87,0-98,9)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP	80	16	1	63	0	100 % (80,6-100)	98,4 % (91,7-99,7)
		VIM	80	31	0	49	0	100 % (89,0-100)	100 % (92,7-100)
		NDM	80	0	0	80	0	NA	100 % (95,4-100)
		KPC	80	1	0	79	0	100 % (20,7-100)	100 % (95,4-100)
		OXA-48	80	0	0	80	0	NA	100 % (95,4-100)
		Total	80	48	1	31	0	100 % (92,6-100)	96,9 % (84,3-99,5)
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP	44	20	0	24	0	100 % (83,9-100)	100 % (86,2-100)
		VIM	44	0	0	44	0	NA	100 % (92,0-100)
		NDM	44	5	0	39	0	100 % (56,6-100)	100 % (91,0-100)
		KPC	44	0	0	44	0	NA	100 % (92,0-100)
		OXA-48	44	0	0	44	0	NA	100 % (92,0-100)
		Total	44	25	0	19	0	100 % (86,7-100)	100 % (83,2-100)

a. Los resultados globales representan los resultados por aislado. En algunos aislados se observaron resultados de varias dianas.

Los resultados del ensayo Xpert Carba-R por fenotipo se presentan en la Tabla 13 y en la Tabla 14. Los resultados fenotípicos se basaron en la identificación de los microorganismos y en los resultados de sensibilidad de cada uno de los aislados. El resultado combinado se definió como positivo en el ensayo Xpert Carba-R si el ensayo dio positivo para alguna de sus cinco dianas, y negativo en el ensayo Xpert Carba-R si el ensayo dio negativo para todas sus cinco dianas. Un fenotipo no sensible significa que el aislado fue intermedio o resistente a al menos un carbapenemo. Un fenotipo sensible significa que el aislado fue sensible al imipenem, al meropenem y al ertapenem.

Tabla 13. Xpert Carba-R (agar-sangre) frente a fenotipo: Combinado

Xpert Carba-R	Resultados fenotípicos			
		No sensible	Sensible	Total
	Gen detectado	356	10	366
	Gen no detectado	95	6	101
	Total	451	16	467

Tabla 14. Xpert Carba-R (agar MacConkey) frente a fenotipo: Combinado

Xpert Carba-R	Resultados fenotípicos			
		No sensible	Sensible	Total
	Gen detectado	357	10 ^a	367
	Gen no detectado	94 ^b	6	100
	Total	451	16	467

- Los 10 aislados que son fenotípicamente sensibles a los carbapenemos pero positivos según el ensayo Xpert Carba-R pueden contener mutaciones que inactiven o disminuyan la expresión del gen de resistencia a los carbapenemos detectado por el ensayo Xpert Carba-R.
- Los 94 aislados que son fenotípicamente no sensibles a los carbapenemos pero negativos según el ensayo Xpert Carba-R pueden contener otros mecanismos de resistencia a los carbapenemos, tales como betalactamasas AmpC o betalactamasas de espectro extendido en combinación con mutaciones de porinas, o posiblemente otros genes de resistencia a los carbapenemos que no son detectados por el ensayo Xpert Carba-R.

De entre las 934 pruebas realizadas (467 aislados x 2 tipos de agar), una tuvo un resultado inicial **SIN RESULTADO (NO RESULT)** (0,10 %, IC del 95 % 0,00-0,58). El aislado arrojó resultados válidos tras repetir el ensayo. La tasa global de resultados válidos del ensayo fue del 100 % (934/934).

18 Rendimiento analítico

18.1 Sensibilidad analítica (límite de detección) - Hisopos rectales y perirrectales

Se evaluó la sensibilidad analítica o el límite de detección (LD) del ensayo Xpert Carba-R con microorganismos productores de carbapenemasa inseminados en la matriz de hisopos rectales humanos negativos combinados y en la matriz de hisopos perirrectales humanos negativos combinados. Se determinó el LD de dos bacterias productoras de carbapenemasa correspondiente a analito de cada gen, esto es, de los genes codificadores de KPC, NDM, VIM, OXA-48 e IMP. Las bacterias se titularon mediante recuentos de placa y se añadieron a hisopos limpios. Los hisopos se colocaron en la matriz de hisopos rectales negativos combinados o en la matriz de hisopos perirrectales negativos combinados y se evaluaron réplicas de 20 a un mínimo de cinco concentraciones distintas en cuatro días. El LD para cada uno de los diez microorganismos productores de carbapenemasa se calculó mediante un análisis probit. El LD se define como la concentración más baja de células diana (UFC/hisopo) que puede distinguirse de forma reproducible de muestras negativas con una confianza del 95 %. El estudio se realizó con dos lotes diferentes de reactivos Xpert Carba-R, y el LD supuesto es el superior de las dos determinaciones. Los LD calculados se verificaron preparando y analizando 10 réplicas de dos diluciones independientes de cada bacteria a cada LD calculado.

Los LD supuestos de cada par de microorganismos productores de carbapenemasa en las matrices de hisopos rectales y de hisopos perirrectales se muestran en la Tabla 15 y en la Tabla 16.

Tabla 15. Cálculos y verificación del LD para microorganismos que albergan los genes de carbapenemasa con el ensayo Xpert Carba-R en matriz de hisopos rectales

Gen diana y microorganismo	Cálculo LD (Probit) UFC/hisopo		Supuesto LD UFC/hisopo	LD calculado en reactivo para muestras (UFC/ml)	Verificación (positivos/20)
	Lote 1	Lote 2			
IMP-1 <i>Acinetobacter baumannii</i>	174	141	174	35	20/20
IMP-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	303	306	306	61	20/20
VIM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	247	305	305	61	20/20
VIM-4 <i>Escherichia coli</i>	815	468	815	163	20/20
NDM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-2146	117	251	251	50	20/20
NDM <i>Klebsiella pneumoniae</i>	74	57	74	15	19/20
KPC-3 <i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13438	373	292	373	75	20/20
KPC <i>Enterobacter cloacae</i>	779	537	779	156	20/20
OXA-48 <i>Enterobacter cloacae</i>	154	109	154	31	20/20
OXA-48 <i>Escherichia coli</i>	104	99	104	21	20/20

Tabla 16. Cálculos y verificación del LD para microorganismos que albergan los genes de carbapenemasa con el ensayo Xpert Carba-R en matriz de hisopos perirrectales

Gen diana y microorganismo	Cálculo LD (Probit) UFC/hisopo		Supuesto LD UFC/hisopo	LD calculado en reactivo para muestras (UFC/ml)	Verificación (positivos/20)
	Lote 1	Lote 2			
IMP-1 <i>Acinetobacter baumannii</i>	90	118	118	24	19/20
IMP-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	269	635	635	127	20/20
VIM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	901	514	901	180	20/20
VIM-4 <i>Escherichia coli</i>	446	403	446	89	20/20
NDM-1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-2146	133	113	133	27	20/20
NDM <i>Klebsiella pneumoniae</i>	56	54	56	11	20/20
KPC-3 <i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 13438	358	292	358	72	20/20
KPC <i>Enterobacter cloacae</i>	1259	1303	1303	261	20/20
OXA-48 <i>Enterobacter cloacae</i>	223	166	223	45	20/20
OXA-48 <i>Escherichia coli</i>	126	137	137	27	20/20

18.2 Reactividad analítica (inclusividad)

18.2.1 Estudio de matrices de hisopos rectales y perirrectales

Se evaluó la reactividad analítica del ensayo Xpert Carba-R con matrices de hisopos rectales y de hisopos perirrectales analizando un grupo de 72 muestras. Este grupo constaba de 11 cepas bacterianas bien caracterizadas de *bla*_{KPC} (KPC), 11 de *bla*_{VIM} (VIM), 8 de *bla*_{OXA-48} (OXA-48), 5 de *bla*_{NDM}/*bla*_{OXA-181} (NDM/OXA-181), 6 de *bla*_{OXA-181} (OXA-181), 17 de *bla*_{IMP} (IMP) y una de *bla*_{KPC}/*bla*_{VIM} (KPC/VIM). Las cepas analizadas en las matrices de hisopos rectales y de hisopos perirrectales, así como sus concentraciones de prueba, se presentan en la Tabla 17.

