

Xpert[®] MRSA NxG

REF GXMRSA-NXG-10
GXMRSA-NXG-120

For Information Only - Not A Controlled Copy

Trademark, Patents and Copyright Statements

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

ESwab[™] is a trademark of Copan Diagnostics, Inc.

Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

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

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

Copyright Cepheid 2019. All rights reserved.

Declaraciones sobre marcas comerciales, patentes y derechos de propiedad intelectual

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

ESwab[™] es una marca comercial de Copan Diagnostics, Inc.

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

La compra de este producto incluye una licencia limitada e intransferible según la patente estadounidense 7,449,289 y sus equivalentes internacionales, propiedad de GeneOhm Sciences Canada, Inc (una filial de Becton, Dickinson and Company) para utilizar este producto para uso IVD humano con un instrumento de GeneXpert[®]. No se transfiere ningún derecho de forma explícita, implícita ni por impedimento legal para utilizar este producto para ningún otro propósito.

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 2019. Reservados todos los derechos.



Cepheid

904 Caribbean Drive

Sunnyvale, CA 94089

USA

Phone: +1 408 541 4191

Fax: +1 408 541 4192

Xpert[®] MRSA NxG

Rx only

Para uso diagnóstico *in vitro*

1 Nombre patentado

Xpert[®] MRSA NxG

2 Denominación común o habitual

Prueba Xpert MRSA NxG

3 Indicaciones

La prueba Xpert MRSA NxG, realizada en el sistema del instrumento GeneXpert[®], es una prueba cualitativa de diagnóstico *in vitro* para la detección de ADN de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) directamente de hisopos nasales de pacientes en riesgo de colonización nasal. La prueba utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real automatizada para la amplificación de dianas de ADN específicas de SARM y sondas de hibridación fluorógenas específicas de dianas para la detección en tiempo real del ADN amplificado. La prueba Xpert MRSA NxG está indicada como una ayuda para la prevención y el control de las infecciones por SARM en entornos sanitarios. La prueba Xpert MRSA NxG no está indicada para diagnosticar, guiar ni monitorizar el tratamiento de las infecciones por SARM, ni para proporcionar resultados de sensibilidad a la meticilina. Un resultado negativo no excluye la colonización nasal por SARM. Los cultivos concomitantes son necesarios para la recuperación de los microorganismos para su tipificación epidemiológica o para pruebas de sensibilidad adicionales.

4 Resumen y explicación

El *Staphylococcus aureus* (SA) es un patógeno oportunista humano bien documentado causante de infecciones tanto comunitarias como asociadas a la atención sanitaria. Es un importante patógeno asociado a la atención sanitaria que puede causar diversas enfermedades, como bacteriemia, neumonía, osteomielitis, endocarditis aguda, síndrome de choque tóxico, intoxicación alimentaria, miocarditis, síndrome de la piel escaldada, ántrax, forúnculos y abscesos.¹

A principios de los años cincuenta del siglo pasado, la obtención y propagación de plásmidos codificadores de beta-lactamasas frustró la eficacia de la penicilina para el tratamiento de las infecciones por *S. aureus* (SA). En 1959 se introdujo la meticilina, una penicilina semisintética. Sin embargo, en 1960 ya se habían identificado cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (SARM). Ahora se sabe que SA se hace resistente cuando adquiere un complejo génico de cromosoma estafilocócico tipo cassette (SCC) *mec* que contiene *mecA* o *mecC*. El SARM provoca infecciones en entornos tanto sanitarios como comunitarios, lo que ocasiona un alto grado de morbimortalidad. Se ha atribuido una mortalidad del 33 % a la bacteriemia por SARM. Para limitar la propagación de estas infecciones se han desarrollado estrategias y políticas de control que se han puesto en práctica en diversos entornos sanitarios. El control del SARM es uno de los objetivos principales de la mayoría de los programas de control de las infecciones hospitalarias.¹⁻⁵ Actualmente, el método habitual para detectar SARM es el cultivo, que puede tardar varios días en generar un resultado definitivo. Un estudio realizado entre pacientes de hospitales de la Administración de Veteranos de Estados Unidos observó que el uso de pruebas universales de detección sistemática de la colonización nasal por SARM en pacientes, realizadas en el momento del ingreso como parte de un paquete de medidas de control de infecciones, mostró un considerable efecto en la reducción de las infecciones por SARM asociadas a la atención sanitaria.⁶

5 Principio del procedimiento

La prueba Xpert MRSA NxG se realiza en los sistemas del instrumento GeneXpert. 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 y software precargado para realizar las pruebas y mostrar 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 de los sistemas, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)* o el *Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity (GeneXpert Infinity System Operator Manual)*.

La prueba Xpert MRSA NxG incluye reactivos para la detección de SARM. En el cartucho se incluye, además, un control de procesamiento de muestras (Sample Processing Control, SPC) y un control de comprobación de la sonda (Probe Check Control, PCC). El SPC está presente para controlar el procesamiento adecuado de la muestra y para comprobar la presencia de inhibidores en la reacción PCR. El 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 de la prueba Xpert MRSA NxG detectan secuencias patentadas de la resistencia a la metilina y la oxacilina (genes *mecA* y *mecC*), y el *SCCmec*, que está insertado en el cromosoma del SA en el sitio *attB*.

Una función de terminación precoz del ensayo proporciona resultados positivos si el ADN diana alcanza un umbral predeterminado antes de que finalicen todos los 40 ciclos de PCR. Cuando los niveles de SARM diana (*mecA/mecC* y *SCCmec*) sean suficientemente altos como para generar Ct muy precoces, la curva de amplificación del SPC no se verá, y sus resultados no se notificarán.

6 Reactivos e instrumentos

6.1 Materiales suministrados



El kit de la prueba Xpert MRSA NxG (GXMRSA-NXG-10 o GXMRSA-NXG-120) contiene reactivos suficientes para procesar 10 o 120 muestras, respectivamente. Los kits contienen lo siguiente:

Cartuchos del Xpert MRSA NxG con tubos de reacción integrados	10 por kit	120 por kit
• Microesfera 1, microesfera 2 y microesfera 3 (liofilizadas)	1 de cada por cartucho	1 de cada por cartucho
• Reactivo 1	3,0 ml por cartucho	3,0 ml por cartucho
• Reactivo 2 (hidróxido sódico)	3,5 ml por cartucho	3,5 ml por cartucho
Reactivo de elución del Xpert MRSA NxG (tiocianato de guanidinio)	10 x 2,0 ml por frasco	120 x 2,0 ml por frasco
CD	1 por kit	1 por kit
• Archivos de definición del ensayo (Assay Definition Files, ADF)		
• Instrucciones para importar el ADF en el software		
• Instrucciones de uso (prospecto)		

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

Nota La albúmina sérica bovina (BSA) del interior de las microesferas de este producto se obtuvo y se fabricó exclusivamente a partir de plasma bovino originario de Estados Unidos. Los animales no fueron alimentados con proteínas de rumiantes ni con otras proteínas animales; los animales superaron 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 y los reactivos de la prueba Xpert MRSA NxG a una temperatura de entre 2 y 28 °C.
- No utilice los reactivos ni los cartuchos después de la fecha de caducidad indicada.
- No abra la tapa del cartucho hasta el momento de realizar la prueba.
- El reactivo de elución es un líquido incoloro. No utilice el reactivo de elución si ha cambiado de color.

6.3 Materiales requeridos pero no suministrados

- Sistema GeneXpert Dx o sistemas GeneXpert Infinity (el número de catálogo varía según la configuración): Instrumento GeneXpert, ordenador con software GeneXpert patentado versión 4.3 o superior, lector de códigos de barras y manual del operador.
- Impresora: Si se requiere una impresora, póngase en contacto con el servicio técnico de Cepheid para organizar la compra de una impresora recomendada.
- Agitadora vorticial
- Hisopos para la recogida de muestras, como los hisopos suministrados en el dispositivo de recogida de muestras Cepheid (hisopo de rayón doble en medio Stuart líquido, n.º de ref. 900-0370) o los sistemas de hisopo de rayón doble y transporte Copan (139C LQ STUART) o el sistema de recogida y transporte de hisopos (ESwab) mediante elución con medio Amies líquido (Copan 480C, Copan 480CE o kit de recogida BD ESwab, n.º de ref. 220245).
- Pipeta para transferencia de una muestra de ESwab, como las pipetas Poly-Pipets de 300 µl desechables, la pipeta de transferencia de volumen exacto estéril (n.º de ref. 300-8533) o una equivalente.
- Pipetas de transferencia desechables estériles para la transferencia del reactivo de elución Xpert MRSA NxG.
- Gasa estéril

