

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

REF GXMRSA/SA-SSTI-CE

Instrucciones de uso

CE **IVD**

Declaraciones sobre marcas comerciales, patentes y derechos de propiedad intelectual

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

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2019–2023 Cepheid.

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

Las restantes marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

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

© 2019–2023 Cepheid.

Consulte el Apartado 30, para obtener una descripción de los cambios.

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

Solo para uso diagnóstico *in vitro*.

1 Nombre patentado

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

2 Denominación común o habitual

Xpert MRSA/SA SSTI

3 Indicaciones

La prueba Xpert[®] MRSA/SA de Cepheid para infecciones en la piel y los tejidos blandos (prueba Xpert MRSA/SA SSTI), que se lleva a cabo en el sistema GeneXpert[®] Dx, es una prueba cualitativa de diagnóstico *in vitro* indicada para la detección de *Staphylococcus aureus* (SA) y *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) en hisopos de infección de la piel y tejidos blandos. La prueba utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (polymerase chain reaction, PCR) en tiempo real automatizada para detectar el ADN del SARM/SA. La prueba Xpert MRSA/SA SSTI está indicado para utilizarse junto con otras pruebas de laboratorio, como cultivos microbiológicos, y con los datos clínicos disponibles para el médico como ayuda en la detección de SARM/SA en infección de la piel y tejidos blandos. La prueba Xpert MRSA/SA SSTI no está indicado para monitorizar el tratamiento de infecciones por SARM/SA. Se necesitan cultivos concomitantes para SA y SARM para recuperar los microorganismos para las pruebas de sensibilidad o la tipificación epidemiológica.

4 Resumen y explicación

El *Staphylococcus aureus* (SA) es un patógeno oportunista humano bien documentado y un patógeno hospitalario importante que causa diversas enfermedades. Algunas de estas enfermedades conllevan infecciones de la piel y los tejidos blandos, que incluyen ántrax y forúnculos, e infecciones posoperatorias de las heridas en distintos sitios. Como patógeno hospitalario, el *S. aureus* ha sido una causa importante de morbimortalidad. Las infecciones por *S. aureus* son con frecuencia agudas y piógenas y, si no se tratan, pueden extenderse al tejido circundante o, por bacteriemia, a zonas de metástasis tumorales (afectando a otros órganos). Algunas de las infecciones más graves producidas por *S. aureus* son bacteriemia, neumonía, osteomielitis, endocarditis aguda, síndrome de choque tóxico, intoxicación alimentaria, miocarditis, pericarditis, encefalitis, meningitis, corioamionitis, síndrome de la piel escaldada y abscesos en músculos, aparato urogenital, sistema nervioso central y diversos órganos intraabdominales.¹

A principios de los años cincuenta del siglo pasado, la obtención y propagación de plásmidos productores de beta-lactamasas frustró la eficacia de la penicilina para el tratamiento de las infecciones por *S. aureus*. En 1959 se introdujo la meticilina, una penicilina sintética. Sin embargo, en 1960 se identificaron cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina. Se determinó que esto era el resultado de la adquisición por el *S. aureus* del gen *mecA*. Actualmente, en los Estados Unidos, el SARM es responsable de aproximadamente el 25 % de las infecciones hospitalarias y cada vez hay más informes de SARM de adquisición comunitaria, que ocasiona una morbimortalidad significativa. Se ha atribuido una mortalidad del 33 % y del 16 %, respectivamente, a las bacteriemias por SARM y *S. aureus* sensible a meticilina. Existe, además, preocupación por el coste cada vez más elevado de las infecciones por SARM. En un intento por limitar la propagación de estas infecciones, se han desarrollado y puesto en práctica estrategias y políticas de control en el entorno sanitario. El control del SARM es uno de los objetivos principales de la mayoría de los programas de control de las infecciones hospitalarias. Actualmente, el método habitual para detectar SARM y SA es el cultivo, que es muy laborioso y puede tardar varios días en generar un resultado definitivo.^{2,3,4,5,6,7}

