

Xpert® vanA/vanB

REF GXVANA/B-CE-10

Trademarks, Patents and Copyright Statements

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

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 2011-2023. 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.

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, IMPLÍCITA O POR IMPEDIMENTO LEGAL. LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO TAMPOCO OTORGA NINGÚN DERECHO DE REVENTA.

Copyright © Cepheid 2011-2023. Reservados todos los derechos.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden
Producto de Suecia

Xpert® vanA/vanB

Solo para uso diagnóstico *in vitro*

1. Nombre patentado

Xpert® vanA/vanB

2. Denominación común o habitual

Ensayo Xpert vanA/vanB

3. Indicaciones

El ensayo Cepheid Xpert vanA/vanB realizado en los sistemas GeneXpert® es una prueba de diagnóstico *in vitro* cualitativa diseñada para una rápida detección de los genes resistentes a la vancomicina (vanA/vanB) en muestras de hisopos rectales y perianales de pacientes con riesgo de colonización intestinal por parte de bacterias resistentes a la vancomicina. La prueba utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real automatizada para detectar los genes vanA y vanB que pueden asociarse a los enterococos resistentes a la vancomicina (ERV). El ensayo Xpert vanA/vanB está indicado para facilitar el reconocimiento, la prevención y el control de la colonización por microorganismos resistentes a la vancomicina en entornos sanitarios. El ensayo vanA/vanB no está indicado para diagnosticar los ERV ni para guiar o monitorizar el tratamiento de las infecciones por ERV. Es necesario realizar cultivos simultáneos a fin de recuperar solamente microorganismos para la tipificación epidemiológica, para las pruebas de sensibilidad y para la identificación confirmatoria adicional de ERV.

4. Resumen y explicación

Los enterococos resistentes a la vancomicina (ERV) son actualmente una de las causas principales de infecciones hospitalarias, sobre todo en las unidades de cuidados intensivos (UCI). Un estudio nacional de infecciones hospitalarias de 2004 indica que los enterococos son responsables de más de un tercio de las infecciones registradas en las UCI¹. Las infecciones causadas por ERV se han asociado a una mayor morbilidad, a estancias hospitalarias más largas y a mayores costes hospitalarios. El riesgo de colonización por ERV se ha atribuido al uso de varias clases de antimicrobianos, incluidos los glucopéptidos, las cefalosporinas de tercera generación y los antibióticos con una potente actividad antianaerobia. Los ERV se propagan a través del contacto con personas colonizadas o infectadas dentro de un centro sanitario. Así, muchos centros están implementando programas de vigilancia activa para identificar a los portadores de ERV y aislarlos adecuadamente con el fin de reducir la transmisión del patógeno. Los programas de detección y vigilancia activa analizan a los pacientes mediante hisopos perianales o rectales en el momento del ingreso, una vez a la semana mientras están en la UCI, tras la recepción de tratamiento antimicrobiano y en el momento del alta.

5. Principio del procedimiento

Los sistemas GeneXpert automatizan e integran la purificación de muestras, la amplificación de ácidos nucleicos y la detección de la secuencia diana en muestras simples o complejas mediante ensayos de PCR y RT-PCR en tiempo real. El sistema está formado por un instrumento, ordenador personal y software precargado para realizar pruebas en las muestras recogidas y ver los resultados. Este sistema requiere el uso de cartuchos Xpert desechables de un solo uso para acoger a los reactivos para la PCR y alojar el proceso de PCR. Al tratarse de cartuchos autónomos, se elimina la contaminación cruzada entre muestras. 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 vanA/vanB incluye reactivos para la detección de los genes de resistencia a vanA y vanB, así como un control de procesamiento de muestras (sample processing control, SPC) para controlar el procesamiento adecuado de las bacterias diana y monitorizar la presencia de inhibidores en la reacción PCR. El control de comprobación de la sonda (probe check control, PCC) comprueba la rehidratación de los reactivos, el llenado del tubo de PCR en el cartucho, la integridad de las sondas y la estabilidad del colorante.

Los cebadores y las sondas del ensayo Xpert vanA/vanB detectan secuencias en los genes de resistencia a la vancomicina y la teicoplanina (vanA, vanB).

6. Reactivos e instrumentos

6.1 Material suministrado



El kit del ensayo Xpert *vanA/vanB* contiene reactivos suficientes para procesar 10 muestras de pacientes o de control de calidad. El kit contiene lo siguiente:

Cartuchos del ensayo Xpert <i>vanA/vanB</i> con tubos de reacción integrados	10
• Microesfera 1, 2 y 3 (liofilizada)	1 de cada por cartucho
• Reactivo 1	3,0 ml por cartucho
• Reactivo 2 (hidróxido sódico)	3,0 ml por cartucho
Reactivo de muestras	1 x 1,7 ml
CD	1 por kit
• Archivo de definición del ensayo (Assay Definition File, ADF)	
• Instrucciones para importar el ADF en el software GX	
• Instrucciones de uso (prospecto)	

Nota

Las fichas de datos de seguridad están disponibles en el apartado **ASISTENCIA (SUPPORT)** de www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com.

Nota

La albúmina sérica bovina (BSA) de las microesferas de este producto se obtuvo exclusivamente a partir de plasma bovino originario de Estados Unidos. La fabricación de la BSA también se lleva a cabo en 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 del Xpert *vanA/vanB* a una temperatura de entre 2 °C 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.
- Utilice el cartucho y los reactivos en los 30 minutos siguientes a la apertura de la tapa.
- No utilice ningún reactivo que presente turbidez o un cambio de color.