6.4 Materiales disponibles pero no suministrados


- Control negativo de SARM NATrol, número de catálogo de ZeptoMetrix Corporation NATMSSE-6MC (*Staphylococcus epidermidis* sensible a la meticilina inactivado)
- Control positivo de SARM NATrol, número de catálogo de ZeptoMetrix Corporation NATMRS-6MC (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina inactivado)

7 Advertencias y precauciones



- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Para uso exclusivo con receta.
- Trate todas las muestras biológicas, incluidos los cartuchos y los reactivos usados, como si pudieran transmitir agentes infecciosos. Con frecuencia es imposible saber qué muestras podrían ser infecciosas, por lo que todas las muestras biológicas deben tratarse tomando las precauciones habituales. Las directrices para la manipulación de las muestras están disponibles en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention)⁷ y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute)⁸ de Estados Unidos.
- Siga los procedimientos de seguridad del centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- No sustituya los reactivos de la prueba Xpert MRSA NxG por otros reactivos.
- No abra la tapa del cartucho de la prueba Xpert MRSA NxG 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 una 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 de la prueba Xpert MRSA NxG 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.
- 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 utilizados 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.
- La fiabilidad de los resultados depende de la realización correcta de la recogida, el transporte, la conservación y el procesamiento de las muestras. La prueba puede arrojar resultados incorrectos si las muestras no se recogen, manipulan y conservan correctamente, si se confunden las muestras o si el número de microorganismos presentes en la muestra es inferior al límite de detección de la prueba. Para evitar resultados erróneos es necesario seguir cuidadosamente las instrucciones del prospecto y el manual del usuario del sistema GeneXpert.
- Si la prueba Xpert MRSA NxG se realiza fuera de los intervalos de tiempo y temperatura recomendados, es posible que se obtengan resultados erróneos o no válidos. Las pruebas no realizadas dentro de los intervalos especificados deberán repetirse.

8 Peligros químicos^{9,10}

- Pictograma de peligro del SGA de la ONU: 
- Palabra de advertencia: ATENCIÓN
- **Declaraciones de peligro del SGA de la ONU**
 - Nocivo en caso de ingestión.
 - Provoca irritación cutánea.
 - Provoca irritación ocular grave.
- **Declaraciones de precaución del SGA de la ONU**
 - **Prevención**
 - Lavarse concienzudamente tras la manipulación.
 - No comer, beber, ni fumar durante su utilización.
 - Evitar su liberación al medio ambiente.
 - Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
 - **Respuesta**
 - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.
 - Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
 - Se necesita un tratamiento específico (ver información adicional de medidas de primeros auxilios).
 - En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.
 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
 - Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.
 - EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico si se encuentra mal.
 - Enjuagarse la boca.
 - **Almacenamiento/eliminación**
 - Eliminar el contenido del recipiente en conformidad con los reglamentos locales, regionales, nacionales e internacionales.

9 Recogida, transporte y conservación de las muestras

9.1 Recogida de muestras

Siga las directrices de su centro para recoger muestras de hisopos nasales utilizando un dispositivo de recogida y transporte recomendado (consulte el apartado 6.3, «Materiales requeridos pero no suministrados») y siga las instrucciones indicadas a continuación:

- Al utilizar los hisopos de rayón dobles, mantenga los dos hisopos fijados a la tapa roja en todo momento. Sosteniendo la tapa del hisopo con los dos hisopos fijados, obtenga muestras de las fosas nasales, primero de una y después de la otra. Introduzca las muestras de hisopo doble en el tubo de transporte con medio Stuart líquido.
- Cuando utilice el hisopo ESwab, recoja la muestra nasal de cada una de las fosas nasales, primero de una y después de la otra, utilizando el mismo hisopo. Introduzca el hisopo en el tubo de transporte con medio de transporte Stuart líquido.

9.2 Transporte y conservación de las muestras

Para garantizar la integridad de la muestra del hisopo, mantenga las condiciones de transporte y conservación adecuadas de la muestra antes de utilizarla. La estabilidad de las muestras en condiciones de transporte y almacenamiento distintas a las recomendadas más abajo en la Tabla 1 no se ha evaluado con la prueba Xpert MRSA NxG.

Tabla 1. Condiciones de transporte y conservación de las muestras

Dispositivo de recogida de muestras	Temperatura de transporte y conservación de las muestras (°C)	Tiempo de conservación de las muestras
Rayón (doble Cepheid) o ESwab	15 °C-30 °C	Hasta 24 horas
	2 °C-8 °C	Hasta 7 días

10 Procedimiento

10.1 Preparación del cartucho

Importante

Introduzca el cartucho en el instrumento GeneXpert en los 30 minutos posteriores a la adición del reactivo de elución al cartucho.

1. Extraiga un cartucho y un frasco de reactivo de elución del kit de la prueba Xpert MRSA NxG.
2. Para añadir la muestra al cartucho:

Si utiliza los hisopos dobles, extráigalos del recipiente de transporte. Utilice solamente uno de los hisopos para la realización de la prueba. El segundo hisopo puede utilizarse para repetir la prueba y debe conservarse según lo indicado en la Tabla 1.

- Introduzca el hisopo en el frasco que contenga el reactivo de elución, parta el hisopo por la marca rayada en el mango del hisopo y continúe en el Paso 3.

Nota

Envuelva el vástago del hisopo y la boca del frasco de reactivo de elución con gasa estéril (no suministrada) al partir el hisopo para reducir al mínimo el riesgo de contaminación.

Si utiliza el ESwab, mezcle el medio de transporte Amies líquido que contenga la muestra del hisopo agitándolo en una agitadora vorticial a alta velocidad durante 5 segundos para liberar la muestra de la punta del hisopo y dispersarla uniformemente en el medio de transporte líquido.

- Utilizando una pipeta de transferencia de volumen exacto (no suministrada), transfiera 300 µl de la muestra líquida al frasco de reactivo de elución y continúe en el Paso 3.
3. Cierre la tapa del frasco de reactivo de elución y agite el frasco en una agitadora vorticial a alta velocidad durante 10 segundos.
 4. Abra la tapa del cartucho. Con una pipeta de transferencia (no suministrada), transfiera todo el contenido del frasco de reactivo de elución a la cámara de muestras del cartucho de la prueba Xpert MRSA NxG. Consulte la Figura 1.
 5. Cierre la tapa del cartucho e inicie la prueba.

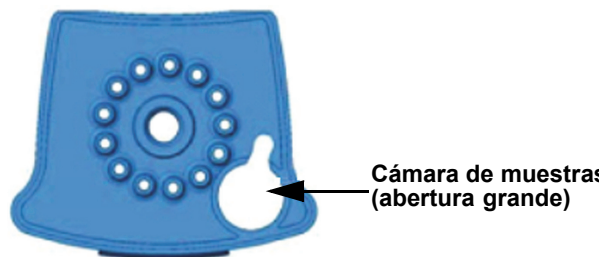


Figura 1. Cartucho de prueba Xpert MRSA NxG (vista superior)

10.2 Inicio de la prueba

Importante Antes de iniciar la prueba, asegúrese de que se haya importado al software el archivo de definición de la prueba Xpert MRSA NxG. Este apartado incluye los pasos básicos para realizar la prueba. Para obtener instrucciones detalladas, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)* o el *Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity (GeneXpert Infinity System Operator Manual)*.

Nota Los pasos que debe seguir pueden ser diferentes si el administrador del sistema cambió el flujo de trabajo predeterminado del sistema. 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. del 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. de la muestra (Sample ID). Si escribe la Id. de la 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). Aparecerá el cuadro de diálogo Escanear código de barras de cartucho (Scan Cartridge Barcode).
6. Escanee el código de barras del cartucho de la prueba Xpert MRSA NxG. Aparecerá la ventana Crear prueba (Create Test). El software utiliza la información del código de barras para rellenar automáticamente los cuadros de los campos siguientes: Seleccionar ensayo (Select Assay), Id. del lote (Reagent Lot ID), N° de serie del cartucho (Cartridge SN) y Fecha de caducidad (Expiration Date).

Nota Si no se escanea el código de barras del cartucho del Xpert MRSA NxG, prepare otra prueba siguiendo el procedimiento de repetición de la prueba del Apartado 15, Procedimiento de repetición de la prueba.

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.

Para el instrumento GeneXpert Dx:

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

11 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 (GeneXpert Dx System Operator Manual)* o el *Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity (GeneXpert Infinity System Operator Manual)*.

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

12 Control de calidad

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 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 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 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.

Para analizar un control utilizando la prueba Xpert MRSA NxG, lleve a cabo los pasos siguientes:

1. Agite el control NATtrol en una agitadora vorticial durante 5-10 segundos.
2. Pipetee 100 µl de control NATtrol en 2 ml de reactivo de elución.
3. Agite el frasco de reactivo de elución en una agitadora vorticial durante 5-10 segundos.
4. Utilice una pipeta de transferencia (no suministrada) para transferir todo el contenido del frasco de reactivo de elución a la cámara de muestras del cartucho.
5. Cierre la tapa del cartucho e inicie la prueba siguiendo las instrucciones del Apartado 10.2, Inicio de la prueba.