Para las pruebas en las matrices de hisopos rectales y de hisopos perirrectales, los microorganismos se inocularon en una matriz de hisopos rectales negativos combinados o en una matriz de hisopos perirrectales negativos combinados. Todas las cepas bacterianas fueron analizadas por triplicado para las dos matrices de hisopos. Los genes diana del ensayo Xpert Carba-R fueron detectados en 69 de 72 cepas bacterianas productoras de carbapenemasa aunque IMP-4 fue detectado utilizando solo una concentración mayor (Tabla 17). Las secuencias de ADN diana del ensayo Xpert Carba-R no se detectaron en tres cepas bacterianas, como se muestra en la Tabla 17. En una de las tres cepas bacterianas, el ensayo no detectó el gen IMP-13, aunque el análisis *in silico* predijo que sería detectado. En dos de las otras tres cepas bacterianas, el ensayo no detectó los genes IMP-7 e IMP-14 y el análisis *in silico* tampoco predijo que serían detectados. Véase el Apartado 15, Limitaciones en el prospecto.

Tabla 17. Reactividad analítica del ensayo Xpert Carba-R en matrices de hisopos rectales y perirrectales

ID de la cepa	Microorganismo	Marcador de resistencia con información de la variante	Concentración analizada en las matrices de hisopos rectales y de hisopos perirrectales (UFC/ml)
NCTC 13438	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3	153
31551	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-4	50
ATCC BAA-1705	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2	130
PA-Col	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC-2	250
KBM18	<i>Enterobacter aerogenes</i>	KPC-2	250
BM9	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3	330
PA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2	100

Tabla 17. Reactividad analítica del ensayo Xpert Carba-R en matrices de hisopos rectales y perirectales (continuación)

ID de la cepa	Microorganismo	Marcador de resistencia con información de la variante	Concentración analizada en las matrices de hisopos rectales y de hisopos perirectales (UFC/ml)
CGNC	<i>Serratia marcescens</i>	KPC-2	300
CFVL	<i>Enterobacter cloacae</i>	KPC-2	160
COL	<i>Escherichia coli</i>	KPC-2	147
GR-04/KP-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2, VIM	80
164-3	<i>Klebsiella oxytoca</i>	KPC	70
NCTC 13437	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-10	500
NCTC 13439	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1	130
NCTC 13440	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1	70
758	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM	250
PA-87	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM	200
B92A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM	2000
Col1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-2	500
BM19	<i>Serratia marcescens</i>	VIM-2	250
KOW7	<i>Escherichia coli</i>	VIM-4	250
DIH	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-19	250
MSH2014-3	<i>Enterobacter cloacae</i>	VIM	500
NCTC 13443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1	80
ATCC BAA-2146	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1	80
34262	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM	80
GEN	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-1	130
3047	<i>Enterobacter cloacae</i>	NDM-1	70
7892	<i>Proteus mirabilis</i>	NDM-1	30
CAN	Género <i>Salmonella</i>	NDM-1	70
EGY	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-2	40
I5	<i>Escherichia coli</i>	NDM-4	30
405	<i>Escherichia coli</i>	NDM-5	30
CF-ABE	<i>Citrobacter freundii</i>	NDM	30
73999	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NDM	50
39365	<i>Providencia rettgeri</i>	NDM-1	70
NCTC 13442	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	40
OM11	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	60
501	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48	80
DUW	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	120
OM22	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48	80
BOU	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48	80
TUR	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48	120
11670	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48	100
166643	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181	20
42194	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181	20

Tabla 17. Reactividad analítica del ensayo Xpert Carba-R en matrices de hisopos rectales y perirrectales (continuación)

ID de la cepa	Microorganismo	Marcador de resistencia con información de la variante	Concentración analizada en las matrices de hisopos rectales y de hisopos perirrectales (UFC/ml)
MSH2014-64	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181	280
MSH2014-72	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181	100
74	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181	100
CDC0051	<i>Klebsiella ozaenae</i> ^a	OXA-181	250
B108A	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	10
C10192-DISCS	<i>Enterobacter aerogenes</i>	NDM, OXA-181	10
KP-OMA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	60
1300920	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	15
MSH2014-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181	20
NCTC 13476	<i>Escherichia coli</i>	IMP-1	250
695	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1	1720
2340	<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP-1	250
IMPBMI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1	100
Yonsei_1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1	1000
Yonsei_2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1	500
6852	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1	100
MKAM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1	500
70450-1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1	250
3994	Género <i>Pseudomonas</i>	IMP-10	250
CDC0161	<i>Enterobacter aerogenes</i> ^a	IMP-4	5,00E+04
5344	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-2	60
3985	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-11	2000
4032	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-6	80
3424	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-7 ^{b,c}	1,00E+06
32443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-13 ^c	1,00E+06
92	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-14 ^{b,c}	1,00E+06

a. Estos microorganismos no fueron analizados como aislados bacterianos.

b. Los genes IMP-7 e IMP-14 (*Pseudomonas aeruginosa*) no fueron detectados por el ensayo, y el análisis *in silico* no predijo que serían detectados (consulte Apartado 15, Limitaciones).

c. Gen IMP-13 (*Klebsiella pneumoniae*): aunque el análisis *in silico* predijo que sería detectado, el ensayo no detectó el gen IMP-13 (consulte el Apartado 15, Limitaciones).

18.2.2 Estudio de aislados bacterianos

También se evaluó la sensibilidad analítica del ensayo Xpert Carba-R con aislados bacterianos analizando un grupo de 71 muestras compuesto por las siguientes cepas bacterianas bien caracterizadas: 11 *bla*_{KPC} (KPC), 13 *bla*_{NDM} (NDM), 11 *bla*_{VIM} (VIM), 8 *bla*_{OXA-48} (OXA-48), 5 *bla*_{NDM/bla}_{OXA-181} (NDM/OXA-181), 5 *bla*_{OXA-181} (OXA-181), 17 *bla*_{IMP} (IMP) y una *bla*_{KPC/bla}_{VIM} (KPC/VIM). Las cepas analizadas como aislados bacterianos se presentan en la Tabla 18.