7. Materiales requeridos pero no suministrados

- Sistema GeneXpert Dx o sistema GeneXpert Infinity (el número de catálogo varía según la configuración): Instrumento GeneXpert, ordenador con software patentado de GeneXpert, versión 1.6b o posterior, lector de códigos de barras y manual del operador.
- Impresora: Si se requiere una impresora, póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de Cepheid para organizar la compra de una impresora recomendada.
- Vórtex
- Pipetas de transferencia estériles desechables
- Dispositivo de recogida de Cepheid (número de referencia de Cepheid 900-0370)

8. Advertencias y precauciones



- 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) y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute) de Estados Unidos.^{2,3}

- Siga los procedimientos de seguridad de su centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- El ensayo Xpert *vanA/vanB* no proporciona resultados de sensibilidad. Se requiere tiempo adicional para realizar el cultivo y las pruebas de sensibilidad.
- No sustituya los reactivos del Xpert *vanA/vanB* por otros reactivos.
- No abra la tapa del cartucho Xpert *vanA/vanB* cuando añada la muestra o realice una nueva prueba.
- No utilice cartuchos que se hayan caído o agitado después de haber añadido la muestra.
- No utilice cartuchos con tubos de reacción dañados.
- Cada cartucho de un solo uso del Xpert *vanA/vanB* se utiliza para procesar una sola prueba. No vuelva a utilizar los cartuchos usados.
- ⓧ • Las muestras biológicas, los dispositivos de transferencia y los cartuchos usados deben ser considerados capaces de transmitir agentes infecciosos que requieren las precauciones habituales. Siga el procedimiento de eliminación de desechos de su centro para la eliminación adecuada de los cartuchos usados y los reactivos no utilizados. Estos materiales pueden presentar 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] relativas a la manipulación y eliminación de desechos médicos.
- Conserve el kit del Xpert *vanA/vanB* a una temperatura de entre 2 °C y 28 °C.
- No abra la tapa del cartucho hasta el momento de realizar la prueba.

9. Peligros químicos^{7,8}

- 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; consulte la información adicional de medidas de primeros auxilios.
 - En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.
 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
 - Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico
 - EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico si se encuentra mal.
 - Enjuagarse la boca.
 - **Almacenamiento/eliminación**
 - Eliminar el contenido/el recipiente en conformidad con los reglamentos locales, regionales, nacionales e internacionales.

10. Recogida, transporte y conservación de muestras

Para recoger una muestra adecuada, siga las instrucciones de este apartado al pie de la letra.

Para muestras rectales:

1. Obtenga la muestra de hisopo utilizando el dispositivo de recogida de muestras de Cepheid (número de referencia de Cepheid 900-0370).
2. Inserte con cuidado el hisopo aproximadamente 2,5 cm más allá del esfínter anal (de manera que la punta de algodón deje de estar visible) y gírelo suavemente 3 veces para asegurar la recogida uniforme de muestra en ambos hisopos.
3. Vuelva a colocar los hisopos en el recipiente de muestras.
4. Etiquételo con la ID de la muestra y envíelo al laboratorio.
5. Conserve la muestra de hisopo a una temperatura de entre 2 ° y 8 °C. La muestra de hisopo es estable durante un máximo de 5 días si se conserva a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C.



Para muestras perianales:

1. Obtenga la muestra de hisopo utilizando el dispositivo de recogida de muestras de Cepheid (número de referencia de Cepheid 900-0370).
2. Separe las nalgas para dejar al descubierto la región perianal y, a continuación, restriegue los dos hisopos alrededor de toda la superficie perianal, asegurándose de pasarlos por toda la superficie que sea posible.
3. Vuelva a colocar los hisopos en el recipiente de muestras.
4. Etiquételo con la ID de la muestra y envíelo al laboratorio.
5. Conserve la muestra de hisopo a una temperatura de entre 2 ° y 8 °C. La muestra de hisopo es estable durante un máximo de 5 días si se conserva a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C.



11. Procedimiento

11.1 Preparación del cartucho

Importante

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

Para hisopos rectales/perianales:

Nota

Solo se requiere un hisopo.

Para añadir la muestra al cartucho (Xpert vanA/vanB):

1. Extraiga el cartucho y el reactivo para muestras del kit.
2. Retire un hisopo del recipiente de transporte.
3. Introduzca el hisopo en el tubo que contiene el reactivo para muestras.

Nota

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

4. Sujete el hisopo por el vástago cerca del borde del tubo, levante el hisopo unos milímetros del fondo del tubo y presione el vástago contra el borde del tubo para romperlo. Asegúrese de que el hisopo sea lo suficiente corto para que la tapa pueda cerrarse bien.
5. Cierre la tapa y agite en un vórtex a alta velocidad durante 10 segundos.
6. Abra la tapa del cartucho. Con una pipeta de transferencia desechable estéril, transfiera todo el contenido del reactivo para muestras a la cámara de muestras del cartucho del Xpert vanA/vanB.
7. Cierre la tapa del cartucho.

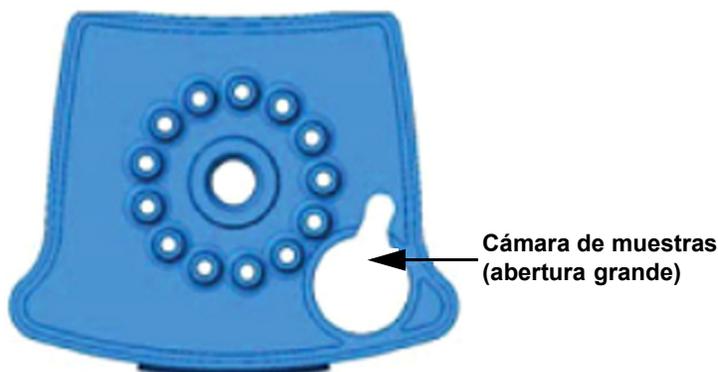


Figura 1. Cartucho del Xpert vanA/vanB (vista superior)

11.2 Inicio de la prueba

Importante

Antes de iniciar la prueba, compruebe que se ha importado al software la definición del ensayo Xpert vanA/vanB.