13 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). Los resultados posibles se muestran en la Tabla 2. La Figura 2, la Figura 3, la Figura 4, la Figura 5 y la Figura 6 presentan ejemplos de resultados de la prueba Xpert MRSA NxG.

Tabla 2. Resultados e interpretación de la prueba Xpert MRSA NxG

Resultado	Interpretación
MRSA DETECTADO (MRSA DETECTED) Consulte la Figura 2.	Se ha detectado ADN de SARM. <ul style="list-style-type: none"> • MRSA DETECTADO (MRSA DETECTED): Las dianas de SARM, <i>mecA/mecC</i> y <i>SCCmec</i>, tienen un umbral del ciclo (Ct) dentro del rango válido. • SPC – N/A (NA) (no aplicable); la señal del SPC no es parte del algoritmo de interpretación de los resultados si se detecta SARM, ya que la señal del SPC puede suprimirse debido a la competición con <i>mecA/mecC</i> y <i>SCCmec</i>. • Comprobación de la sonda – SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.

Tabla 2. Resultados e interpretación de la prueba Xpert MRSA NxG (continuación)

Resultado	Interpretación
MRSA NO DETECTADO (MRSA NOT DETECTED) Consulte la Figura 3. Consulte la Figura 4. Consulte la Figura 5.	No se ha detectado ADN de SARM. <ul style="list-style-type: none"> MRSA NO DETECTADO (MRSA NOT DETECTED): Situaciones <ul style="list-style-type: none"> El ADN diana para SCCmec no se detecta y el ADN diana para mec (mecA/mecC) no se detecta-Figura 3 El ADN diana para SCCmec no se detecta y el ADN diana para mec (mecA/mecC) se detecta-Figura 4 El ADN diana para SCCmec se detecta y el ADN diana para mec (mecA/mecC) no se detecta-Figura 5 SPC: SUPERADO (PASS); el SPC tiene un Ct dentro del rango válido y no se detecta ADN diana mec (mecA/mecC) ni SCCmec. O, si el mec (mecA/mecC) o el SCCmec presentan un valor Ct válido, el resultado del SPC se ignora. Comprobación de la sonda – SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.
NO VÁLIDO (INVALID) Consulte la Figura 6.	No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN diana de SARM (mecA/mecC o SCCmec). Siga las instrucciones del Apartado 15, Procedimiento de repetición de la prueba, para repetir la prueba. <ul style="list-style-type: none"> El ADN diana para SCCmec no se detecta y el ADN diana para mec (mecA/mecC) no se detecta. SPC: NO SUPERADO (FAIL); el Ct del SPC no está dentro del rango válido. PCC: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
ERROR	No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN diana de SARM (mecA/mecC o SCCmec). Siga las instrucciones del Apartado 15, Procedimiento de repetición de la prueba, para repetir la prueba. <ul style="list-style-type: none"> mec (mecA/mecC): SIN RESULTADO (NO RESULT) SCCmec: SIN RESULTADO (NO RESULT) 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. * Si la comprobación de la sonda se superó, el error se debe a un fallo en los componentes del sistema.
SIN RESULTADO (NO RESULT)	No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN diana de SARM (mecA/mecC o SCCmec). Siga las instrucciones del Apartado 15, Procedimiento de repetición de la prueba. Un resultado 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. <ul style="list-style-type: none"> mec (mecA/mecC): SIN RESULTADO (NO RESULT) SCCmec: SIN RESULTADO (NO RESULT) SPC: SIN RESULTADO (NO RESULT) PCC: N/A (NA) (no aplicable). Un error causado porque el límite máximo de presión excede el rango aceptable pone fin al ciclo antes de la comprobación de la sonda.

Nota

Las pantallas mostradas en este apartado (Figura 2, Figura 3, Figura 4, Figura 5 y Figura 6) son de un instrumento GeneXpert Dx con el software GeneXpert Dx.

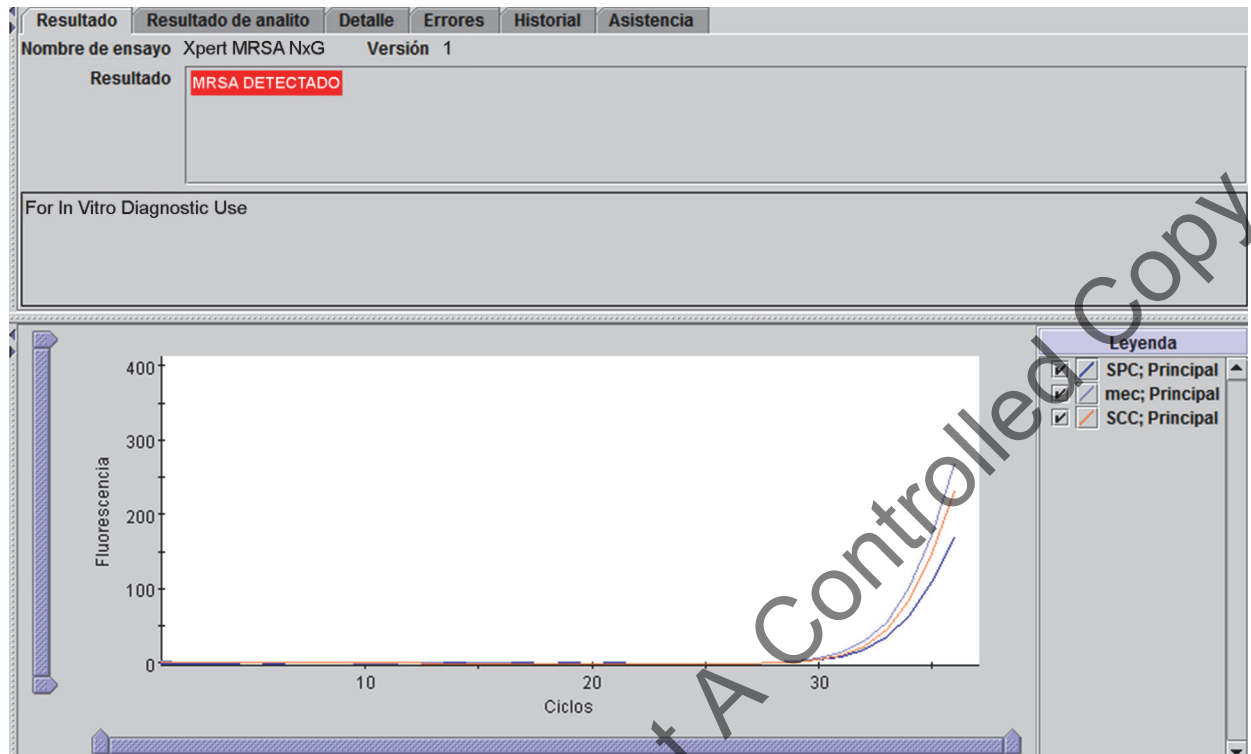


Figura 2. Ejemplo de un resultado SARM DETECTADO (MRSA DETECTED)