Para las pruebas de aislados bacterianos, los microorganismos se analizaron en réplicas de cuatro que se prepararon diluyendo 10 µl de suspensión celular McFarland 0,5 para cada cepa bacteriana en 5 ml de reactivo para muestras. Las pruebas se realizaron utilizando placas tanto de agar-sangre como de agar MacConkey. Los genes diana del ensayo Xpert Carba-R se detectaron en 68 de las 71 cepas bacterianas de ambas placas. Las secuencias de ADN diana del ensayo Xpert Carba-R no se detectaron en tres cepas bacterianas, como se muestra en la nota al pie de la Tabla 18. En una de las tres cepas bacterianas, el ensayo no detectó el gen IMP-13, aunque el análisis *in silico* predijo que sería detectado. En dos de las tres cepas bacterianas, el ensayo no detectó los genes IMP-7 e IMP-14 y el análisis *in silico* tampoco predijo que serían detectados. Consulte el apartado Limitaciones del prospecto.

Tabla 18. Reactividad analítica del ensayo Xpert Carba-R - Aislados bacterianos

ID de la cepa	Microorganismo	Marcador de resistencia con información de la variante
NCTC 13438	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3
31551	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-4
ATCC BAA-1705	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2
PA-Col	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC-2
KBM18	<i>Enterobacter aerogenes</i>	KPC-2
BM9	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-3
PA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2
CGNC	<i>Serratia marcescens</i>	KPC-2
CFVL	<i>Enterobacter cloacae</i>	KPC-2
COL	<i>Escherichia coli</i>	KPC-2
GR-04/KP-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KPC-2, VIM
164-3	<i>Klebsiella oxytoca</i>	KPC
NCTC 13437	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-10
NCTC 13439	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1
NCTC 13440	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-1
758	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM
PA-87	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM
B92A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM
Col1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	VIM-2
BM19	<i>Serratia marcescens</i>	VIM-2
KOW7	<i>Escherichia coli</i>	VIM-4
DIH	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM-19
MSH2014-3	<i>Enterobacter cloacae</i>	VIM
NCTC 13443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1
ATCC BAA-2146	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1
34262	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM
GEN	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-1

Tabla 18. Reactividad analítica del ensayo Xpert Carba-R - Aislados bacterianos (continuación)

ID de la cepa	Microorganismo	Marcador de resistencia con información de la variante
3047	<i>Enterobacter cloacae</i>	NDM-1
7892	<i>Proteus mirabilis</i>	NDM-1
CAN	Género <i>Salmonella</i>	NDM-1
EGY	<i>Acinetobacter baumannii</i>	NDM-2
I5	<i>Escherichia coli</i>	NDM-4
405	<i>Escherichia coli</i>	NDM-5
CF-ABE	<i>Citrobacter freundii</i>	NDM
73999	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NDM
39365	<i>Providencia rettgeri</i>	NDM-1
NCTC 13442	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48
OM11	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48
501	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48
DUW	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48
OM22	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48
BOU	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48
TUR	<i>Enterobacter cloacae</i>	OXA-48
11670	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48
MSH2014-64	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181
MSH2014-72	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181
B108A	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181
C10192-DISCS	<i>Enterobacter aerogenes</i>	NDM, OXA-181
KP-OMA3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM-1, OXA-181
166643	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181
42194	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-181
1300920	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181
MSH2014-69	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM, OXA-181
74	<i>Escherichia coli</i>	OXA-181
NCTC 13476	<i>Escherichia coli</i>	IMP-1
695	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1
2340	<i>Enterobacter cloacae</i>	IMP-1
IMPBMI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1
6852	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-1
Yonsei_1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1
Yonsei_2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	IMP-1
70450-1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1
3994	Género <i>Pseudomonas</i>	IMP-10
MKAM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-1

Tabla 18. Reactividad analítica del ensayo Xpert Carba-R - Aislados bacterianos (continuación)

ID de la cepa	Microorganismo	Marcador de resistencia con información de la variante
5344	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-2
G029	Género <i>Salmonella</i>	IMP-4
3985	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-11
4032	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-6
3424	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-7 ^{a,b}
32443	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	IMP-13 ^a
92	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	IMP-14 ^{a,b}

- a. No detectada por Xpert Carba-R (véase Apartado 15, Limitaciones).
 b. Los genes IMP-7 e IMP-14 no fueron detectados por el ensayo, y el análisis *in silico* no predijo que serían detectados (consulte Apartado 15, Limitaciones).

Las variantes detectadas, y las predicciones para detectar otros subtipos de cada gen de resistencia basado en el análisis *in silico*, se presentan en la Tabla 19 (que representa los resultados tanto del estudio de la matriz del hisopos rectales como del aislado bacteriano).

Tabla 19. Resumen de las variantes detectadas por análisis en laboratorio o que el análisis *in silico* predijo que serían detectadas

Marcador (o subgrupo tradicional)	Análisis de laboratorio			No analizadas, pero que el análisis <i>in silico</i> predijo que serían detectadas
	N.º de muestras	Tipos detectados	Tipos no detectados	
KPC	12	KPC-2,3,4	--	KPC-5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16
NDM	18	NDM-1,2,4,5	--	NDM-3, 6, 7, 8, 9
VIM	12	VIM-1,2,4,10,19	--	VIM-5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38
OXA-48	18	OXA-48, 181 (variante OXA-48)	--	OXA-162, 163, 204, 232, 244, 245, 247
IMP	17	IMP-1 (9 cepas), IMP-2, 4, 6, 10, 11	IMP-7 ^a , 13 ^b , 14 ^a	IMP-3, 8, 9, 13 ^p , 19, 20, 21, 22, 24, 25, 27, 28, 30, 31, 33, 37, 40, 42

- a. Los genes IMP-7 e IMP-14 (*Pseudomonas aeruginosa*) no fueron detectados por el ensayo, y el análisis *in silico* no predijo que serían detectados (consulte el Apartado 15, Limitaciones).
 b. Se analizó el gen IMP-13 (*Klebsiella pneumoniae*): aunque el análisis *in silico* predijo que sería detectado, el ensayo no detectó el gen IMP-13 (consulte el Apartado 15, Limitaciones).

18.3 Especificidad analítica (reactividad cruzada)

Se evaluó la especificidad analítica del ensayo Xpert Carba-R para aislados bacterianos, microorganismos inseminados en matriz de hisopos rectales y microorganismos inseminados en matriz de hisopos perirectales. Para los tres tipos de muestras, un grupo de 62 cepas bacterianas bien caracterizadas de bacterias sensibles a los carbapenemos o bacterias sin sensibilidad a los carbapenemos debido a genes o a mecanismos distintos de los genes dianas del Xpert Carba-R (Tabla 20 y Tabla 21) y 24 cepas bacterianas comensales y otros microorganismos intestinales también fueron evaluados en el estudio (Tabla 22). También se analizaron células humanas en las matrices de hisopos rectales y de hisopos perirectales (Tabla 23). Los mecanismos de resistencia se determinaron mediante ensayos de PCR individuales, análisis de secuencias de ADN o matriz Check-Points versión CT102.

Para las muestras de la matriz de hisopos rectales y de la matriz de hisopos perirectales, se analizaron 62 cepas a concentraciones $>1 \times 10^6$ UFC/ml con excepción de *Peptostreptococcus anaerobius* que fue analizado a 5×10^5 UFC/ml. Los virus fueron analizados a una concentración de $>1 \times 10^5$ TCID₅₀/ml o mayor de $2,5 \times 10^7$ copias de ARN/ml. La estirpe celular de vejiga urinaria (ADN genómico humano) se analizó a una concentración de 1×10^5 células/ml. Los microorganismos se diluyeron en matriz de hisopos rectales negativos combinados o en matriz de hisopos perirectales negativos combinados, y se analizaron por triplicado. Ninguno de los 94 microorganismos y ácidos nucleicos que podían provocar reactividad cruzada que se analizaron fue detectado con el ensayo Xpert Carba-R.