Este apartado describe los pasos básicos para realizar la prueba. Para ver instrucciones detalladas, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx* o el *Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity*, según el modelo que se esté utilizando.

1. Encienda el instrumento GeneXpert:
 - Si está utilizando el instrumento GeneXpert Dx, enciéndalo en primer lugar y, a continuación, encienda el ordenador. El software GeneXpert se ejecutará 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 GeneXpert se ejecutará automáticamente o podría ser necesario hacer doble clic en el icono de acceso directo del software Xpertise en el escritorio de Windows.
2. Inicie sesión en el software del sistema 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 o escriba la Id. paciente (Patient ID) (opcional). Si la escribe, asegúrese de hacerlo 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) y en todos los informes. Aparecerá el cuadro de diálogo Escanear código de barras de cartucho (Scan Cartridge Barcode).
6. Escanee el código de barras en el cartucho del ensayo Xpert vanA/vanB. El software utiliza la información del código de barras para rellenar automáticamente los cuadros de los campos siguientes: Seleccionar ensayo (Select Assay), Id. del lote (Reagent Lot ID), N° de serie del cartucho (Cartridge S/N) y Fecha de caducidad (Expiration Date).
7. Haga clic en **Iniciar prueba (Start Test)** (GeneXpert Dx) o en **Enviar (Submit)** (Infinity). En el cuadro de diálogo que aparece, teclee su contraseña.
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 y retirar 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.

12. Visualización e impresión de los resultados

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

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.

13. Control de calidad

13.1 Controles de calidad integrados

CONTROL

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

- **Control de procesamiento de muestras (SPC):** Confirma que la muestra se procesó correctamente. El SPC contiene esporas de *Bacillus globigii* en forma de una torta de esporas secas que se incluye en cada cartucho para verificar el procesamiento adecuado de las bacterias de la muestra. El SPC confirma que se ha producido la lisis de las bacterias resistentes a la vancomicina si los microorganismos están presentes, y verifica que el procesamiento de la muestra es adecuado. Aparte de lo anterior, este control detecta la inhibición asociada a las muestras del ensayo de PCR en tiempo real. El SPC debe ser positivo en una muestra negativa, y puede ser negativo o positivo en una muestra positiva. El SPC se considera superado si cumple los criterios de aceptación validados.
- **Control de comprobación de la sonda (PCC):** Antes de iniciar la reacción PCR, el sistema GeneXpert® Dx mide la señal de fluorescencia de las sondas para monitorizar la rehidratación de las microesferas, el llenado del tubo de reacción, la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes. La comprobación de la sonda se considera superada si cumple los criterios de aceptación asignados.

14. Interpretación de los resultados

El sistema GeneXpert interpola los resultados a partir de las señales fluorescentes medidas y los algoritmos de cálculo incorporados, y los muestra en la ventana Ver resultados (View Results) (Figura 2, Figura 3, Figura 4 y Figura 5). Los resultados posibles son:

Tabla 1. Resultados e interpretación

Resultado	Interpretación
vanA POSITIVO (vanA POSITIVE) Figura 2	Se detecta ADN diana de <i>vanA</i> . <ul style="list-style-type: none"> • <i>vanA</i> POSITIVO (<i>vanA</i> POSITIVE); la diana de <i>vanA</i> tiene un Ct dentro del rango válido y un criterio de valoración por encima del valor mínimo configurado. • SPC—N/A (no aplicable); el SPC se omite, ya que la amplificación de <i>vanA</i> podría competir con este control. • Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
vanB POSITIVO (vanB POSITIVE) Figura 4	Se detecta ADN diana de <i>vanB</i> . <ul style="list-style-type: none"> • <i>vanB</i> POSITIVO (<i>vanB</i> POSITIVE); la diana de <i>vanB</i> tiene un Ct dentro del rango válido y un criterio de valoración por encima del valor mínimo configurado. • SPC—N/A (no aplicable); el SPC se omite, ya que la amplificación de <i>vanB</i> podría competir con este control. • Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.