5 Principio del procedimiento

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

La prueba Xpert MRSA/SA SSTI incluye reactivos para la detección de SARM y SA, así como un control de procesamiento de muestras (SPC, por sus siglas en inglés) para controlar el procesamiento adecuado de las bacterias diana y monitorizar la presencia de inhibidores en la reacción PCR. El SPC también garantiza que las condiciones de la reacción PCR (temperatura y tiempo) sean adecuadas para la reacción de amplificación y que los reactivos para la PCR funcionen correctamente. El control de comprobación de la sonda (PCC) comprueba la rehidratación de los reactivos, el llenado del tubo de PCR en el cartucho, la integridad de las sondas y la estabilidad del colorante.

Los cebadores y sondas de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI detectan secuencias patentadas de la proteína A estafilocócica (*spa*), del gen que confiere resistencia a la meticilina (*mecA*) y del cromosoma tipo cassette estafilocócico (SCC *mec*) insertado en el sitio del *attB* cromosómico del SA.

6 Reactivos e instrumentos

6.1 Material suministrado

El kit de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI contiene reactivos suficientes para procesar 10 muestras o muestras de control de calidad. El kit contiene lo siguiente:

Cartuchos de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI con tubos de reacción integrados	10
<ul style="list-style-type: none"> • Microesfera 1, microesfera 2 y microesfera 3 (liofilizadas) • Reactivo 1 • Reactivo 2 (hidróxido sódico) 	<ul style="list-style-type: none"> 1 por cartucho 3,0 ml por cartucho 3,0 ml por cartucho
Bolsa del reactivo de elución de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI	10 x 2,0 ml por bolsa
<ul style="list-style-type: none"> • Reactivo de elución (tiocianato de guanidinio) 	
CD	1 por kit
<ul style="list-style-type: none"> • Archivo de definición del ensayo (ADF) • Instrucciones para importar el ADF en el software GX • Instrucciones de uso (prospecto) 	

Nota Las fichas de datos de seguridad (FDS) 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 del Xpert MRSA/SA SSTI a 2-28 °C.
- No utilice los reactivos ni los cartuchos después de la fecha de caducidad indicada.
- No abra un cartucho hasta que no esté listo para realizar la prueba.
- No utilice ningún reactivo que presente turbidez o un cambio de color.

7 Materiales requeridos pero no suministrados

- Sistema del instrumento GeneXpert (el número de catálogo varía según la configuración): Instrumento GeneXpert, ordenador con software patentado de GeneXpert, versión 4.3 o posterior, 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.
- Dispositivo de recogida de muestras de Cepheid (900-0370) o dispositivo equivalente de Copan
- Agitadora vorticial
- Pipetas de transferencia desechables
- Gasa estéril

8 Materiales disponibles pero no suministrados

KWIK-STIKs™ de Microbiologics, n.º de catálogo 0158MRSA y n.º de catálogo 0360SA como controles positivos externos, y n.º de catálogo 0371MSSE (*Staphylococcus epidermidis* sensible a meticilina) como control negativo externo.

9 Declaraciones de atención y precaución

- 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) de Estados Unidos⁸ y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute)⁹.
- En un cultivo mixto que contenga SARM/SA y otros microorganismos (por ejemplo, bacilos gramnegativos, levaduras), los resultados pueden ser negativos falsos o variables en función de la concentración de SARM/SA presente, especialmente si dicha concentración está cerca del LD de la prueba.
- Siga los procedimientos de seguridad de su centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- La prueba Xpert MRSA/SA SSTI puede detectar ADN de SARM o SA procedente de microorganismos no viables. La probabilidad de que esto suceda aumenta en los pacientes tratados con antibióticos.
- La prueba Xpert MRSA/SA SSTI no proporciona resultados de pruebas de sensibilidad antimicrobiana. Se requiere tiempo adicional para realizar el cultivo y las pruebas de sensibilidad.
- No sustituya el reactivo de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI por otros reactivos.
- No abra la tapa del cartucho de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI excepto cuando vaya a añadir la muestra y el reactivo, o a repetir la prueba.
- No utilice un cartucho que se haya caído o agitado después de haber añadido la muestra y el reactivo.
- No utilice un cartucho que tenga un tubo de reacción dañado.
- Cada cartucho de un solo uso de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI se utiliza para procesar una 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, y 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 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 de desechos médicos.