Para aislados bacterianos, los microorganismos se cultivaron aeróbicamente en placas de agar-sangre y agar MacConkey. A partir de colonias aisladas en cada tipo de placa de agar, se prepararon dos suspensiones celulares equivalentes a una suspensión celular McFarland 0,5. Cada microorganismo se analizó un total de cuatro veces (dos réplicas de cada una de las dos suspensiones celulares McFarland 0,5 por microorganismo) a partir de cada placa.

El ensayo Xpert Carba-R no mostró reacción cruzada con ninguno de los microorganismos analizados (Tabla 20, Tabla 21, Tabla 22 y Tabla 23). La especificidad analítica del ensayo fue del 100 %.

Tabla 20. Número de microorganismos sensibles y no sensibles a los carbapenemos para cada antibiótico

	Ertapenem	Imipenem	Meropenem
Sensible	19	30	24
Intermedio	0	8	4
Resistente	43	24	34

Tabla 21. Grupo de reactividad cruzada

Microorganismo	ID de la cepa	Mecanismos de resistencia confirmados	Sensibilidad a los carbapenemos (S/I/R) ^a		
			ETP ^a	IMP ^a	MEM ^a
<i>Escherichia coli</i>	NCTC 13441	CTX-M (-1, similar al tipo 15); TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13465	CTX-M (25)	S	S	S
<i>Enterobacter aerogenes</i>	810	Deficientes en OmpC/OmpF; TEM	R	R	R
<i>Citrobacter freundii</i>	1698	TEM (WT+164S)	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	5557	AmpC (ACT/MIR)	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	kpn5	CTX-M-2	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	kpn12	TEM; SHV; CTX-M	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	eco1	TEM; CTX-M-2	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	eco2	CTX-M (2); TEM; OXA-2	R	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	cor1	CTX-M (2); TEM	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	hpp21	CTX-M (2); TEM	S	S	S
<i>Morganella morganii</i>	fer29	CTX-M (2); TEM	S	R	S
<i>Proteus mirabilis</i>	gut25	CTX-M (2); TEM	S	R	S
Género <i>Salmonella</i>	3209	CTX-M (2); TEM	S	S	S

Tabla 21. Grupo de reactividad cruzada (continuación)

Microorganismo	ID de la cepa	Mecanismos de resistencia confirmados	Sensibilidad a los carbapenemos (S/I/R) ^a		
			ETP ^a	IMP ^a	MEM ^a
<i>Shigella flexnerii</i>	3331	CTX-M (2); TEM	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	PA_3	AmpC; CTX-M-15; TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32189	SHV	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32443	CTX-M (1, similar al tipo 15); SHV	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32598	CTX-M (-1, similar al tipo 15); SHV; TEM	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33560	CTX-M (15); SHV-11; TEM-1	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33603	SHV-2	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33617	SHV-27	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33643	SHV (-5, -55); TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34430	SHV; TEM; CTX-M-15	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34680	TEM; CTX-M-2	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34732	CTX-M (15); SHV; TEM	R	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	PA_174	GX-/Cultivo+; SHV; TEM	S	S	S
<i>Enterobacter aerogenes</i>	STU 645	SHV (WT+238S+240K)	R	S	R
<i>Enterobacter aerogenes</i>	STU 669	SHV (WT+238S+240K)	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	C3015	AmpC (CMY II); TEM	R	R	R
<i>Enterobacter aerogenes</i>	RI_100	AmpC (DHA); SHV	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B4A	SHV (WT + 238S +240K)	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B13A	SHV (WT + 238S +240K)	R	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	RI_474	AmpC (ACT/MIR)	R	I	I
<i>Enterobacter amnigenus</i>	B71	AmpC (ACT/MIR)	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DD82A	SHV (WT + 238S + 240K)	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B100	CTX-M (-1, similar al tipo 15); SHV (WT+238S); TEM	R	S	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	135B	TEM	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B157	SHV; TEM	R	R	R
<i>Escherichia coli</i>	T2914280	CTX-M (-1, -15); TEM	R	S	R
<i>Providencia stuartii</i>	DD188	TEM (104K + 164S)	R	I	I
<i>Enterobacter cloacae</i>	DD189	AmpC (ACT/MIR)	R	S	S
<i>Escherichia coli</i>	B198B	CTX-M (-1, similar al tipo 15); TEM	R	S	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	T3019989-1	CTX-M (-1, similar al tipo 15); SHV	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	T3019989-2	CTX-M (-1, similar al tipo 15); SHV	R	S	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	ENC-THAI14	VEB-1, TEM	S	S	S
<i>Escherichia coli</i>	CB154006	CTX-M (9); TEM	R	I	I
<i>Enterobacter cloacae</i>	S35766	AmpC (ACT/MIR)	S	S	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	X1856910	AmpC (ACT/MIR); TEM	R	I	I

Tabla 21. Grupo de reactividad cruzada (continuación)

Microorganismo	ID de la cepa	Mecanismos de resistencia confirmados	Sensibilidad a los carbapenemos (S/I/R) ^a		
			ETP ^a	IMP ^a	MEM ^a
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	W3758164	CTX-M (-1, similar al tipo -15); SHV; TEM	R	I	R
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	X2135758	CTX-M (-1, similar al tipo -15); SHV	R	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	W3809535	CTX-M (-1, similar al tipo -15); SHV	R	R	R
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CDC0064	SPM	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0099	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0121	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0122	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0123	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0124	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0130	SME	R	R	R
<i>Serratia marcescens</i>	CDC0131	SME	R	R	R
Grupo <i>Enterobacter cloacae</i>	CDC0132	IMI	R	R	R
Complejo <i>Enterobacter cloacae</i>	CDC0164	IMI	R	R	R

a. S/I/R = Sensible/Intermedio/Resistente, ETP = Ertapenem, IMP = Imipenem, MEM = Meropenem

Tabla 22. Grupo de reactividad cruzada (microorganismos comensales y otros microorganismos intestinales)

ID de la cepa	Microorganismo	Concentración analizada (UFC/ml a menos que se especifique de otro modo)
ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i>	2,67E+06
ATCC 29212	<i>Enterococcus faecalis</i>	3,15E+06
ATCC 700603	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5,20E+06
ATCC 35218	<i>Escherichia coli</i>	2,47E+06
ATCC 25923	<i>Staphylococcus aureus</i>	4,53E+06
ATCC 27853	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3,17E+06
ATCC 9689	<i>Clostridium difficile</i> ^a	1,80E+07
ATCC 700621	<i>Enterobacter cloacae</i>	8,95E+06
ATCC 9756	<i>Enterococcus faecium</i>	6,54E+06
ATCC 13182	<i>Klebsiella oxytoca</i>	4,76E+06
ATCC BAA-747	<i>Acinetobacter baumannii</i>	2,27E+06
ATCC 33128	<i>Citrobacter freundii</i>	2,01E+06
ATCC 49948	<i>Morganella morganii</i>	8,19E+06
ATCC 51331	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3,15E+06
ATCC 27028	<i>Citrobacter koseri</i>	5,05E+06
ATCC 49809	<i>Providencia stuartii</i>	3,01E+06