Tabla 1. Resultados e interpretación

Resultado	Interpretación
<i>vanA</i> POSITIVO (<i>vanA</i> POSITIVE), <i>vanB</i> POSITIVO (<i>vanB</i> POSITIVE)	<p>Se detecta ADN diana de <i>vanA</i> y <i>vanB</i>.</p> <ul style="list-style-type: none"> <i>vanA</i> POSITIVO (<i>vanA</i> POSITIVE); la diana de <i>vanA</i> tiene un Ct dentro del rango válido y un criterio de valoración por encima del valor mínimo configurado. <i>vanB</i> POSITIVO (<i>vanB</i> POSITIVE); la diana de <i>vanB</i> tiene un Ct dentro del rango válido y un criterio de valoración por encima del valor mínimo configurado. SPC—N/A (no aplicable); el SPC se omite, ya que la amplificación de <i>vanA</i> y/o <i>vanB</i> podría competir con este control. Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.
NEGATIVO (NEGATIVE) Figura 3	<p>No se detecta ADN diana de <i>vanA</i> y <i>vanB</i>. El SPC satisface los criterios de aceptación.</p> <ul style="list-style-type: none"> NEGATIVO (NEGATIVE); no se detecta ADN diana de <i>vanA</i> ni de <i>vanB</i>. SPC—SUPERADO (PASS); el SPC tiene un valor Ct dentro del rango válido y un criterio de valoración por encima del valor mínimo configurado. Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
NO VÁLIDO (INVALID)	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN diana de <i>vanA/vanB</i>; repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del apartado Procedimiento de repetición de la prueba siguiente. El SPC no satisface los criterios de aceptación, la muestra no se procesó correctamente o la PCR se ha inhibido.</p> <ul style="list-style-type: none"> NO VÁLIDO (INVALID); no puede determinarse la presencia o ausencia de <i>vanA</i> o <i>vanB</i>. SPC—NO SUPERADO (FAIL); los resultados de las dianas de <i>vanA</i> y <i>vanB</i> son negativos, el valor Ct del SPC no está dentro del rango válido y el criterio de valoración del SPC está por debajo del valor mínimo configurado. Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
ERROR Figura 5	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN diana de <i>vanA/vanB</i>; repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del apartado Procedimiento de repetición de la prueba siguiente. El control de comprobación de la sonda falló, probablemente porque el tubo de reacción no se llenó bien, se detectó un problema con la integridad de las sondas o se excedieron los límites máximos de presión.</p> <ul style="list-style-type: none"> <i>vanA</i>—SIN RESULTADO (NO RESULT) <i>vanB</i>—SIN RESULTADO (NO RESULT) SPC—SIN RESULTADO (NO RESULT) Comprobación de la sonda—NO SUPERADO (FAIL)*; todos o uno de los resultados de la comprobación de la sonda no han superado 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)	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN diana de <i>vanA/vanB</i>; repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del apartado Procedimiento de repetición de la prueba siguiente. No se obtuvieron suficientes datos para producir un resultado de la prueba (por ejemplo, el usuario detuvo una prueba que estaba en curso).</p> <ul style="list-style-type: none"> <i>vanA</i>—SIN RESULTADO (NO RESULT) <i>vanB</i>—SIN RESULTADO (NO RESULT) SPC—SIN RESULTADO (NO RESULT) Comprobación de la sonda—N/A (no aplicable)