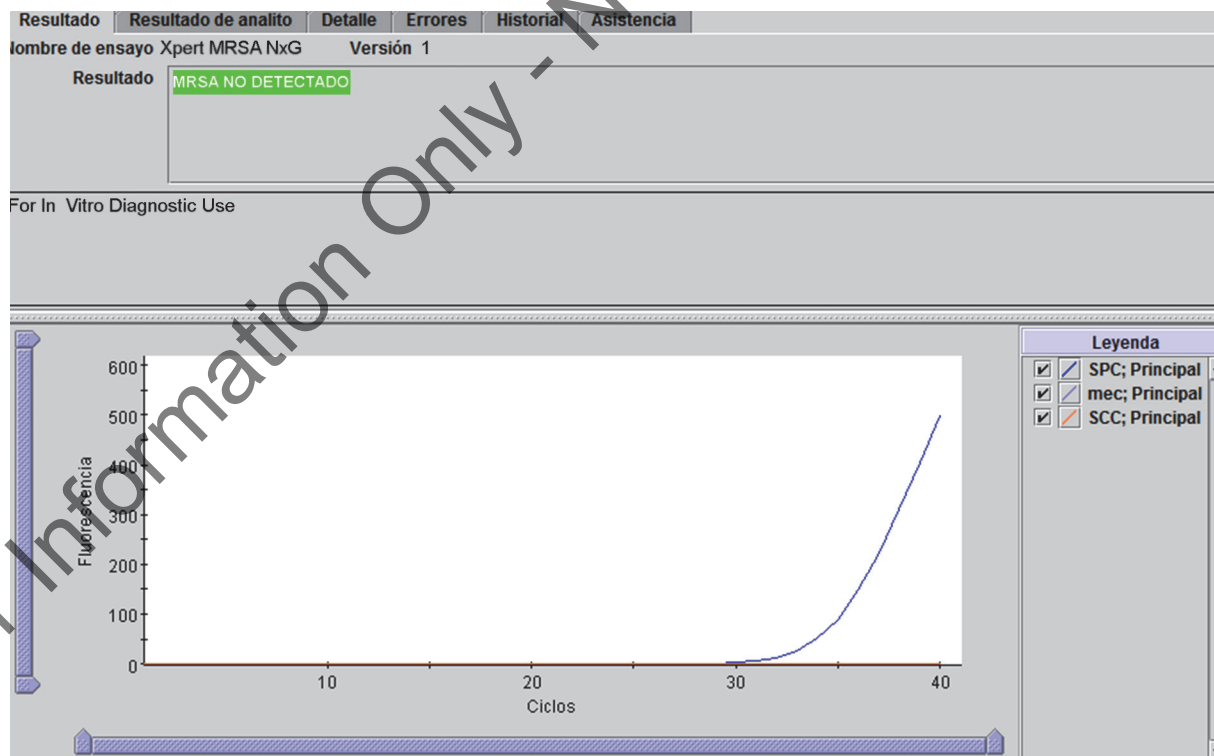


Figura 3. Ejemplo de un resultado SARM NO DETECTADO (MRSA NOT DETECTED)



Figura 4. Ejemplo de un resultado SARM NO DETECTADO (MRSA NOT DETECTED)

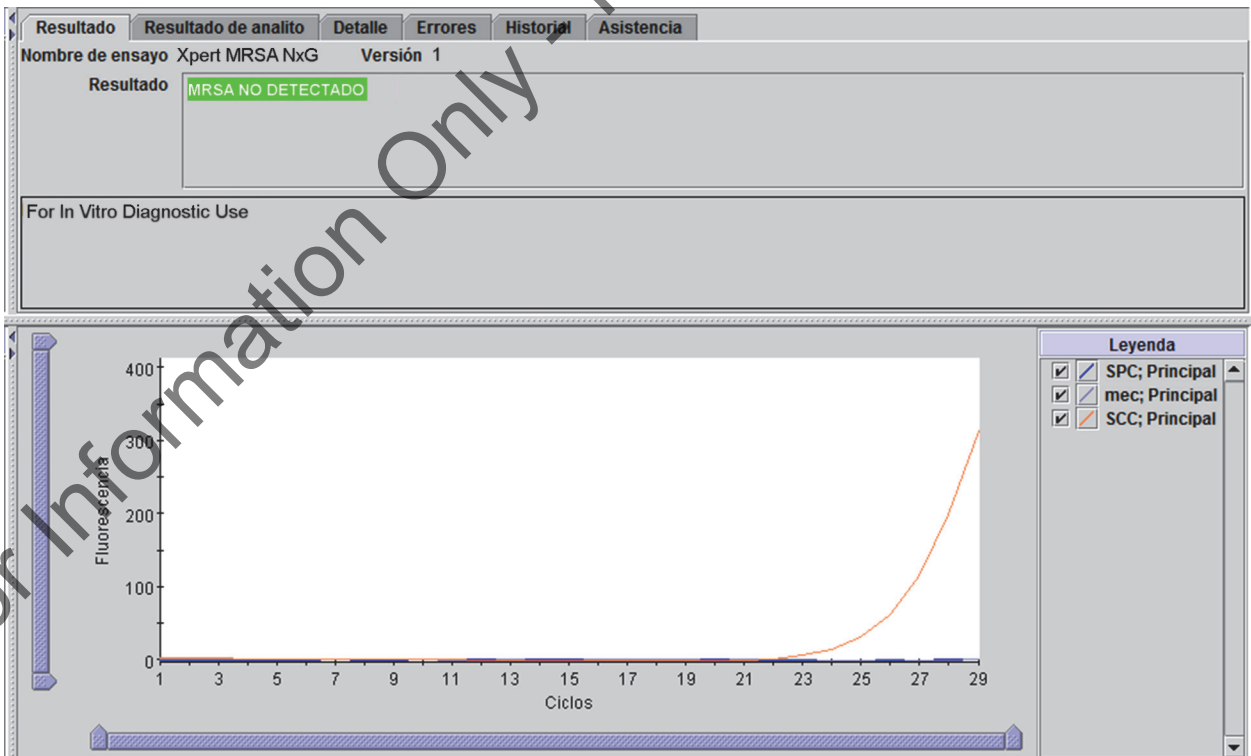


Figura 5. Ejemplo de un resultado SARM NO DETECTADO (MRSA NOT DETECTED)

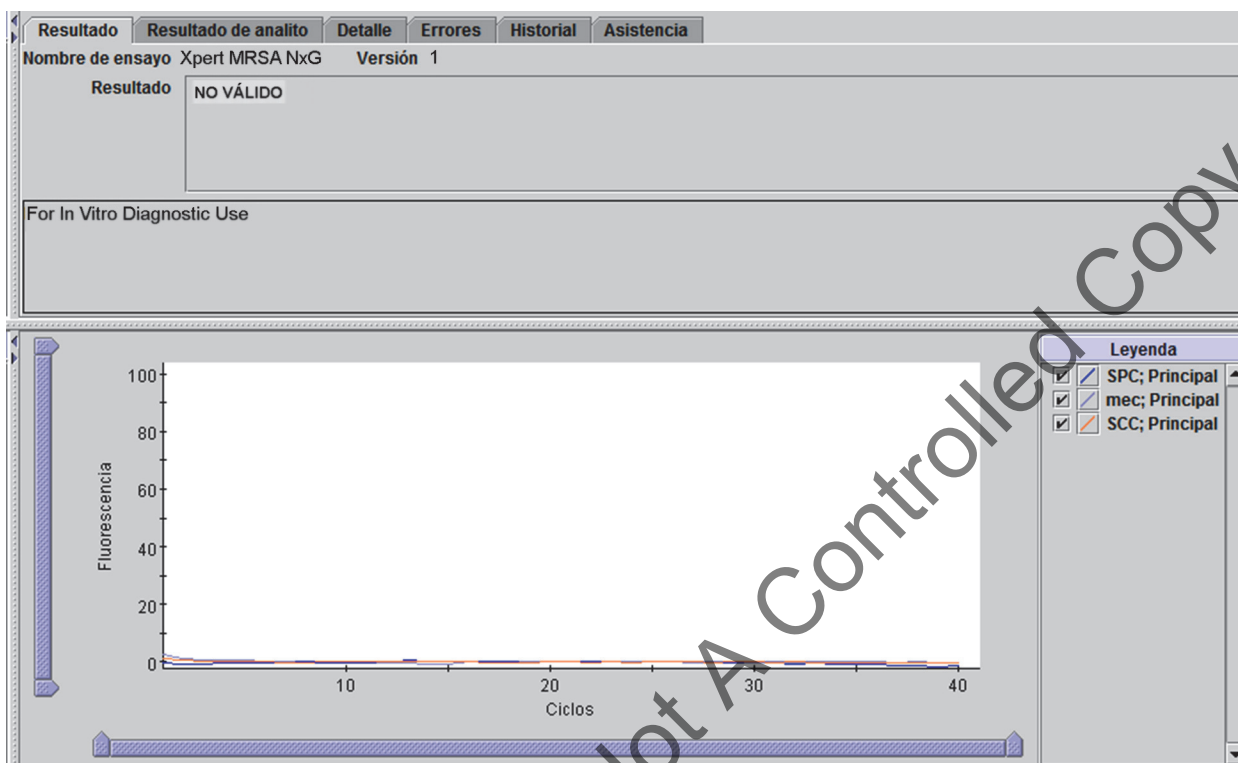


Figura 6. Ejemplo de un resultado NO VÁLIDO (INVALID)

14 Razones para repetir la prueba

La muestra deberá volverse a analizar si el primer análisis arroja alguno de los resultados siguientes. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del Apartado 15, 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 o la PCR se inhibió.
- Un resultado de **ERROR** indica que el control de comprobación de la sonda pudo no haber superado la comprobación o que se sobrepasaron los límites máximos de presión.
- **SIN RESULTADO (NO RESULT)** indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, si el operador detuvo una prueba en curso 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.

15 Procedimiento de repetición de la prueba

Repita la prueba con un cartucho nuevo (no vuelva a utilizar el cartucho) y un frasco de reactivo de elución nuevo.