Tabla 22. Grupo de reactividad cruzada (microorganismos comensales y otros microorganismos intestinales) (continuación)

ID de la cepa	Microorganismo	Concentración analizada (UFC/ml a menos que se especifique de otro modo)
ATCC 49037	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ^a	5,00E+05
CCUG 29780 / ATCC 12401	<i>Streptococcus agalactiae</i>	5,21E+06
ATCC 15703	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ^a	1,10E+08
ATCC 51697	<i>Enterobacter aerogenes</i>	3,19E+06
ATCC 43071	<i>Proteus mirabilis</i>	1,73E+06
CCUG 34787	Género <i>Acinetobacter</i>	2,40E+06
CCUG 418	<i>Citrobacter freundii</i>	2,95E+06
CCUG 33629	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	4,48E+06
CCUG 17874	<i>Helicobacter pylori</i>	1,61E+06
CCUG 33548	<i>Listeria monocytogenes</i>	4,77E+06
CCUG 6325	<i>Providencia alcalifaciens</i>	4,91E+06
CCUG 43594 / ATCC 33560	<i>Campylobacter jejuni</i> ^a	3,27E+06
MRVP/ZeptoMetrix	Adenovirus B tipo 7A/NY ^a	1,40E+05 TCID ₅₀ /ml
MRVP/ZeptoMetrix	Enterovirus tipo 71/NY ^a	4,40E+05 TCID ₅₀ /ml
Muestra clínica: Cepheid	Norovirus GI ^a	2,5 x 10 ⁷ copias de ARN/ml

a. Estos microorganismos fueron analizados en matriz de hisopos rectales y de hisopos perirrectales.

Tabla 23. Estirpe celular representativa de ADN genómico humano

Nombre de organismo	Origen
Carcinoma de células de vejiga urinaria (ADN genómico humano)	ATCC HTB-4

18.4 Interferencia competitiva

Se realizó un estudio de interferencias competitivas sobre si un título alto de un microorganismo productor de carbapenemasa o más interferirían con la detección de un segundo microorganismo productor de carbapenemasa diana que estaba presente a un título bajo. Las muestras de título alto se formularon a concentraciones de 5×10^6 UFC/hisopo y las dianas de título bajo se formularon a aproximadamente $2 \times LD$ para la cepa respectiva en la matriz de hisopos rectales o en la matriz de hisopos perirectales. En este estudio se usó una cepa bacteriana productora de carbapenemasa correspondiente a analito de cada gen, esto es, de los genes codificadores de KPC, NDM, VIM, OXA-48 e IMP. Cada tipo de cepa bacteriana productora de carbapenemasa se analizó a títulos bajos junto con un título alto de cada uno o dos de los otros tipos de cepas bacterianas productoras de carbapenemasa (Tabla 24). Las muestras se analizaron en réplicas de ocho.

Se observó un efecto inhibitor para tres de las cinco dianas (IMP, VIM y OXA-48) cuando una concentración baja de cada diana estaba presente en combinación con una alta concentración de uno o dos de las otras dianas para las muestras analizadas en la matriz de hisopos rectales. Las tres dianas (IMP, VIM y OXA-48) fueron analizadas a una mayor concentración ($4 \times LD$) en combinación con una alta concentración de una o dos de las otras dianas para las muestras en la matriz de hisopos rectales. No se observó un efecto inhibitor para las tres dianas (IMP, VIM y OXA-48) a $4 \times LD$ en presencia de coinfecciones clínicamente relevantes para el ensayo Xpert Carba-R.

Se observó un efecto inhibitor para dos de las cinco dianas (NDM e IMP) cuando una concentración baja de cada diana estaba presente en combinación con una alta concentración de uno o dos de las otras dianas para las muestras analizadas en la matriz de hisopos perirectales. Las dos dianas (NDM e IMP) fueron analizadas a una mayor concentración ($4 \times LD$) en combinación con una alta concentración de una o dos de las otras dos dianas para muestras en la matriz de hisopos perirectales. No se observó un efecto inhibitor para las dos dianas (NDM e IMP) a $4 \times LD$ en presencia de coinfecciones clínicamente relevantes para el ensayo Xpert Carba-R.

El efecto inhibitor competitivo en las dianas del Xpert Carba-R (NDM, IMP, VIM y OXA-48) se aborda en el Apartado 15, Limitaciones del prospecto.

Tabla 24. Combinaciones de bacterias productoras de carbapenemasa analizadas con el ensayo Xpert Carba-R

Combinación
Alto KPC/Alto NDM/Bajo VIM
Alto KPC/Alto NDM/Bajo OXA
Alto KPC/Alto NDM/Bajo IMP
Alto VIM/Alto OXA/Bajo KPC
Alto VIM/Alto OXA/Bajo NDM
Alto VIM/Alto OXA/Bajo IMP
Alto IMP/Bajo KPC
Alto IMP/Bajo NDM
Alto IMP/Bajo VIM
Alto IMP/Bajo OXA
Alto OXA/Bajo VIM
Alto VIM/Bajo OXA
Alto KPC/Bajo NDM
Negativo

18.5 Sustancias potencialmente interferentes

La eficacia del ensayo Xpert Carba-R se evaluó con 24 sustancias potencialmente interferentes que pueden estar presentes en las muestras de hisopos rectales y de hisopos perirectales. Las soluciones de las sustancias potencialmente interferentes se prepararon y analizaron a las concentraciones especificadas en la Tabla 25. Se incluyeron muestras positivas y negativas en este estudio. Las muestras positivas consistían en una mezcla de cinco microorganismos productores de carbapenemasa que albergan las secuencias de genes KPC, NDM, VIM, IMP-1 y OXA-48 insemnadas en la matriz de hisopos rectales negativos combinados o en la matriz de hisopos perirectales negativos combinados a aproximadamente 3 x LD. Se analizaron 8 muestras positivas de réplicas por sustancia. Las muestras negativas consistían en matriz de hisopos rectales negativos combinados o en matriz de hisopos perirectales negativos combinados no insemnadas con microorganismos productores de carbapenemasa. Se analizaron 8 réplicas de muestras negativas por cada sustancia para determinar el efecto en la eficacia del control de procesamiento de muestras (SPC). Los controles consistían en muestras positivas y negativas sin sustancias interferentes añadidas. El efecto de cada sustancia potencialmente interferente en las réplicas positivas y negativas se evaluó comparando los valores de umbral de ciclo diana (Ct) generados en presencia de la sustancia con los valores Ct obtenidos con controles que carecían de la sustancia. Las muestras de réplicas positivas y negativas para 22 sustancias potencialmente interferentes fueron identificadas correctamente con el ensayo Xpert Carba-R. Se pueden observar interferencias con el ensayo Xpert Carba-R con sulfato de bario a una concentración de >0,1 % p/v y Pepto-Bismol a >0,01 % p/v en pruebas con muestras de matriz de hisopos rectales. Véase el Apartado 15, Limitaciones en el prospecto. Las muestras de la matriz de hisopos rectales, positivas para una mezcla de cinco microorganismos productores de carbapenemasa que albergan secuencias de genes KPC, NDM, VIM, IMP-1 y OXA-48 que fueron analizadas con grasa fecal a 0,25 % p/v, no produjeron ningunos resultados de negativos falsos, sin embargo, se observaron valores de umbral de ciclo demorado para la diana VIM. Esta potencial interferencia de la presencia de 0,25 % p/v grasa fecal se suministra en el apartado Limitaciones del prospecto. Se pueden observar interferencias con el ensayo Xpert Carba-R con sulfato de bario a una concentración de >0,1 % p/v y Pepto-Bismol a una concentración de >0,025 % p/v en pruebas con muestras de matriz de hisopos perirectales. Consulte la Apartado 15, Limitaciones.