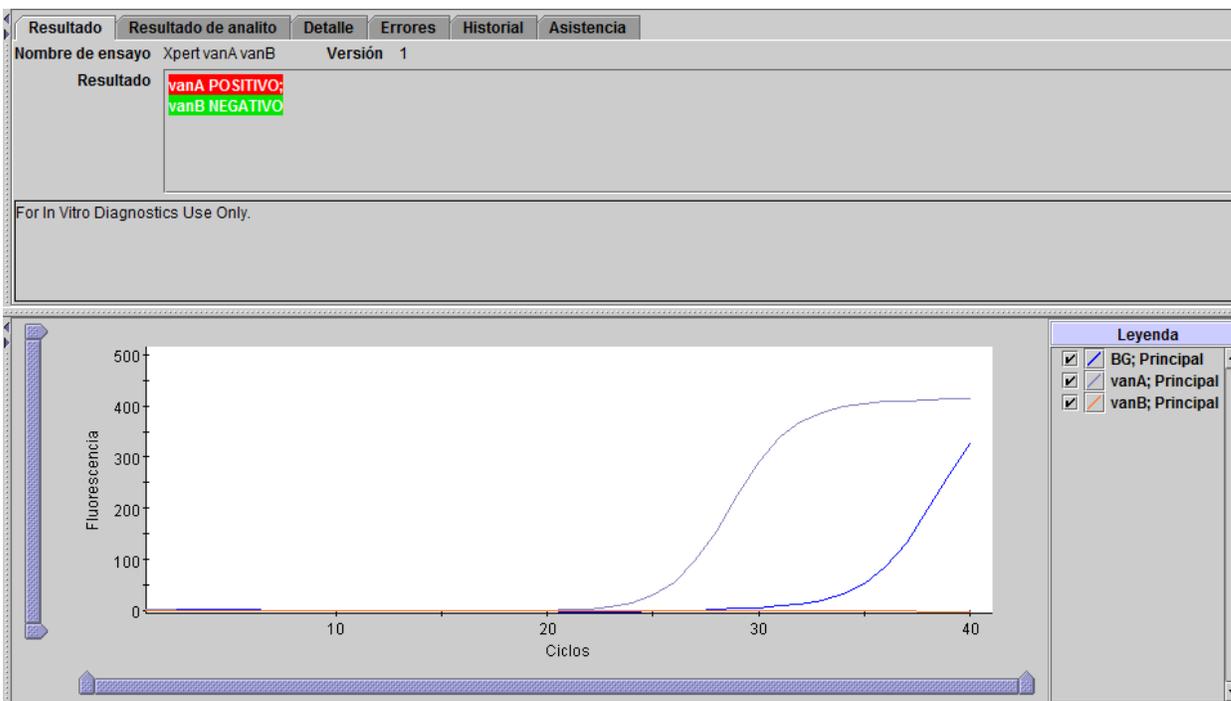


Figura 2. Ejemplo de resultado positivo en vanA y resultado negativo en vanB

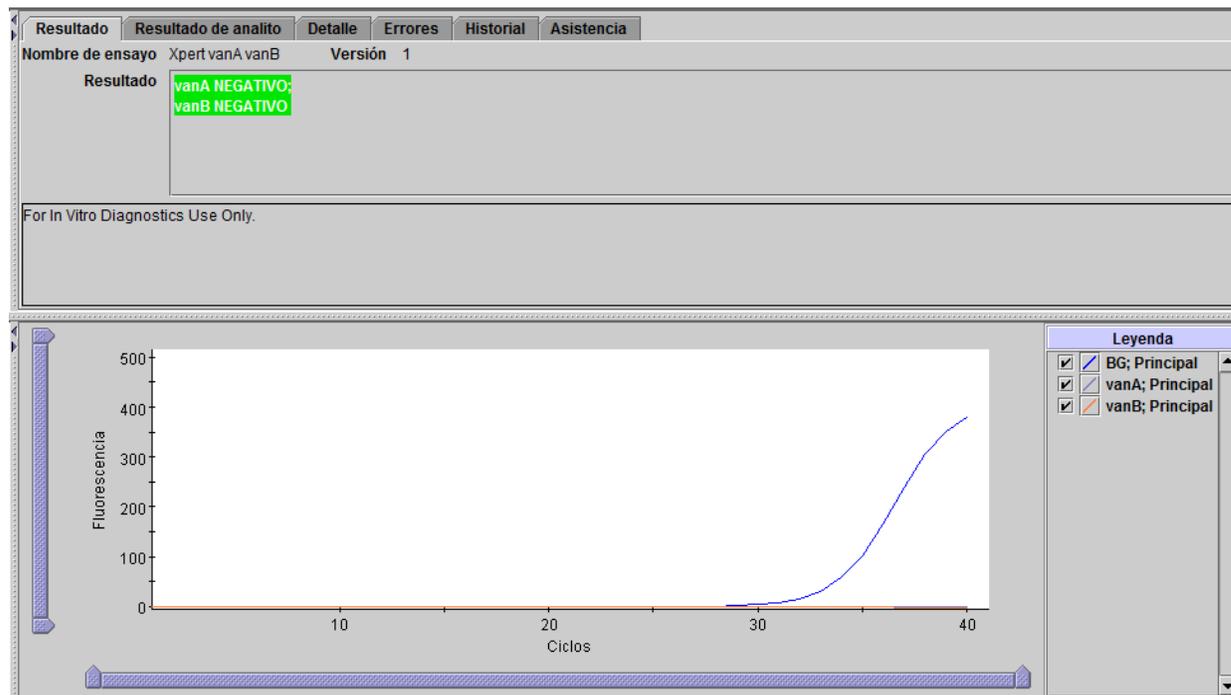


Figura 3. Ejemplo de resultado negativo en vanA y en vanB

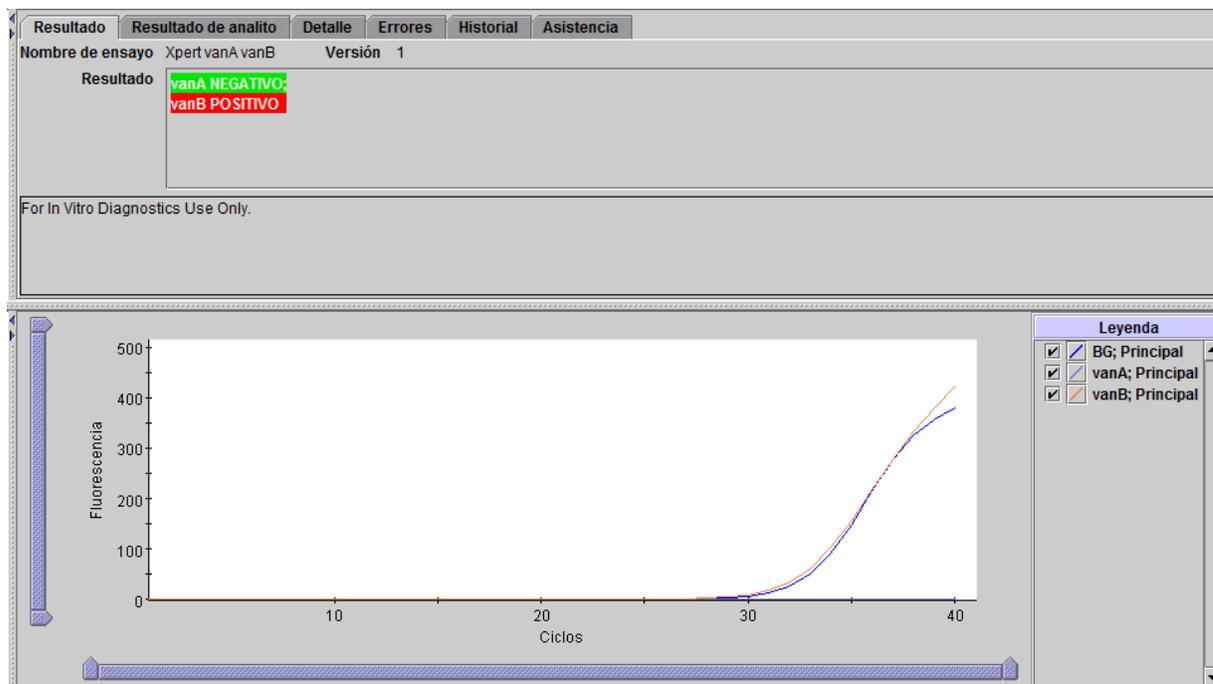


Figura 4. Ejemplo de resultado negativo en *vanA* y resultado positivo en *vanB*

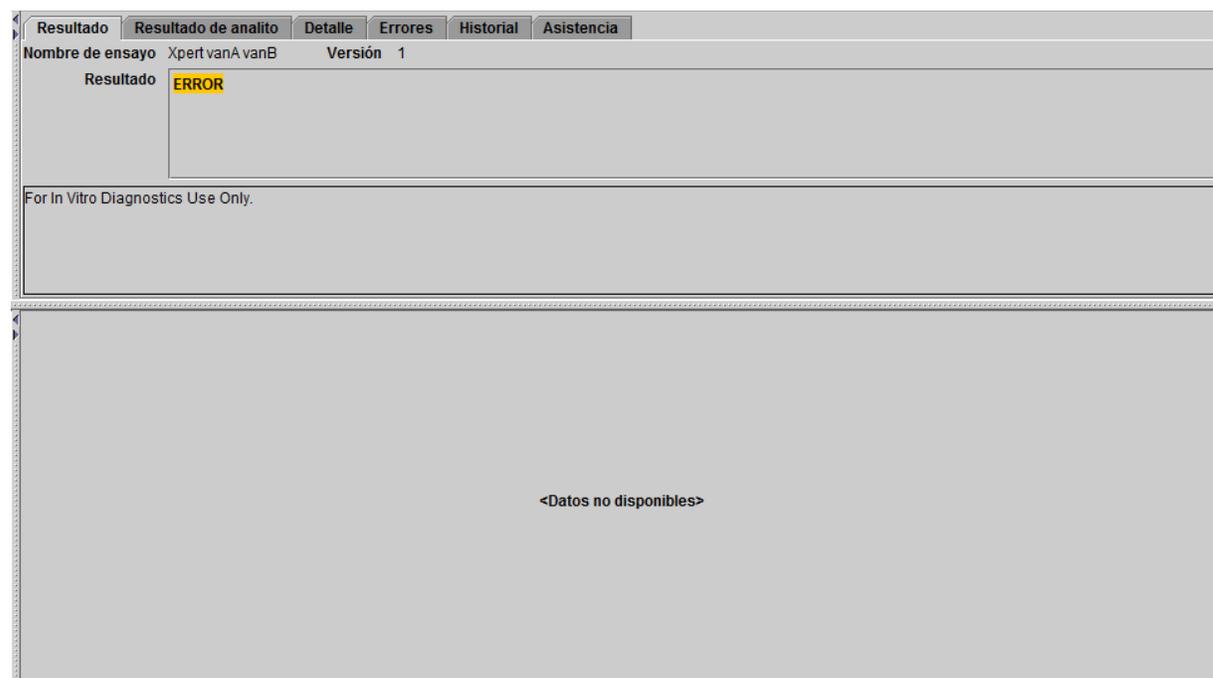


Figura 5. Ejemplo de un resultado de error

15. Repetición de pruebas

15.1 Razones para repetir la prueba

Si se obtiene alguno de los resultados de la prueba que se mencionan a continuación, repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del apartado siguiente, titulado Apartado 15.2, Procedimiento de repetición de la prueba.

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

Un resultado de **ERROR** indica que el control de comprobación de sondas 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 o a que se excedieron los límites máximos de presión.

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

15.2 Procedimiento de repetición de la prueba

Para repetir la prueba antes de 3 horas de haber obtenido un resultado indeterminado, utilice un cartucho del Xpert vanA/vanB nuevo (no vuelva a utilizar el cartucho) y un frasco de reactivo para muestras nuevo. Transfiera todo el contenido restante de la cámara S a un nuevo reactivo para muestras. Agite en la agitadora vorticial y añada todo el contenido del reactivo para muestras a la cámara de muestras del nuevo cartucho del Xpert vanA/vanB.

16. Limitaciones

- El rendimiento del ensayo Xpert vanA/vanB se validó únicamente con los procedimientos descritos en este prospecto. Las modificaciones de estos procedimientos pueden afectar al rendimiento de la prueba. Los resultados del ensayo Xpert vanA/vanB deben interpretarse junto con otros datos de laboratorio y clínicos de los que disponga el médico.
- Pueden obtenerse resultados erróneos de la prueba debido a la recogida incorrecta de la muestra, a no seguirse los procedimientos recomendados para la recogida, manipulación y conservación de las muestras, a un error técnico, a la confusión de la muestra o a que el número de microorganismos en la muestra sea demasiado bajo para detectarse mediante la prueba. El estricto cumplimiento de las instrucciones de este prospecto es necesario para evitar resultados erróneos.
- Debido a que la detección de ERV depende del número de microorganismos presentes en la muestra, los resultados fiables dependerán de la recogida, manipulación y conservación correctas de las muestras.