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

10 Peligros químicos^{17,18}

- 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 en caso de malestar.
 - Enjuagarse la boca.
 - **Almacenamiento/eliminación**
 - Eliminar el contenido/el recipiente en conformidad con los reglamentos locales, regionales, nacionales e internacionales.

11 Recogida, transporte y conservación de muestras

Las muestras de hisopos de infecciones de la piel y los tejidos blandos pueden recogerse con el dispositivo de recogida de muestras de Cepheid, siguiendo los procedimientos habituales del centro del usuario. Los hisopos de muestras se colocan de nuevo en el tubo de transporte de plástico (se recomienda utilizar medio Stuarts líquido, y el dispositivo de recogida de muestras de Cepheid o de Copan), se conservan a temperatura ambiente y se envían a la zona de pruebas GeneXpert para procesarlos en las siguientes 24 horas. Los demás hisopos no analizados para cultivo microbiológico deben colocarse en sistemas de transporte adecuados y cultivarse en los 4 días siguientes. Si la muestra no se envía en un plazo de 24 horas, deberá transportarse en hielo. También es posible conservar los hisopos a una temperatura de 2 °C a 8 °C para su análisis en un plazo máximo de 5 días.

12 Cultivo microbiológico

Siga los procedimientos normalizados de trabajo existentes del laboratorio para los métodos de cultivo de SSTI. Para el cultivo, las muestras de hisopo restantes no analizadas deberán colocarse en sistemas de transporte adecuados y cultivarse en un plazo de 4 días.

13 Procedimiento

13.1 Preparación del cartucho

Importante Inicie la prueba antes de que transcurran 15 minutos después de añadir los reactivos al cartucho.

Para añadir la muestra y el reactivo de elución al cartucho:

1. Extraiga el cartucho y el reactivo de elución del envase.
2. Retire el hisopo del recipiente de transporte.

Nota Utilice una gasa estéril al manipular el hisopo para reducir al mínimo el riesgo de contaminación.

3. Introduzca el hisopo en el tubo que contiene el reactivo de elución y rompa el hisopo.
4. Cierre la tapa del frasco del reactivo de elución y agite en una agitadora vorticial a alta velocidad durante 10 segundos.
5. Abra la tapa del cartucho. Con una pipeta de transferencia estéril, transfiera todo el contenido del frasco de reactivo de elución a la cámara de muestras del cartucho de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI.
6. Cierre la tapa del cartucho.



Figura 1. Cartucho de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI (vista superior)

13.2 Inicio de la prueba

Importante Antes de iniciar la prueba, compruebe que se ha importado al software el archivo de definición del ensayo Xpert MRSA/SA SSTI.

Este apartado enumera los pasos predeterminados para utilizar el sistema GeneXpert. Para obtener instrucciones detalladas, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx* o el *Manual del operador del GeneXpert Infinity*.

1. Encienda el sistema GeneXpert :

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

- 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 GeneXpert se iniciará 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 (GeneXpert Dx) o **Solicitudes (Orders)** y **Solicitar prueba (Order Test)** Infinity). Se abre la ventana Crear prueba (Create Test)
4. Escanee la Id. paciente (Patient ID) (opcional). Si escribe la Id. paciente (Patient ID), asegúrese de escribirla correctamente. La Id. paciente (Patient ID) se asocia a los resultados del ensayo, y se muestra en la ventana Ver resultados (View Results).
5. Escanee o escriba la Id. muestra (Sample ID). Si escribe la Id. muestra (Sample ID), asegúrese de escribirla correctamente. La Id. muestra (Sample ID) se asocia a los resultados de la prueba, y se muestra en la ventana Ver resultados (View Results).
6. Escanee el código de barras del cartucho de Xpert MRSA/SA SSTI. 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 de reactivo (Reagent Lot ID), N° de serie del cartucho (Cartridge S/N) y Fecha de caducidad (Expiration Date).