Tabla 25. Sustancias potencialmente interferentes analizadas

Sustancia/clase	Principio activo	Concentración analizada
Antiinflamatorios no esteroideos	Naproxeno	0,25 % p/v
Compuesto para estudios de imagen	Sulfato de bario	0,25 % y 0,1 % p/v
Antibiótico (oral)	Cefalexina	0,25 % p/v
Antibiótico (oral)	Ciprofloxacina	0,25 % p/v
Preservativo con lubricante espermicida	Nonoxinol-9	1 preservativo ^a
Cremas/pomadas/supositorios	Hidrocortisona	0,25 % p/v
Laxante	Senósidos	0,25 % p/v
Lípidos	Ácido esteárico/ácido palmítico/colesterol (grasa fecal)	0,25 % p/v
Antidiarreicos	Hidrocloruro de loperamida/subsalicilato de bismuto (Imodium)	0,25 % p/v
Antidiarreicos	Hidrocloruro de loperamida/subsalicilato de bismuto (Kaopectate)	0,25 % p/v
Crema tópica	K-Y Jelly	0,25 % p/v
Antiácidos	Carbonato de calcio/hidróxido de aluminio/hidróxido de magnesio/simeticona (Leche de magnesia)	0,25 % p/v
Enemas	Aceite de vaselina	0,25 % p/v
Antibiótico (tópico)	Polimixina B/Neomicina/Bacitracina (Neosporin)	0,25 % p/v
Antifúngico/antiprurito vaginal	Nistatina	0,25 % p/v
Antiácido	Famotidina (Pepcid)	0,25 % p/v

Tabla 25. Sustancias potencialmente interferentes analizadas (continuación)

Sustancia/clase	Principio activo	Concentración analizada
Antidiarreicos	Hidrocloruro de loperamida/subsalicilato de bismuto (Pepto-Bismol)	0,25 %, 0,1 %, 0,05 %, 0,025 %, 0,01 % p/v
Crema tópica	Vaselina	0,25 % p/v
Cremas/pomadas antihemorroidales	Fenilefrina (Preparación H)	0,25 % p/v
Reductor de ácido; antiácido	Omeprazol (Prilosec)	0,25 % p/v
Enemas	Enema salino	0,25 % p/v
Antiácido	Cimetidina (Tagamet)	0,25 % p/v
Antifúngico/antiprurito vaginal	Benzocaína, resorcinol (Vagisil)	0,25 % p/v
Toallitas húmedas	Cloruro de benzalconio, etanol (Wet Ones)	1 trozo ^b

- a. Un preservativo añadido a 40 ml de matriz de hisopos.
 b. Un trozo (12,7 cm x 19,05 cm) añadido a 40 ml de matriz de hisopos.

18.6 Estudio de contaminación por arrastre

Se llevó a cabo un estudio para demostrar que los cartuchos GeneXpert autónomos de un solo uso previenen la contaminación por arrastre en muestras negativas procesadas después de muestras positivas muy altas. El estudio consistió en una muestra negativa procesada en el mismo módulo GeneXpert inmediatamente después de una muestra muy altamente positiva. La muestra altamente positiva estaba compuesta de células de *E. coli* inactivadas que contenían un plásmido con una inserción consistente en un oligonucleótido sintético de las secuencias de los amplicones de los cinco genes de los analitos diana del ensayo Xpert Carba-R (dianas KPC, NDM, VIM, IMP y OXA-48). Las células positivas se diluyeron en matriz de hisopos rectales negativos combinados y en matriz de hisopos perirectales negativos combinados a una concentración de 1×10^6 UFC/ml. El programa de análisis se repitió 25 veces en dos módulos GeneXpert, con un total de 102 pruebas (25 muestras altamente positivas por módulo y 26 muestras negativas por módulo) para la matriz de hisopos rectales y para la matriz de hisopos perirectales. En cada tipo de matriz analizado, todas las 50 muestras positivas arrojaron correctamente un resultado **DETECTADO (DETECTED)** en todas las dianas del Xpert Carba-R, y todas las 52 muestras negativas dieron correctamente un resultado **NO DETECTADO (NOT DETECTED)** en todas las dianas del Xpert Carba-R en cada tipo de matriz analizado.

19 Reproducibilidad

19.1 Estudio de matrices de hisopos rectales y perirectales

Se evaluó la reproducibilidad del ensayo Xpert Carba-R usando dos grupos de 11 muestras, uno preparado en matriz de hisopos rectales negativos combinados y uno preparado en matriz de hisopos perirectales negativos combinados. Dos operadores en cada uno de los tres centros de estudio analizaron un grupo de 11 muestras en réplicas de cuatro al día a lo largo de seis días de pruebas (11 muestras x 2 réplicas x 2 veces/día x 6 días x 2 operadores x 3 centros). Se utilizaron tres lotes de cartuchos del ensayo Xpert Carba-R en cada uno de los 3 centros de análisis. El ensayo Xpert Carba-R se realizó siguiendo el procedimiento del ensayo Xpert Carba-R. Los resultados se resumen en la Tabla 26.

Tabla 26. Resumen de resultados de reproducibilidad - % acuerdo, matrices de hisopos rectales y perirrectales

Muestra	Matriz ^a	Centro 1			Centro 2			Centro 3			% de concordancia total por muestra
		Op 1	Op 2	Centro	Op 1	Op 2	Centro	Op 1	Op 2	Centro	
Neg	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Pos. mod. en IMP	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Pos. bajo en IMP	R	91,7 % (22/24)	87,5 % (21/24)	89,5 % (43/48)	83,3 % (20/24)	87,5 % (21/24)	85,4 % (41/48)	87,5 % (21/24)	79,2 % (19/24)	83,3 % (40/48)	86,1 % (124/144)
Pos. mod. en VIM	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Pos. bajo en VIM	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Pos. mod. en NDM	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Pos. bajo en NDM	R	91,7 % (22/24)	95,8 % (23/24)	93,8 % (45/48)	95,8 % (23/24)	95,8 % (23/24)	95,8 % (46/48)	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	95,1 % (137/144)
Pos. mod. en KPC	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Pos. bajo en KPC	R	95,8 % (23/24)	100 % (24/24)	97,9 % (47/48)	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	95,8 % (23/24)	95,8 % (23/24)	95,8 % (46/48)	96,5 % (139/144)
Pos. mod. en OXA-48	R	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Pos. bajo en OXA-48	R	95,8 % (23/24)	100 % (24/24)	97,9 % (47/48)	95,8 % (23/24)	100 % (24/24)	97,9 % (47/48)	91,7 % (22/24)	100 % (24/24)	95,8 % (46/48)	97,2 % (140/144)
Neg	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Pos. mod. en IMP	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Pos. bajo en IMP	PR	95,8 % (23/24)	91,7 % (22/24)	93,8 % (45/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	96,5 % (139/144)
Pos. mod. en VIM	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Pos. bajo en VIM	PR	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	91,7 % (22/24)	91,7 % (22/24)	91,7 % (44/48)	95,8 % (23/24)	83,3 % (20/24)	89,6 % (43/48)	92,4 % (133/144)
Pos. mod. en NDM	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Pos. bajo en NDM	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	87,5 % (21/24)	100 % (24/24)	93,8 % (45/48)	97,9 % (141/144)
Pos. mod. en KPC	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Pos. bajo en KPC	PR	91,7 % (22/24)	91,7 % (22/24)	91,7 % (44/48)	91,7 % (22/24)	95,8 % (23/24)	93,8 % (45/48)	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	93,8 % (135/144)
Pos. mod. en OXA-48	PR	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Pos. bajo en OXA-48	PR	87,5 % (21/24)	87,5 % (21/24)	87,5 % (42/48)	100 % (24/24)	95,8 % (23/24)	97,9 % (47/48)	95,8 % (23/24)	95,8 % (23/24)	95,8 % (46/48)	93,8 % (135/144)