- Para la repetición del ensayo Xpert vanA/vanB en caso de resultados **NO VÁLIDO (INVALID)**, **ERROR** o **SIN RESULTADO (NO RESULT)** deben seguirse las prácticas y políticas de cada centro. Se debe disponer de procedimientos alternativos. Para el cultivo, las muestras de hisopo restantes deberán colocarse en sistemas de transporte adecuados y cultivarse en un plazo de 4 días.
- Un resultado positivo de la prueba no indica necesariamente la presencia de un microorganismo viable. Sin embargo, se presupone la presencia de ERV.
- Los resultados positivos del Xpert vanA/vanB en vanB en ausencia de vanA pueden deberse a otros microorganismos distintos de los ERV. Se recomienda llevar a cabo una confirmación mediante cultivo de estos microorganismos.
- Como se describe en la literatura, pueden encontrarse algunas bacterias aerobias y anaerobias que contengan el gen vanB^{4,5,6} y que detectaría este ensayo; sin embargo, se desconoce la relevancia clínica de estos resultados. Se ha indicado que las bacterias anaerobias positivas en el gen vanB constituyen un depósito de determinantes de resistencia a la vancomicina¹, pero esta hipótesis está por probar.
- La prueba con el ensayo Xpert vanA/vanB deberá utilizarse como complemento de otros métodos disponibles. Las mutaciones o polimorfismos en las regiones de unión de sondas o cebadores pueden afectar a la detección de variantes de nuevas o desconocidas de ERV, y pueden producir un resultado negativo falso.
- No se recomienda utilizar otros sistemas de recogida y transporte de muestras que no sea el dispositivo de recogida de muestras de Cepheid. El uso de otros sistemas de recogida y transporte no se ha calificado.
- El ensayo Xpert vanA/vanB detecta el gen vanA, no el microorganismo, por lo que los genes vanA que lleven otros microorganismos distintos a los enterococos, como las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la vancomicina, también pueden producir un resultado positivo.
- Debido al factor de dilución asociado al procedimiento de repetición de la prueba, es posible que las muestras positivas en vanA y vanB que estén muy próximas o en el límite de detección (LD) del ensayo Xpert vanA/vanB arrojen un resultado negativo falso al repetir la prueba.
- Los resultados de la prueba también pueden verse afectados por el tratamiento concomitante con antibióticos o porque la muestra contenga un número de microorganismos inferior al límite de detección de la prueba.