Nota Si el código de barras del cartucho del Xpert MRSA /SA SSTI no se escanea, repita la prueba con un cartucho nuevo.

7. Haga clic en (GeneXpert Dx) o **Enviar** 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

En 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 .

14 Visualización e impresión de los resultados

Para obtener instrucciones detalladas sobre cómo ver e imprimir los resultados, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx* o el *Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity*.

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

15 Control de calidad

15.1 Controles de calidad integrados

Cada prueba incluye un control de procesamiento de muestras (SPC o BG3 en la pantalla de visualización de resultados para el usuario de nivel administrativo) 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 la muestra con la prueba Xpert MRSA/SA SSTI. El SPC confirma que se ha producido la lisis del *Staphylococcus aureus*, 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 la muestra del ensayo de PCR en tiempo real, garantiza que las condiciones (temperatura y tiempo) de la reacción PCR sean correctas para la reacción de amplificación y que los reactivos para la PCR funcionen correctamente. El SPC debe ser positivo en una muestra negativa, y puede ser negativo o positivo en una muestra positiva. El SPC se considera superado si cumple los criterios de aceptación validados.
- **Control de comprobación de la sonda (PCC) :** antes de iniciar la reacción de 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.

15.2 Controles externos

Pueden utilizarse KWIK-STIK (Microbiologics, n.º de catálogo 0158MRSA [SCC*mec* tipo II] y n.º de catálogo 0360SA como controles positivos, y n.º de catálogo 0371MSSE como control negativo) para la formación de usuarios, las pruebas de aptitud y como CC externo del sistema GeneXpert. Para la monitorización de cebadores y sondas del ensayo no controlados directamente en este, pueden utilizarse cepas de SARM que representan otros tipos de SCC*mec*, si están disponibles, como controles positivos externos adicionales. Pueden utilizarse controles externos de acuerdo con las instituciones de acreditación y las normativas gubernamentales, si procede. Siga el procedimiento para controles externos de Microbiologics que se describe a continuación:

1. Abra la bolsa rasgándola por la muesca y retire el KWIK-STIK.
2. Comprima la parte inferior de la ampolla del tapón para que salga el líquido hidratante.
3. Sujete verticalmente y dé golpecitos para facilitar el flujo del líquido a través del cilindro hasta el fondo de la unidad que contiene el gránulo.
4. Para facilitar la disolución del gránulo de células liofilizado, aplaste el gránulo y comprima suavemente la cámara inferior.
5. Abra el KWIK-STIK para liberar el hisopo e introduzca el hisopo en el tubo que contiene el reactivo de elución (tapón de rosca).
6. El hisopo KWIK-STIK está ahora listo para las pruebas con Xpert MRSA/SA SSTI.
7. Si el CC externo no funciona según lo previsto, repita la prueba del control externo o póngase en contacto con Cepheid para recibir asistencia.

La Figura 2 a la Figura 5 muestran ejemplos de resultados de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI.

16 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). Los resultados posibles son:

Tabla 1. Resultados e interpretación del MRSA/SA SSTI

Resultado	Interpretación
SARM POSITIVO; SA POSITIVO (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE) Figura 2	<p>La prueba Xpert MRSA/SA SSTI puede detectar ADN de SARM o SA procedente de microorganismos no viables.</p> <p>Se detectan secuencias de ADN diana de SARM/se detecta la secuencia de ADN diana de SA.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA POSITIVO — todas las dianas de SARM (<i>spa</i>, <i>mecA</i> y <i>SCCmec</i>) tienen un umbral del ciclo (Ct) dentro del rango válido y un criterio de valoración por encima del valor mínimo configurado. • SPC—N/A (no aplicable) (SPC—NA [not applicable]); el SPC se omite, ya que la amplificación del SARM podría competir con este control. • Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.
MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE) Figura 3	<p>La prueba Xpert MRSA/SA SSTI puede detectar ADN de SARM o SA procedente de microorganismos no viables.</p> <ul style="list-style-type: none"> • No se detectan secuencias de ADN diana de SARM/se detecta la secuencia de ADN diana de SA. • SA POSITIVO — la diana SA (<i>spa</i>) tiene un Ct dentro del rango válido y un criterio de valoración por encima del valor mínimo configurado. El ADN diana para <i>SCCmec</i> no se detecta, el ADN diana para <i>mecA</i> puede detectarse o no, o el ADN diana para <i>SCCmec</i> se detecta y el ADN diana para <i>mecA</i> no se detecta («cassette vacío»). • SPC—N/A (no aplicable) (SPC—NA [not applicable]); el SPC se omite, ya que la amplificación del SA podría competir con este control. • Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación. <p>Un resultado positivo de la prueba no indica necesariamente la presencia de microorganismos viables. Sin embargo, se presupone la presencia de SARM o SA.</p>
MRSA NEGATIVO; SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE) Figura 4	<p>La secuencia del ADN diana del <i>Staphylococcus aureus</i> no se detecta. El SPC satisface los criterios de aceptación.</p> <ul style="list-style-type: none"> • NEGATIVO (NEGATIVE) — no se detecta el ADN diana del <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>spa</i>). El ADN diana para <i>mecA</i> puede detectarse o no; o el ADN diana para <i>SCCmec</i> puede detectarse o no. • 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 comprobación de la sonda superan la comprobación. <p>Podría obtenerse un negativo falso para SARM (un resultado «MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO») en lugar de «MRSA POSITIVO; SA POSITIVO») si SARM y SA están presentes en la muestra en una proporción SARM:SA de 1:1x10⁶ o superior.</p> <p>En los estudios clínicos, 5 de los 246 cultivos positivos para SARM mostraron infecciones mixtas por SARM y SA. La prueba Xpert MRSA/SA SSTI identificó 3 de las 5 infecciones mixtas como positivas para MRSA y 2 de las 5 como positivas para SA/negativas para SARM.</p>

Resultado	Interpretación
<p>NO VÁLIDO (INVALID) Figura 5</p>	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de secuencias de ADN diana de SARM/SA; repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del apartado 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 ADN del <i>Staphylococcus aureus</i>. • SPC—NO SUPERADO (SPC—FAIL); el resultado de la diana del SPC es negativo, el Ct del SPC no está dentro del rango válido y el criterio de valoración está por debajo del valor mínimo configurado. • Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.
<p>ERROR</p>	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de secuencias de ADN diana de SARM/SA; repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del apartado siguiente. El control de comprobación de la sonda falló, lo cual se debe probablemente a que un tubo de reacción no se había llenado bien, a un problema con la integridad de las sondas o a que se excedieron los límites máximos de presión.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SARM—SIN RESULTADO (NO RESULT) • SA—SIN RESULTADO (NO RESULT) • SPC—SIN RESULTADO (NO RESULT) • Comprobación de la sonda—NO SUPERADO (Probe Check—FAIL)*; uno o más de los resultados de la comprobación de la sonda no superan la comprobación. <p>* Si la comprobación de la sonda se superó, el error se debe a un fallo de los componentes del sistema.</p>
<p>SIN RESULTADO (NO RESULT)</p>	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de secuencias de ADN diana de SARM/SA; repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del apartado siguiente. No se obtuvieron suficientes datos para producir un resultado de la prueba. Por ejemplo, esto puede ocurrir si el usuario paró una prueba que estaba en curso.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SARM—SIN RESULTADO (NO RESULT) • SA—SIN RESULTADO (NO RESULT) • SPC—SIN RESULTADO (NO RESULT) • Comprobación de la sonda—N/A (no aplicable) (Probe Check—NA [not applicable])