1. Extraiga el cartucho y el frasco de reactivo de elución del kit de la prueba Xpert MRSA NxG.
2. Si utiliza los hisopos dobles, extraiga el hisopo sobrante del recipiente de transporte.
 - Introduzca el hisopo en el frasco que contenga el reactivo de elución, parta el hisopo por la marca rayada y continúe en el Paso 4.

Nota

Envuelva el vástago del hisopo y la boca del frasco de reactivo de elución con gasa estéril (no suministrada) al partir el hisopo para reducir al mínimo el riesgo de contaminación.

3. Si utiliza el ESwab, mezcle el medio de transporte Amies líquido sobrante que contenga la muestra del hisopo agitándolo en una agitadora vorticial a alta velocidad durante 5 segundos para dispersar la muestra uniformemente en el medio de transporte líquido.
 - Utilizando una pipeta de transferencia (no suministrada), transfiera 300 µl de la muestra líquida al frasco de reactivo de elución y continúe en el Paso 4.
4. Cierre la tapa del frasco de reactivo de elución y agite el frasco en una agitadora vorticial a altas velocidades durante 10 segundos.
5. Abra la tapa del cartucho. Con una pipeta de transferencia (no suministrada), transfiera todo el contenido del frasco de reactivo de elución a la cámara de muestras del cartucho de la prueba Xpert MRSA NxG. Consulte la Figura 1.
6. Cierre la tapa del cartucho e inicie la prueba.

16 Limitaciones

- El estricto cumplimiento de las instrucciones de este prospecto y de los prospectos del dispositivo de recogida de muestras Cepheid (dispositivo de recogida de muestras Cepheid, sistemas de hisopo de rayón doble y transporte Copan, sistema de recogida y transporte de hisopos (ESwab) mediante elución con medio Amies líquido) es necesario para evitar resultados erróneos.
- El rendimiento de la prueba Xpert MRSA NxG no se ha evaluado en pacientes de menos de dos años de edad.
- La prueba Xpert MRSA NxG no está indicada para diagnosticar, guiar ni monitorizar el tratamiento de las infecciones por SARM, ni para determinar la sensibilidad a la meticilina.
- Al igual que ocurre con muchas otras pruebas de diagnóstico, los resultados de la prueba Xpert MRSA NxG deben interpretarse junto con otros datos de laboratorio y clínicos de los que disponga el médico, y usarse como complemento a los esfuerzos para el control de las infecciones hospitalarias para la identificación de pacientes que necesitan medidas de precaución más intensas. Los resultados no deben utilizarse para guiar o monitorizar el tratamiento de infecciones por SARM.
- Un resultado positivo de la prueba no indica necesariamente la presencia de microorganismos viables. Sin embargo, se presupone la presencia de SARM.
- Un resultado negativo de la prueba no excluye la posibilidad de colonización nasal, ya que los resultados de la prueba pueden estar afectados por una recogida incorrecta de las muestras, errores técnicos o confusión de las muestras, o porque el número de microorganismos presentes en la muestra está por debajo del límite de detección de la prueba.
- Los cultivos concomitantes son necesarios para la recuperación de los microorganismos para su tipificación epidemiológica o para pruebas de sensibilidad adicionales.
- La prueba Xpert MRSA NxG proporciona resultados cualitativos. No puede establecerse ninguna correlación entre la magnitud del valor Ct y el número de células en una muestra infectada.
- Las mutaciones o polimorfismos de nucleótidos en las regiones de unión de sondas o cebadores pueden afectar a la detección de variantes de SARM nuevas o desconocidas, y producir un resultado negativo falso.
- Un resultado positivo en la prueba Xpert MRSA NxG no indica necesariamente el fracaso de la erradicación por la intervención, ya que podría persistir ADN no viable. Un resultado negativo de la prueba después de uno positivo anterior puede o no indicar que la erradicación ha tenido éxito.
- Debido a que la detección de SARM depende de la cantidad de ADN presente en la muestra, los resultados fiables dependerán de la recogida, manipulación y conservación correctas de las muestras.
- La prueba Xpert MRSA NxG podría generar un resultado positivo falso de SARM (**MRSA DETECTADO (MRSA DETECTED)**) al analizar una muestra nasal con una mezcla de microorganismos que incluya tanto *Staphylococcus* coagulasa negativos resistentes a la meticilina como un SA de cassette vacío.
- La prueba Xpert MRSA NxG podría generar un resultado negativo falso (**MRSA NO DETECTADO (MRSA NOT DETECTED)**) en el caso de una colonización simultánea por *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (SARM) y *Staphylococcus aureus* (SA) de cassette vacío. Esto puede ocurrir muy infrecuentemente, cuando el título de microorganismo SA de cassette vacío es considerablemente superior al del microorganismo SARM.
- La presencia de Nasonex (≥50 % v/v), Flonase (≥50 % v/v) y Beconase (≥40 % v/v) puede producir interferencias con la prueba.

17 Valores esperados

La prevalencia global de SARM según la prueba Xpert MRSA NxG, observada en muestras de hisopos nasales recogidos en dos estudios clínicos independientes realizados con la prueba Xpert MRSA NxG utilizando hisopos de rayón y ESwabs, se presenta en la Tabla 3.

Tabla 3. Prevalencia global de SARM observada en pruebas clínicas

Dispositivo de recogida de muestras	Prevalencia global de SARM observada por la prueba Xpert MRSA NxG por dispositivo de recogida
Dispositivo de recogida de muestras de Cepheid (hisopo de rayón)	12,8 % (141/1103)
Sistema de recogida y transporte de hisopos (ESwab) mediante elución con medio Amies líquido	12,9 % (109/846)

18 Eficacia diagnóstica

18.1 Eficacia clínica

La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MRSA NxG se determinó en dos estudios de investigación multicéntricos prospectivos independientes utilizando muestras nasales obtenidas de individuos con riesgo de colonización nasal por *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM). En el primer estudio, ocho centros de investigación de dentro y fuera de EE. UU. probaron la prueba Xpert MRSA NxG con hisopos nasales obtenidos utilizando el dispositivo de recogida de muestras Cepheid (hisopo de rayón). En el segundo estudio, seis centros de investigación de dentro de EE. UU. probaron la prueba Xpert MRSA NxG con hisopos nasales obtenidos utilizando el sistema de recogida y transporte de hisopos (ESwab) mediante elución con medio Amies líquido. En los estudios y análisis no se incluyó más de una muestra por sujeto.

Los resultados de la prueba Xpert MRSA NxG se compararon con el cultivo de referencia y con los resultados de sensibilidad. El método de referencia comparativo consistió en un cultivo directo sobre medio cromógeno selectivo de SARM y en un cultivo enriquecido. El enriquecimiento de la muestra se realizó en caldo de soja tripticasa con cloruro sódico al 6,5 %, seguido de un subcultivo del NaCl al 6,5 % en caldo de soja tripticasa sobre agar-sangre y medio cromógeno selectivo de SARM. La identificación de presuntas colonias de *S. aureus* en colonias de agar-sangre y SARM de las placas de medio cromógeno selectivo se confirmó con análisis de tinción de Gram y de catalasa y coagulasa. El SARM se confirmó mediante análisis de sensibilidad con un disco de cefoxitina (30 µg). El resultado del método de referencia se consideró positivo para SARM si el cultivo directo o el cultivo enriquecido confirmaron la presencia de SARM.

Resultados obtenidos con la prueba Xpert MRSA NxG en comparación con el método de referencia utilizando el hisopo de rayón

Se analizó un total de 1103 muestras aptas de hisopos de rayón mediante la prueba Xpert MRSA NxG y mediante el método de referencia. Con respecto al método de referencia, la prueba Xpert MRSA NxG demostró una sensibilidad y una especificidad del 91,0 % y del 96,9 %, respectivamente (Tabla 4). Para la población analizada, el valor predictivo positivo (VPP) para SARM fue del 78,7 %, y el valor predictivo negativo (VPN) fue del 98,9 %.

Tabla 4. Prueba Xpert MRSA NxG con hisopo de rayón comparado con el método de referencia

	Método de referencia			
	SARM	Positivo	Negativo	Total
Xpert MRSA NxG	Positivo	111	30 ^a	141
	Negativo	11 ^b	951	962
	Total	122	981	1103
Sensibilidad:		91,0 % (IC del 95 %: 84,6-94,9)		
Especificidad:		96,9 % (IC del 95 %: 95,7-97,8)		
VPP:		78,7 % (IC del 95 %: 71,3-84,7)		
VPN:		98,9 % (IC del 95 %: 98,0-99,4)		

- 30 de las 30 muestras que obtuvieron resultados positivos falsos en el Xpert MRSA NxG dieron también negativo en el cultivo de SARM tras un subcultivo de repetición del caldo de enriquecimiento.
- 11 de las 11 muestras que obtuvieron resultados negativos falsos en el Xpert MRSA NxG dieron positivo en el cultivo de SARM tras un subcultivo de repetición del caldo de enriquecimiento.