17. Eficacia diagnóstica

17.1 Eficacia clínica

La eficacia diagnóstica del ensayo Xpert vanA/vanB se determinó en un estudio de investigación prospectivo multicéntrico realizado en cuatro centros de los Estados Unidos y en uno de Europa, comparando el ensayo Xpert vanA/vanB en el sistema GeneXpert System (ensayo Xpert vanA/vanB) con un cultivo. Para ser incluidas en el estudio, las muestras debían proceder de personas para las que estaba indicado el cultivo o se había solicitado siguiendo las prácticas del centro.

Una de las muestras de hisopo se utilizó para las pruebas del ensayo Xpert vanA/vanB. El segundo hisopo se envió al laboratorio de cultivo central, excepto en el caso del centro de Europa. Una vez recibido en el centro de cultivo central, el hisopo se utilizó para inocular una placa de bilis esculina con azida agar y vancomicina y, a continuación, se colocó en caldo de bilis esculina que contenía vancomicina. Tras 24 horas de incubación a +35 °C, se realizó un cultivo secundario del caldo en bilis esculina con azida agar y vancomicina, y se examinó a las 24 horas y a las 48 horas. Tras la tinción de Gram y la prueba PYR, se identificaron supuestos ERV utilizando tiras reactivas API20S (BioMérieux, Francia). La determinación de vanA y/o vanB se llevó a cabo utilizando pruebas Etest (AB Biodisk, Suecia) para vancomicina y teicoplanina.

17.2 Resultados generales

Se analizó un total de 878 muestras de hisopos rectales para la detección de ERV con el ensayo Xpert vanA/vanB y se comparó con el método de cultivo directo. Se analizó un total de 878 muestras de hisopos rectales para la detección de ERV con el ensayo Xpert vanA/vanB y se comparó con el método de cultivo enriquecido.

Se analizó un total de 429 muestras de hisopos perianales para la detección de ERV con el ensayo Xpert vanA/vanB y se comparó con el método de cultivo directo. Se analizó un total de 430 muestras de hisopos perianales para la detección de ERV con el ensayo Xpert vanA/vanB y se comparó con el método de cultivo enriquecido.

La sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) del ensayo Xpert vanA/vanB se indican en la Tabla 2 y en la Tabla 3.

Tabla 2. Eficacia diagnóstica del ensayo vanA/vanB por tipo de muestra y el método de cultivo directo

Xpert vanA/vanB frente a cultivo directo de vanA con IC del 95 %				
	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Perianal	98,1 % (51/52) (89,7 % - 100,0 %)	93,4 % (352/377) (90,4 % - 95,7 %)	67,1 % (51/76) (55,4 % - 77,5 %)	99,7 % (352/353) (98,4 % - 100,0 %)
Rectal	96,5 % (83/86) (90,1 % - 99,3 %)	91,5 % (725/792) (89,4 % - 93,4 %)	55,3 % (83/150) (47,0 % - 63,4 %)	99,6 % (725/728) (98,8 % - 99,9 %)
Total	97,1 % (134/138) (92,7 % - 99,2 %)	91,2 % (1077/1169) (90,4 % - 93,6 %)	59,3 % (134/226) (52,6 % - 65,8 %)	99,6 % (1077/1081) (99,1 % - 99,9 %)
Xpert vanA/vanB frente a cultivo directo de vanB con IC del 95 %				
	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Perianal	25 % (1/4) (0,6 % - 80,6 %) ^a	94,1 % (400/425) (91,4 % - 96,2 %)	3,8 % (1/26) (0,1 % - 19,6 %)	99,3 % (400/403) (97,8 % - 99,8 %)
Rectal	100 % (13/13) (79,4 % - 100,0 %)	83,9 % (726/865) (81,3 % - 86,3 %)	8,6 % (13/152) (4,6 % - 14,2 %)	100 % (726/726) (99,6 % - 100,0 %)
Total	82,4 % (14/17) (56,6 % - 96,2 %)	87,3 % (1126/1290) (85,3 % - 89,1 %)	7,9 % (14/178) (4,4 % - 12,8 %)	99,7 % (1126/1129) (99,2 % - 99,9 %)
Xpert vanA/vanB frente a cultivo directo de vanA/vanB con IC del 95 %				
	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Perianal	92,9 % (52/56) (82,7 % - 98,0 %)	88,7 % (331/373) (85,1 % - 91,8 %)	55,3 % (52/94) (44,7 % - 65,6 %)	98,8 % (331/335) (97,0 % - 99,7 %)
Rectal	99,0 % (96/97) (94,4 % - 100,0 %)	79,3 % (619/781) (76,2 % - 82,1 %)	37,2 % (96/258) (31,3 % - 43,4 %)	99,8 % (619/620) (99,1 % - 100,0 %)
Total	96,7 % (148/153) (92,5 % - 98,9 %)	82,3 % (950/1154) (80,0 % - 84,5 %)	42,0 % (148/352) (36,8 % - 47,4 %)	99,5 % (950/955) (98,8 % - 99,8 %)

^a El factor principal que contribuyó a la menor sensibilidad del 25 % en la detección de vanB en muestras perianales fue el bajo número de muestras que dieron positivo en vanB por cultivo. En general, hubo una baja prevalencia de vanB en la población del estudio.