a. R = rectal, PR = perirrectal

La reproducibilidad del ensayo Xpert Carba-R también se evaluó en función de la señal de fluorescencia expresada en valores de Ct para cada diana detectada. La media, la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV) entre centros, entre lotes, entre días, entre operadores e intraensayo correspondientes a cada miembro del grupo de muestras se presentan en la Tabla 27.

Tabla 27. Resumen de los datos de reproducibilidad, matrices de hisopos rectales y perirrectales

Muestra	Matriz ^a	Canal del ensayo (analito)	N ^b	Ct medio	Entre centros		Entre lotes		Entre días		Entre operadores		Intra-ensayo		Total	
					DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
Neg	R	SPC	144	32,9	0,2	0,5	0,2	0,7	0,0	0,1	0,0	0	0,6	1,8	0,7	2,0
Pos. mod. en IMP	R	IMP	144	34,5	0,0	0,0	0,2	0,5	0	0,0	0,1	0,2	0,7	2,0	0,7	2,1
Pos. bajo en IMP	R	IMP	140	36,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,5	0,0	0	1,2	3,3	1,2	3,4
Pos. mod. en VIM	R	VIM	144	31,0	0,0	0,0	0,3	0,9	0	0,0	0,2	0,5	0,5	1,6	0,6	1,9
Pos. bajo en VIM	R	VIM	144	33,8	0,0	0,0	0,6	1,8	0,3	0,9	0,3	1,0	1,4	4,0	1,6	4,6
Pos. mod. en NDM	R	NDM	144	33,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,6	1,7	0,6	1,7
Pos. bajo en NDM	R	NDM	143	36,2	0,2	0,7	0,0	0,0	0,3	0,7	0,0	0,0	0,8	2,3	0,9	2,5
Pos. mod. en KPC	R	KPC	144	34,2	0,0	0,0	0,3	0,8	0,2	0,6	0,0	0,0	0,4	1,2	0,6	1,6
Pos. bajo en KPC	R	KPC	141	35,8	0,0	0,0	0,5	1,5	0,0	0,0	0,3	0,9	0,7	1,9	0,9	2,6
Pos. mod. en OXA-48	R	OXA-48	144	34,3	0,0	0,0	0,2	0,5	0,2	0,5	0,1	0,3	0,5	1,6	0,6	1,7
Pos. bajo en OXA-48	R	OXA-48	143	36,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,8	2,3	0,9	2,4
Neg	PR	SPC	144	32,7	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,2	0,5	0,4	1,2	0,5	1,4
Pos. mod. en IMP	PR	IMP	144	33,7	0,0	0,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,2	0,5	0,5	1,5	0,5	1,6
Pos. bajo en IMP	PR	IMP	142	36,0	0,2	0,5	0,0	0,0	0,1	0,3	0,2	0,5	0,8	2,1	0,8	2,3
Pos. mod. en VIM	PR	VIM	144	31,2	0,1	0,2	0,1	0,3	0,0	0,1	0,2	0,5	0,4	1,3	0,5	1,5
Pos. bajo en VIM	PR	VIM	142	35,0	0,0	0,0	0,6	1,6	0,0	0,0	0,6	1,7	1,4	4,1	1,6	4,7
Pos. mod. en NDM	PR	NDM	144	33,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,5	0,2	0,5	0,4	1,2	0,5	1,4
Pos. bajo en NDM	PR	NDM	143	35,7	0,2	0,5	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,0	0,9	2,4	0,9	2,5
Pos. mod. en KPC	PR	KPC	144	34,6	0,0	0,0	0,3	1,0	0,0	0,0	0,2	0,5	0,4	1,3	0,6	1,7
Pos. bajo en KPC	PR	KPC	143	36,4	0,0	0,0	0,5	1,3	0,1	0,4	0,0	0,0	0,7	2,0	0,9	2,4
Pos. mod. en OXA-48	PR	OXA-48	144	34,4	0,1	0,2	0,2	0,6	0,0	0,0	0,2	0,5	0,5	1,5	0,6	1,7
Pos. bajo en OXA-48	PR	OXA-48	144	36,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	1,2	0,0	0,0	1,0	2,7	1,1	2,9

a. R = rectal, PR = perirrectal

b. Resultados con valores de Ct distintos a cero de entre 144.

19.2 Estudio de aislados bacterianos

La reproducibilidad del ensayo Xpert Carba-R se evaluó utilizando un grupo de 13 muestras bacterianas que incluyeron: dos microorganismos diferentes por cada una de las cinco dianas de gen de resistencia detectadas por el ensayo Xpert Carba-R; dos muestras de inventario que incluyeron dos dianas de gen; y una muestra de inventario negativa para todas las cinco dianas de gen. Dos operadores en cada uno de los tres centros del estudio analizaron un grupo de 13 muestras en réplicas de cuatro por día. Se utilizó cada una de las muestras para hacer dos suspensiones equivalentes al patrón McFarland 0,5 a partir de las que se analizaron dos réplicas durante seis días de análisis (13 muestras x 2 réplicas x 2 veces/día x 6 días x 2 operadores x 3 centros). Se utilizaron tres lotes de cartuchos del ensayo Xpert Carba-R en cada uno de los 3 centros de análisis. El ensayo Xpert Carba-R se realizó siguiendo el procedimiento del ensayo Xpert Carba-R. Una vez realizadas estas pruebas, 25 de ellas realizadas en un módulo del instrumento se excluyeron, por lo que se incluyeron un total de 1847 muestras en los análisis. Los resultados se resumen en la Tabla 28.

Tabla 28. Resumen de los resultados de reproducibilidad - % acuerdo, aislados bacterianos

Gen de resistencia (n.º de muestra)	Centro 1			Centro 2			Centro 3			% de concordancia total por muestra
	Op 1	Op 2	Centro	Op 1	Op 2	Centro	Op 1	Op 2	Centro	
KPC (1)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
KPC (2)	100 % (23/23)	100 % (22/22)	100 % (45/45)	95,8 % (23/24)	100 % (24/24)	97,9 % (47/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	99,3 % (140/141)
VIM (1)	100 % (22/22)	100 % (23/23)	100 % (45/45)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (141/141)
VIM (2)	100 % (22/22)	100 % (24/24)	100 % (46/46)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (142/142)
IMP (1)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (47/47)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (143/143)
IMP (2)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (46/46)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (142/142)
OXA (1)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (46/46)	100 % (24/24)	91,7 % (22/24)	95,8 % (46/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	98,6 % (140/142)
OXA (2)	100 % (23/23)	100 % (22/22)	100 % (45/45)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (141/141)
NDM (1)	100 % (22/22)	100 % (21/21)	100 % (43/43)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (139/139)
NDM (2)	100 % (23/23)	100 % (23/23)	100 % (46/46)	91,7 % (22/24)	100 % (24/24)	95,8 % (46/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	98,6 % (140/142)
OXA,NDM (1)	100 % (24/24)	100 % (23/23)	100 % (47/47)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (143/143)
OXA,NDM (2)	100 % (23/23)	100 % (24/24)	100 % (47/47)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (143/143)
NEG	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (144/144)

La reproducibilidad del ensayo Xpert Carba-R también se evaluó en términos de la señal de fluorescencia expresada en valores de Ct para cada diana detectada. La media, la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV) entre centros, entre lotes, entre días, entre operadores e intraensayo correspondientes a cada miembro del grupo de muestras se presentan en la Tabla 29.

Tabla 29. Resumen de datos de reproducibilidad - aislados bacterianos

Gen de resistencia (n.º de muestra)	Canal del ensayo (analito)	N ^a	Entre centros		Entre lotes		Entre días		Entre operadores		Intra-ensayo		Total	
			DE	CV	DE	CV	DE	CV	DE	CV	DE	CV	DE	CV
KPC (1)	KPC	144	1,1	4,4	0	0	0	0	0,6	2,6	0,6	2,6	1,4	5,8
KPC (2)	KPC	143	0,8	3,1	0,1	0,2	0,2	0,9	0,5	2,0	0,8	3,1	1,2	4,9
VIM (1)	VIM	141	1,1	5,1	0	0	0	0	0,5	2,3	0,8	3,7	1,5	6,7
VIM (2)	VIM	142	0,3	1,3	0,2	0,8	0	0	0,8	3,8	0,7	3,1	1,1	5,1
IMP (1)	IMP	143	0,3	1,0	0	0	0,3	1,2	0,6	2,3	0,8	3,1	1,0	4,2
IMP (2)	IMP	142	1,4	6,3	0,1	0,5	0	0	0,6	2,8	0,7	3,2	1,7	7,6
OXA (1)	OXA48	140	0,6	2,6	0	0	0	0	0,7	2,8	0,8	3,5	1,2	5,2
OXA (2)	OXA48	141	1,1	4,9	0,3	1,5	0	0	0,5	2,0	0,7	3,3	1,5	6,4
NDM (1)	NDM	139	1,2	5,3	0	0	0	0	0,6	2,4	0,7	3,1	1,5	6,6
NDM (2)	NDM	140	0,9	4,0	0,3	1,4	0	0	0,8	3,3	0,8	3,3	1,5	6,3
NDM/OXA (1)	NDM	143	1,3	5,4	0,2	0,8	0	0	0,6	2,5	0,7	3,1	1,6	6,8
	OXA48	143	1,2	6,2	0,3	1,4	0	0	0,5	2,4	0,7	3,7	1,5	7,7
NDM/OXA (2)	NDM	143	1,2	5,3	0,2	1,1	0	0	0,5	2,4	0,8	3,5	1,6	6,9
	OXA48	143	1,2	6,0	0,2	1,2	0	0	0,5	2,5	0,7	3,8	1,5	7,6
NEG	SPC	144	0,1	0,3	0,1	0,3	0	0	0,2	0,5	0,4	1,3	0,5	1,5

a. Resultados con valores de Ct distintos a cero de entre 144.

20 Bibliografía

1. Kallen AJ, et al. 2010. Current epidemiology of multidrug-resistant gram-negative bacilli in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 31 Suppl 1: S51–54.
2. Nordmann P, et al. 2012. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: a call for action! *Clin Microbiol Infect.* 18: 411–412.
3. Cornaglia G, et al. 2011. Metallo-beta-lactamases: a last frontier for beta-lactams? *Lancet Infect Dis.* 11: 381–393.
4. Kitchel B, et al. 2009. Molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in the United States: Clonal expansion of MLST sequence type 258. *Antimicrob Agents Chemother.* 53:3365–3370.
5. Schwaber MJ, et al. 2011. Containment of a country-wide outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Israeli hospitals via a nationally implemented intervention. *Clin Infect Dis.* 52: 848–855.
6. Kumarasamy KK, et al. 2010. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis.* 10: 597–602.
7. Cuzon G, et al. 2008. Plasmid-encoded carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase OXA-48 in an imipenem-susceptible *Klebsiella pneumoniae* strain from Belgium. *Antimicrob Agents Chemother.* 52: 3463–3464.
8. Nordmann P, et al. 2011. Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis.* 17: 1791–1798.
9. Grundmann H, et al. 2010. Carbapenem-non-susceptible *Enterobacteriaceae* in Europe: conclusions from a meeting of national experts. *Euro Surveill.* 15:1-13.
10. van Duin D, et al. 2016. Ceftazidime/avibactam and ceftolozane/tazobactam: second-generation β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations. *Clin Infect Dis.* 63(2):234-241.
11. Falcone M, Paterson D. 2016. Spotlight on ceftazidime/avibactam: a new option for MDR gram-negative infections. *J Antimicrob.* 71(10):2713-2722.
12. Navas, M and Jacobs M. 2016. Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae* - A review for laboratorians. American Association for Clinical Chemistry (AACC) Clinical Laboratory News.
13. Vasoo S, et al. 2015. In vitro activities of ceftazidime-avibactam, aztreonam-avibactam, and a panel of older and contemporary antimicrobial agents against carbapenemase-producing gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother.* 59(12):7842-7846.
14. Avycaz package insert. Section 14.2 Microbiology.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (refer to latest edition). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications>
16. Centers for Disease Control and Prevention. Accessed January 20, 2016. Healthcare-associated Infections (HAIs). <http://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/cre-facilities.html>
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline, Document M29 (refer to latest edition).
18. 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).
19. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
20. CLSI M100. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA (refer to latest edition).
21. CLSI M07-A10. 2015. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically; Tenth Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
22. CLSI M100-S24. 2014. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
23. CLSI M07-A9. 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically; Ninth Edition, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.

21 Oficinas centrales de Cepheid

Oficinas centrales corporativas

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Estados Unidos
Teléfono: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Oficinas centrales europeas

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francia
Teléfono: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22 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) del ordenador.

Información de contacto

Estados Unidos
Teléfono: + 1 888 838 3222
















Correo electrónico: techsupport@cepheid.com

Francia
Teléfono: + 33 563 825 319

Correo electrónico: 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/CustomerSupport.

23 Tabla de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	No reutilizar
	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
	Atención
	Para uso exclusivo con receta



Cepheid
 904 Caribbean Drive
 Sunnyvale, CA 94089
 EE. UU.
 Teléfono: + 1 408 541 4191
 Fax: + 1 408 541 4192



For Information Only - Not a Controlled Copy