Resultados obtenidos con la prueba Xpert MRSA NxG en comparación con el método de referencia utilizando el ESwab

Se analizó un total de 846 muestras aptas de ESwab mediante la prueba Xpert MRSA NxG y mediante el método de referencia. Con respecto al método de referencia, la prueba Xpert MRSA NxG demostró una sensibilidad y una especificidad del 92,9 % y del 97,6 %, respectivamente (Tabla 5). Para la población analizada, el valor predictivo positivo (VPP) para SARM fue del 83,5 %, y el valor predictivo negativo (VPN) fue del 99,1 %.

Tabla 5. Prueba Xpert MRSA NxG con ESwab comparado con el método de referencia

Xpert MRSA NxG	Método de referencia			
	SARM	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	91	18 ^a	109
	Negativo	7 ^b	730	737
Total	98	748	846	
Sensibilidad:		92,9 % (IC del 95 %: 86,0-96,5)		
Especificidad:		97,6 % (IC del 95 %: 96,2-98,5)		
VPP:		83,5 % (IC del 95 %: 75,4-89,3)		
VPN:		99,1 % (IC del 95 %: 98,1-99,5)		

- 17 de las 18 muestras que obtuvieron resultados positivos falsos en el Xpert MRSA NxG dieron también negativo en el cultivo de SARM tras un subcultivo de repetición del caldo de enriquecimiento.
- 6 de las 7 muestras que obtuvieron resultados negativos falsos en el Xpert MRSA NxG dieron positivo en el cultivo de SARM tras un subcultivo de repetición del caldo de enriquecimiento.

Resultados obtenidos con la prueba Xpert MRSA NxG en comparación con el método de referencia utilizando el hisopo de rayón y el ESwab combinados

Tabla 6 muestra los análisis de sensibilidad y especificidad de los resultados combinados de la prueba Xpert MRSA NxG con el hisopo de rayón y el ESwab con respecto al método de referencia.

Tabla 6. Prueba Xpert MRSA NxG con el hisopo de rayón y el ESwab combinados comparado con el método de referencia^a

Xpert MRSA NxG	Método de referencia			
	SARM	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	202	48	250
	Negativo	18	1681	1699
Total	220	1729	1949	
Sensibilidad:		91,8 % (IC del 95 %: 87,4-94,8)		
Especificidad:		97,2 % (IC del 95 %: 96,3-97,9)		
VPP:		80,8 % (IC del 95 %: 75,5-85,2)		
VPN:		98,9 % (IC del 95 %: 98,3-99,3)		

- Utilizando los datos de las Tablas 4 y 5, la prueba exacta de Fisher (*valor de p* = 0,81 para sensibilidad y *valor de p* = 0,46 para especificidad) demostró que los datos de los dispositivos de recogida (hisopo de rayón y ESwab) pueden combinarse.

19 Eficacia analítica

19.1 Sensibilidad analítica (límite de detección)

Se realizaron estudios para determinar la sensibilidad analítica o el límite de detección (LD) de la prueba Xpert MRSA NxG utilizando dos kits de recogida diferentes (el dispositivo de recogida de muestras Cepheid n.º de ref. 900-0370 o Copan n.º de ref. 139CFA, denominados «hisopo de rayón», y el kit de recogida ESwab, Copan n.º de ref. 480C o Becton Dickinson n.º de ref. 220245, denominados «ESwab», consulte el Apartado 6.3). El LD es la concentración más baja de muestra (notificada en UFC/hisopo o UFC/ml en reactivo de elución) que puede distinguirse de forma reproducible de las muestras negativas el 95 % de las veces con una confianza del 95 %. Este estudio determinó la concentración más baja de células de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) diluidas en matriz nasal simulada que puede detectarse utilizando la prueba Xpert MRSA NxG. La matriz nasal simulada consistió en mucina porcina al 5 % (p/v) y sangre completa humana al 1 % (v/v) en una solución de tampón fosfato salino (Phosphate Buffered Saline, PBS) 1X con glicerol al 15 % (v/v).

La sensibilidad analítica de la prueba Xpert MRSA NxG se determinó siguiendo las directrices del documento EP17-A2 del Instituto de Normas de Laboratorio y Clínicas (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) utilizando dos lotes de reactivos analizados durante tres días de análisis con trece (13) cepas individuales de SARM y los dos tipos de hisopos (hisopo de rayón y ESwab). Las 13 cepas individuales representan los tipos I, II, III, IV, IVa, V, VI, VII, VIII, IX, X y XI de SCCmec. Estas cepas del estudio de LD representan la cepa de SARM más común adquirida en el ámbito sanitario (USA100) y la más común adquirida en el ámbito comunitario (USA400) que se caracterizan mediante electroforesis en gel de campo pulsado (pulsed-field gel electrophoresis, PFGE). En el estudio también se incluyeron cepas que contenían subpoblaciones heterogéneas respecto al fenotipo de resistencia a la oxacilina.

El LD se estableció analizando cinco niveles de concentración con dos lotes de reactivos. A continuación se calcularon el LD y el intervalo de confianza (IC) del 95 % de cada lote utilizando análisis de regresión logística. El análisis de regresión logística no se basa en una única concentración, sino que utiliza la función logit para incorporar la información proveniente de todos los niveles analizados en el modelo. Las estimaciones de los puntos se calcularon utilizando un método de estimaciones de máxima probabilidad (maximum likelihood estimates, MLE) de los parámetros del modelo de regresión logística. El LD estimado máximo observado por cepa en el análisis de regresión logística se utilizó para establecer la propuesta de LD. Las estimaciones de los puntos del LD y los intervalos de confianza superior e inferior del 95 % correspondientes a cada tipo SCCmec de SARM analizado se resumen en la Tabla 7 y en la Tabla 8.

Los resultados de este estudio indican que la prueba Xpert MRSA NxG producirá un resultado positivo para SARM el 95 % de las veces con una confianza del 95 % en un hisopo nasal (de rayón) con 302 UFC (Tabla 7).

Tabla 7. Intervalos de confianza del 95 % para el LD analítico – SARM (hisopo de rayón)

Cepa de SARM	ID de la PFGE ^a	LD estimado (Regresión logística) (UFC/hisopo)			Estimación de LD en reactivo de elución (UFC/ml)
		IC del 95 % inferior	Estimación del punto del LD	IC del 95 % superior	
Tipo I	USA500	72	91	136	46
Tipo II	USA100	127	161	236	81
Tipo III	desconocido	50	64	96	32
Tipo IVa	USA400	46	58	84	29
Tipo IV (Fin 7)	desconocido	256	302	392	151
Tipo IVa	USA300	143	182	282	91
Tipo V	USA1000	85	102	138	51
Tipo VI	USA800	32	42	64	21
Tipo VII	desconocido	95	128	235	64
Tipo VIII	desconocido	139	163	233	82
Tipo IX	desconocido	142	169	227	85
Tipo X	desconocido	86	97	119	49
Tipo XI (mecC)	desconocido	219	266	358	133

a. PFGE = Pulsed-field gel electrophoresis (electroforesis en gel de campo pulsado)

Los resultados de este estudio indican que la prueba Xpert MRSA NxG producirá un resultado positivo para SARM el 95 % de las veces con una confianza del 95 % en un hisopo nasal (ESwab) con 812 UFC (Tabla 8).

Tabla 8. Intervalos de confianza del 95 % para el LD analítico – SARM (ESwab)

Cepa de SARM	ID de la PFGE ^a	LD estimado (Regresión logística) (UFC/hisopo)			Estimación de LD en reactivo de elución (UFC/ml)
		IC del 95 % inferior	Estimación del punto del LD	IC del 95 % superior	
Tipo I	USA500	285	343	469	45
Tipo II	USA100	184	218	293	28
Tipo III	desconocido	215	254	338	33
Tipo IVa	USA400	134	167	245	22
Tipo IV (Fin 7)	desconocido	656	812	1145	106
Tipo IVa	USA300	470	563	733	73
Tipo V	USA1000	378	465	671	61
Tipo VI	USA800	71	89	128	12
Tipo VII	desconocido	201	245	338	32
Tipo VIII	desconocido	520	631	851	82
Tipo IX	desconocido	311	377	533	49
Tipo X	desconocido	149	166	215	22
Tipo XI (<i>mecC</i>)	desconocido	597	734	998	96

a. PFGE = Pulsed-field gel electrophoresis (electroforesis en gel de campo pulsado)

19.2 Reactividad analítica (inclusividad)

En este estudio se analizaron 196 cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. Las cepas analizadas representaron los grupos 1A, 1B y 2 de Cooper y Feil, tipos y subtipos SCC*mec* (I, IA, II, III, IIIA, III-Hg, IV, IVa, IVb, IVc, IVd, V, VI, VII, VIII, IX, X y XI), tipos de secuencias (TS), tipos *spa*, tipos PFGE y complejos clonales (CC). En este estudio también se incluyeron cepas conocidas de USA100, USA200, USA300, USA400, USA500, USA600, USA700, USA800, USA1000, USA1100 e IBERIAN, cepas heteroresistentes y cepa de SARM_{LGA251} con *mecC* de reciente descubrimiento. En este estudio también se incluyó un «grupo de provocación» de 59 cepas de SARM bien caracterizadas que tienen concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) de cefoxitina y oxacilina que cubren el rango dinámico mensurable. Los valores de CIM de oxacilina de estas 59 cepas fueron de 0,5 a >32 µg/ml.

Todas las 196 cepas de SARM se notificaron correctamente como **MRSA DETECTADO (MRSA DETECTED)** utilizando la prueba Xpert MRSA NxG.

19.3 Especificidad analítica (reactividad cruzada)

La especificidad analítica de la prueba Xpert MRSA NxG se evaluó analizando un grupo de 152 microorganismos que pueden provocar reactividad cruzada y que son *Streptococcus aureus* sensibles a la meticilina (SASM), microorganismos relacionados filogenéticamente con *Staphylococcus aureus* (SA) y miembros de la microflora comensal nasal (p. ej., otras bacterias, virus y hongos levaduriformes) que pueden producir reacciones cruzadas con el Xpert MRSA NxG. Los 152 microorganismos analizados se identificaron como grampositivos (104), gramnegativos (25), hongos levaduriformes (3), virus (17) o indeterminados por reacción de Gram (3). De estos microorganismos, 84 se caracterizaron de la manera siguiente: veintitrés (23) fueron cepas de *Staphylococcus coagulans* negativo sensible a la meticilina (SCoNSM), cinco (5) fueron cepas de *Staphylococcus coagulans* negativo resistente a la meticilina (SCoNRM), cuarenta y siete (47) fueron cepas de *Staphylococcus aureus* sensible a la meticilina (SASM), incluidas dos (2) cepas de SASM de cassette vacío y siete (7) cepas de *Staphylococcus aureus* con resistencia de bajo nivel a la oxacilina (borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*, BORSA). En el estudio también se analizaron células humanas.

Evaluación de cepas de BORSA:

Las siete cepas de *Staphylococcus aureus* con resistencia de bajo nivel a la oxacilina (borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*, BORSA) bien caracterizadas incluyeron una cepa de SASM de «cassette vacío». El *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina es resistente a todos los betalactámicos (con la excepción de la ceftarolina) a través de la proteína de unión a penicilina alternativa PBP2a codificada por *mecA* o *mecC*. Las cepas de BORSA no llevan el gen *mecA/mecC*, pero muestran una concentración inhibitoria mínima (CIM) de oxacilina ≥ 2 y ≤ 8 $\mu\text{g/ml}$. Es especialmente valioso distinguir el SARM de las cepas BORSA con el fin de instaurar medidas de precaución adecuadas para el aislamiento y tratamiento de pacientes infectados con cepas de *S. aureus* sensibles a meticilina. Las cepas de BORSA analizadas con la prueba Xpert MRSA NxG se notificaron correctamente como **MRSA NO DETECTADO (MRSA NOT DETECTED)**.

Todos los microorganismos que pueden provocar reactividad cruzada se analizaron por triplicado en reactivo de elución con matriz nasal simulada a $>10^6$ UFC/ml en el caso de las bacterias y a $>10^5$ DICT₅₀/ml en el de los virus. Las células humanas se analizaron a 10^5 células/ml.

Todos los microorganismos y las células humanas se notificaron como **MRSA NO DETECTADO (MRSA NOT DETECTED)** con la prueba Xpert MRSA NxG. En el caso del grupo de ciento cincuenta y dos microorganismos y células humanas que pueden provocar reactividad cruzada evaluado en el estudio, la especificidad analítica de la prueba Xpert MRSA NxG fue del 100 %.

Los análisis *in silico* indican que la prueba Xpert MRSA NxG puede producir resultados positivos con cepas de *Staphylococcus argenteus*, una especie de *Staphylococcus* descrita recientemente que está estrechamente relacionada con *S. aureus* y lleva un cassette de SCCmec y *mecA* o *mecC*.¹¹

19.4 Interferencia microbiana

Se realizó un estudio para evaluar los efectos inhibitorios de los microorganismos comensales de muestras de hisopos nasales en el rendimiento de la prueba Xpert MRSA NxG. Se utilizó la prueba Xpert MRSA NxG para evaluar un grupo de nueve (9) cepas bacterianas, que se notificó estaban presentes en el 10 % o más de las cavidades nasales de sujetos sanos^{12,13} (Tabla 9).

Las nueve bacterias comensales se añadieron a la matriz nasal simulada a aproximadamente $1,0 \times 10^6$ UFC/ml en reactivo de elución y se analizaron en presencia de SARM (reactividad cruzada) o en ausencia de SARM (interferencia). En este estudio se utilizaron dos cepas de SARM (Tabla 10), que se prepararon a aproximadamente 3 x LD y se analizaron por cuadruplicado. Se observó que ninguno de los microorganismos potencialmente interferentes evaluados en el estudio provocó reacciones cruzadas o interfirió con la detección de ninguna de las cepas de SARM utilizando la prueba Xpert MRSA NxG.

Tabla 9. Cepas bacterianas comensales analizadas en la interferencia microbiana

Cepa	ID de la cepa
<i>Staphylococcus aureus</i> (SASM)	15280
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (SESM)	ATCC 35984
<i>Corynebacterium bovis</i>	ATCC 7715
<i>Streptococcus mutans</i>	ATCC 25175
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 29905
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC 9007
<i>Neisseria meningitidis</i>	ATCC 700111
<i>Moraxella catarrhalis</i>	ATCC 43628
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC 6303

Tabla 10. Cepas de SARM

Diana	ID de la cepa
SARM (<i>mecA</i>)	SARM tipo II (NRSA70, N315)
SARM (<i>mecC</i>)	SARM tipo XI LGA251

19.5 Sustancias potencialmente interferentes

Se evaluaron 19 sustancias que pueden estar presentes en muestras de hisopos nasales y que pueden interferir con el rendimiento de la prueba Xpert MRSA NxG. Las sustancias potencialmente interferentes incluyeron mucosidad, sangre humana, aerosoles o gotas nasales, geles nasales, corticoesteroides nasales, FluMist, anestésicos o analgésicos nasales orales, antibióticos nasales, antibacterianos y antivirales. Las sustancias, los principios activos y las concentraciones analizadas se especifican en la Tabla 11. Todas las sustancias interferentes, con la excepción de la mucina, se analizaron inicialmente al 50 % (v/v) en una matriz nasal simulada con muestras negativas (matriz simulada solamente) y positivas en SARM. La mucina se analizó al 7 % (p/v) en una matriz nasal simulada con muestras negativas (matriz simulada solamente) y positivas en SARM.

Se incluyeron controles de tampón (negativos y positivos) sin sustancias interferentes.

Las muestras positivas se analizaron por sustancia interferente con dos cepas clínicas de SARM, SCCmec tipo II (*mecA*) y SCCmec tipo XI (*mecC_{LGA251}*), añadidas a aproximadamente 3 x LD analítico en matriz nasal simulada.

En este estudio se evaluaron réplicas de ocho muestras positivas y negativas con cada sustancia interferente. Se analizaron muestras negativas en presencia de sustancias potencialmente interferentes para determinar el efecto en el rendimiento del control de procesamiento de muestras (sample processing control, SPC).

El efecto de cada sustancia potencialmente interferente en las muestras positivas y negativas se evaluó comparando los valores de umbral de ciclo diana (Ct) generados en presencia de la sustancia potencialmente interferente con los valores Ct de los controles de tampón en ausencia de la sustancia potencialmente interferente.

Las muestras positivas y negativas para 16 sustancias potencialmente interferentes fueron identificadas correctamente. Los efectos potencialmente inhibitorios se observaron en muestras positivas analizadas con Nasonex al 50 % (v/v), Flonase al 50 % (v/v) y Beconase al 40 % (v/v) y al 50 % (v/v) debido a la demora en los valores de Ct; sin embargo, ninguna de las sustancias obtuvo resultados analíticos negativos falsos. No se observó ninguna interferencia en muestras positivas analizadas con Nasonex al 40 % (v/v), Flonase al 40 % (v/v) y Beconase al 30 % (v/v). Esto se trata en el Apartado 16, Limitaciones.

Tabla 11. Sustancias nasales potencialmente interferentes analizadas

Sustancia	Principio activo	Concentración analizada
Mucosidad (mucina)	Mucina porcina que representa proteínas densamente glicosiladas (mucosidad)	7 % (p/v)
Sangre	Sangre (humana)	50 % (v/v)
Aerosol descongestionante Anefrin	Clorhidrato de oximetazolina al 0,05 %	50 % (v/v)
Aerosol antihistamínico de azelastina	Clorhidrato de azelastina al 0,1 %	50 % (v/v)
Controlador de síntomas alérgicos NasalCrom	Cromolín sódico 5,2 mg	50 % (v/v)
Aerosol descongestionante Neo-Syneprine	Clorhidrato de fenilefrina al 0,5 %	50 % (v/v)
Aerosol humectante nasal salino	Cloruro sódico al 0,65 %	50 % (v/v)
Gel nasal Zicam (alivio de síntomas alérgicos de las vías respiratorias altas)	Luffa operculata 4x, 12x, 30x Galphimia glauca 12x, 30x Clorhidrato de histamina 12x, 30x, 200x Azufre 12x, 30x, 200x	50 % (v/v)
Nasonex (medicamento para síntomas alérgicos nasales, esteroide nasal inhalado)	Furoato de mometasona monohidrato al 0,05 %	40 % (v/v), 50 % (v/v) ^a
Flonase	Propionato de fluticasona al 0,05 %	40 % (v/v), 50 % (v/v) ^a
FluMist	Vacuna antigripal intranasal con virus vivo	50 % (v/v)
Finafta MultiOral	Benzocaína al 7,5 %	50 % (v/v)
TobraDex	Tobramicina al 0,3 %, dexametasona al 0,1 %	50 % (v/v)
Bactroban	Mupirocina al 2 %	50 % (v/v)
Relenza	Zanamivir 5 mg	50 % (v/v)

Tabla 11. Sustancias nasales potencialmente interferentes analizadas (continuación)

Sustancia	Principio activo	Concentración analizada
Beconase® AQ	Beclometasona al 0,05 % o $3,6 \times 10^{-5}$ g	30 % (v/v), 40 % (v/v) ^a , 50 % (v/v) ^a
Nasacort® AQ	Triamcinolona acetónido al 0,06 % o $4,4 \times 10^{-5}$ g	50 % (v/v)
Rhinocort Aqua®	Budesonida al 0,06 % o $4,4 \times 10^{-5}$ g	50 % (v/v)
Solución nasal de flunisolida USP, 0,025 %	Flunisolida al 0,03 % o $1,9 \times 10^{-5}$ g	50 % (v/v)

a. Efecto potencialmente inhibitorio observado para la concentración analizada debido a la demora en los valores de Ct.

19.6 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 analizadas después de muestras positivas muy altas en SARM en el mismo módulo GeneXpert. El estudio consistió en una muestra negativa procesada en el mismo módulo GeneXpert inmediatamente después de una muestra muy altamente positiva. Las muestras negativas en SARM estaban compuestas de SESM preparado en una matriz nasal simulada a una concentración $\geq 1,0 \times 10^7$ UFC/ml en el reactivo de elución. Las muestras positivas en SARM estaban compuestas de SARM preparado en una matriz nasal simulada a una concentración $\geq 1 \times 10^7$ UFC/ml en el reactivo de elución. El programa de análisis se repitió 40 veces entre 2 instrumentos GeneXpert (un módulo por instrumento) sumando un total de 41 ciclos por instrumento (20 muestras positivas altas por instrumento y 21 muestras negativas por instrumento). Las 40 muestras positivas se notificaron correctamente como **MRSA DETECTADO (MRSA DETECTED)**. Las 42 muestras negativas se notificaron correctamente como **MRSA NO DETECTADO (MRSA NOT DETECTED)**.

20 Reproducibilidad

Un grupo de cinco muestras con diversas concentraciones de SARM fue analizado cuatro veces al día en seis días diferentes por dos operadores diferentes en tres centros (5 muestras x 4 veces/día x 6 días x 2 operadores x 3 centros). Se utilizaron tres lotes de cartuchos de la prueba Xpert MRSA NxG, cada uno de los cuales representó dos días de análisis. La prueba Xpert MRSA NxG se realizó siguiendo el procedimiento de la prueba Xpert MRSA NxG. Cada una de las 5 muestras se preparó en matriz nasal simulada a los niveles de concentración indicados en la Tabla 12. Los resultados se resumen en la Tabla 13.

Tabla 12. Grupo de reproducibilidad

Muestra del grupo	Nivel de concentración
Neg	Negativo verdadero (no diana)
PosMod1, SARM tipo XI (<i>mecC</i>)	Positivo moderado (~2-3 x LD)
PosBaj1, SARM tipo XI (<i>mecC</i>)	LD (~1 x LD)
PosMod2, SARM tipo II (<i>mecA</i>)	Positivo moderado (~2-3 x LD)
PosBaj2, SARM tipo II (<i>mecA</i>)	LD (~1 x LD)

Tabla 13. Resumen de los resultados de reproducibilidad: % de concordancia por centro y operador del estudio

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	
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)
PosMod1	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)
PosBaj1	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)
PosMod2	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)
PosBaj2	95,8 % (23/24)	100 % (24/24)	97,9 % (47/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	95,8 % (23/24)	97,9 % (47/48)	98,6 % (142/144)

La reproducibilidad de la prueba Xpert MRSA NxG 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 días, entre lotes, entre operadores e intraprueba correspondientes a cada miembro del grupo de muestras se presentan en la Tabla 14.

Tabla 14. Resumen de los datos de reproducibilidad^a

Muestra	Canal de la prueba (analito)	N ^b	Ct medio	Entre centros		Entre días		Entre lotes		Entre operadores		Intraprueba		Total	
				DE	CV (%) ^c	DE	CV (%) ^c	DE	CV (%) ^c	DE	CV (%) ^c	DE	CV (%) ^c	DE	CV (%) ^c
Neg	SPC	144	32,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,9	0,3	0,8	0,8	2,3	0,8	2,6
PosMod1	<i>mec</i>	144	29,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	1,4	0,0	0,0	1,1	3,5	1,1	3,8
	SCC	144	32,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	1,5	0,0	0,0	1,0	3,0	1,1	3,3
PosBaj1	<i>mec</i>	144	31,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	1,4	0,0	0,0	1,0	3,2	1,1	3,5
	SCC	144	34,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	1,5	0,0	0,0	0,9	2,7	1,1	3,1
PosMod2	<i>mec</i>	144	31,2	0,0	0,0	0,3	0,9	0,2	0,5	0,0	0,0	0,9	3,0	1,0	3,1
	SCC	144	32,8	0,0	0,0	0,3	0,8	0,3	1,0	0,0	0,0	0,9	2,7	1,0	3,0
PosBaj2	<i>mec</i>	144	32,7	0,0	0,0	0,4	1,1	0,0	0,0	0,2	0,6	1,0	3,0	1,1	3,2
	SCC	144	34,4	0,0	0,0	0,4	1,1	0,0	0,0	0,1	0,3	1,0	3,0	1,1	3,3

- a. Hubo un total de 12 resultados indeterminados en el curso del estudio (11 notificados como «Error» y 1 como «No válido»). Los 12 arrojaron resultados analíticos válidos en la repetición.
- b. Resultados con valores de Ct distintos a cero de entre 144.
- c. (%) es la contribución de la varianza del componente al CV global.

21 Bibliografia

1. National nosocomial infections surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992 through June 2004. *Am J Infect Control* 2004; 32:470–485.
2. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of endemic methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Am Medical Assoc.* 282(19):1745–1751.
3. Das I, O'Connell N, Lambert P. 2007. Epidemiology, clinical and laboratory characteristics of *Staphylococcus aureus* bacteraemia in a university hospital in UK. 1: *J Hosp Infect.* 65(2):117–123.
4. Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis.* 7(2):323–326.
5. Padmanabhan RA, Fraser TG. 2005. The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community. *Cleveland Clinic J Med.* 72(3):235–241.
6. Jain R, et al. 2011. Veterans Affairs Initiative to Prevent Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections. *N Engl J Med* 364:1419–1430.
7. Centers for Disease Control and Prevention. 1993. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories* (refer to latest edition). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline.* Document M29 (refer to latest edition).
9. 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).
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
11. Argudin et al. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016 35: 1017-1022.
12. Jousimies-Somer HR, Savolainen S, Ylikoski JS. 1989. Comparison of the nasal bacterial floras in two groups of healthy subjects and in patients with acute maxillary sinusitis. *J Clin Microbiol.* 27(12): 2736-2743.
13. Todar K. <http://textbookofbacteriology.net/normalflora.html>.

22 Oficinas centrales de Cepheid

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

23 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.

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

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

24 Tabla de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	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

www.cepheid.com



For Information Only - Not A Controlled Copy