Tabla 3. Eficacia diagnóstica del ensayo vanA/vanB por tipo de muestra y el método de cultivo enriquecido

Xpert vanA/vanB frente a cultivo enriquecido de vanA con IC del 95 %				
	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Perianal	90,6 % (58/64) (80,7 % - 96,5 %)	95,1 % (348/366) (92,3 % - 97,1 %)	76,3 % (58/76) (65,2 % - 85,3 %)	98,3 % (348/354) (96,3 % - 99,4 %)
Rectal	92,0 % (103/112) (85,3 % - 96,3 %)	94,0 % (720/766) (92,1 % - 95,6 %)	69,1 % (103/149) (61,0 % - 76,4 %)	98,8 % (720/729) (97,7 % - 99,4 %)
Total	91,5 % (161/176) (86,3 % - 95,2 %)	94,3 % (1068/1132) (92,8 % - 95,6 %)	71,6 % (161/225) (65,2 % - 77,4 %)	98,6 % (1068/1083) (97,7 % - 99,2 %)
Xpert vanA/vanB frente a cultivo enriquecido de vanB con IC del 95 %				
	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Perianal	25 % (1/4) (0,6 % - 80,6 %) ^a	94,1 % (401/426) (91,5 % - 96,2 %)	3,8 % (1/26) (0,1 % - 18,6 %)	99,3 % (401/404) (97,8 % - 99,8 %)
Rectal	100 % (13/13) (79,4 % - 100,0 %)	83,9 % (726/865) (81,3 % - 86,3 %)	8,6 % (13/152) (4,6 % - 14,2 %)	100 % (726/726) (99,6 % - 100,0 %)
Total	82,4 % (14/17) (56,6 % - 96,2 %)	87,3 % (1127/1291) (85,4 % - 89,1 %)	7,9 % (14/178) (4,4 % - 12,8 %)	99,7 % (1127/1130) (99,2 % - 99,9 %)
Xpert vanA/vanB frente a cultivo enriquecido vanA/vanB con IC del 95 %				
	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Perianal	86,8 % (59/68) (76,4 % - 93,8 %)	90,3 % (327/362) (86,8 % - 93,2 %)	62,8 % (59/94) (52,2 % - 72,5 %)	97,3 % (327/336) (95,0 % - 98,8 %)
Rectal	94,3 % (115/122) (88,5 % - 97,7 %)	81,2 % (614/756) (78,2 % - 83,9 %)	44,7 % (115/257) (38,6 % - 51,1 %)	98,9 % (614/621) (97,7 % - 99,5 %)
Total	91,6 % (174/190) (86,6 % - 95,1 %)	84,2 % (941/1118) (81,9 % - 86,3 %)	49,6 % (174/351) (44,2 % - 54,9 %)	98,3 % (941/957) (97,3 % - 99,0 %)

^a El factor principal que contribuyó a la menor sensibilidad del 25 % en la detección de vanB en muestras perianales fue el bajo número de muestras que dieron positivo en vanB por cultivo. En general, hubo una baja prevalencia de vanB en la población del estudio.

18. Especificidad analítica

Se recogieron, cuantificaron y analizaron cuarenta y dos cepas bacterianas y fúngicas utilizando el ensayo Xpert vanA/vanB. Las cepas provinieron de la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC), de la Colección de Cultivos de la Universidad de Gotemburgo (CCUG), de la Colección Alemana de Microorganismos y Cultivos Celulares (DSMZ) y de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC).

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

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

19. Sensibilidad analítica

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

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

Bajo las condiciones de este estudio, el límite de detección del ensayo Xpert *vanA/vanB* en una muestra de hisopo rectal simulada es de 37 UFC en el caso del *vanA* diana y de 112 UFC en el del *vanB* diana.

20. Sustancias interferentes

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

Tabla 4. Sustancias analizadas para comprobar su interferencia en el Xpert *vanA/vanB*

Sustancia	Sustancia
Sangre completa, Hospital de la Universidad de Karolinska	Vaselina, Unilever
Mucina (porcina), Sigma	Dulcolax®, Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals
Kaopectate®, Chattem	Toallitas portátiles de Preparation H®, Wyeth Consumer Healthcare
Imodium®, McNeil-PPC	Vancomicina, Fluka
Fleet®, CB Fleet Company	Metronidazol, Actavis
Grasas fecales, Hospital de la Universidad de Karolinska	Anusol® Plus TM, Warner-Lambert Company
K-Y Jelly/Gelée®, McNeil-PPC	Sulfato de bario de alta densidad para suspensión E-Z-HD™, E-Z-EM Canada
Crema de hidrocortisona, Longs Drugs ^a	Pepto-Bismol® Proctor & Gamble ^a

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

21. Bibliografía

- National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 to June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control. 2004; 32:470-485.
- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
- Stinear TP, Olden DC, Johnson PD, Davies JK, Grayson ML. Enterococcal *vanB* Resistance Locus in Anaerobic Bacteria in Human Feces. The Lancet. 2001. 357:855-856.
- Ballard SA, Grabsch EA, Johnson PDR, Grayson ML. Comparison of Three PCR Primer Sets for Identification of *vanB* Gene Carriage in Feces and Correlation with Carriage of Vancomycin-Resistant Enterococci: Interference by *vanB*-Containing Anaerobic Bacilli. Antimicrob Agents and Chemother. 2005. 49(1): 77-81.
- Domingo M.-C, Huletsky A, Bernal A, Giroux A, Boudreau DK, Picard FJ, Bergeron MG. Characterization of a Tn5382-like Transposon Containing the *vanB2* Gene Cluster in a *Clostridium* Strain Isolated from Human Faeces. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2005. 55(4):466-74.
- REGULATION (EO) 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/EC (amending Regulations (EO) No 1907/2007)
- Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R, pt. 1910, subpt. Z).

22. 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

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.

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.

24. Tabla de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	No volver a utilizar
	Código de lote
	Consultar las instrucciones de uso
	Precaución
	Marca CE – Conformidad europea
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Representante autorizado en Suiza
	Importador
	Fabricante
	País de fabricación
	Contiene una cantidad suficiente para <n> pruebas
	Control
	Fecha de caducidad
	Límites de temperatura
	Riesgos biológicos
	Atención



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Producto de Suecia



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland