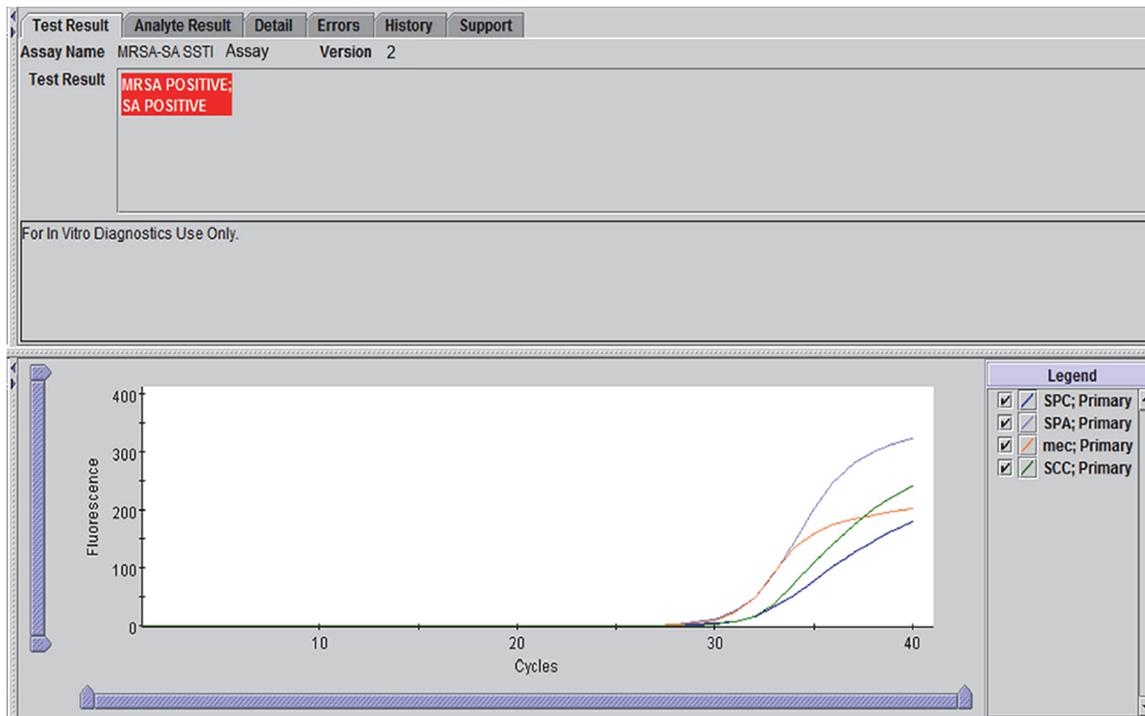


Figura 2. Ejemplo de un resultado MRSA Positivo/SA Positivo

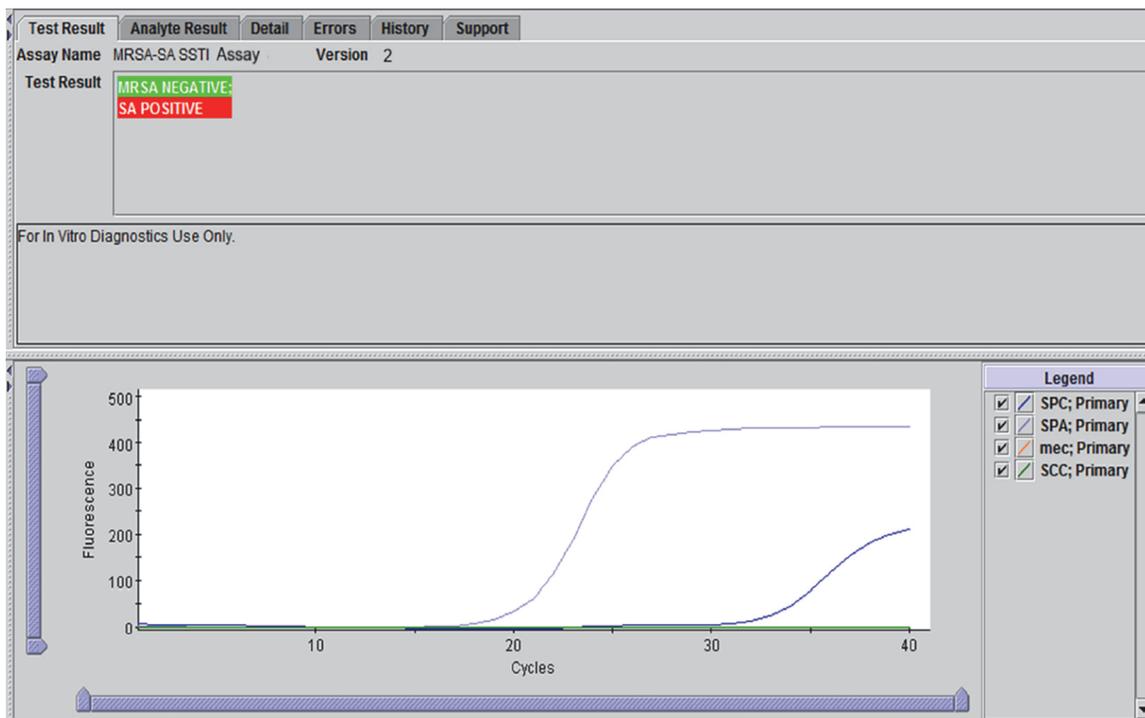


Figura 3. Ejemplo de un resultado MRSA Negativo/SA Positivo

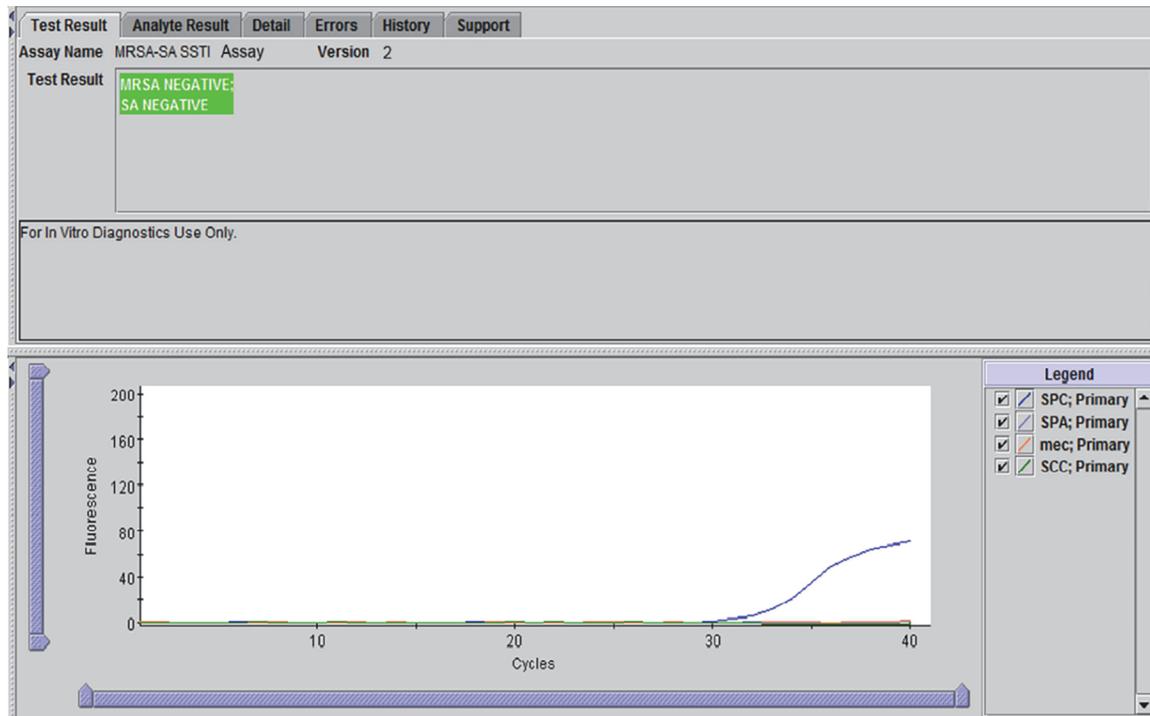


Figura 4. Ejemplo de un resultado MRSA Negativo/SA Negativo

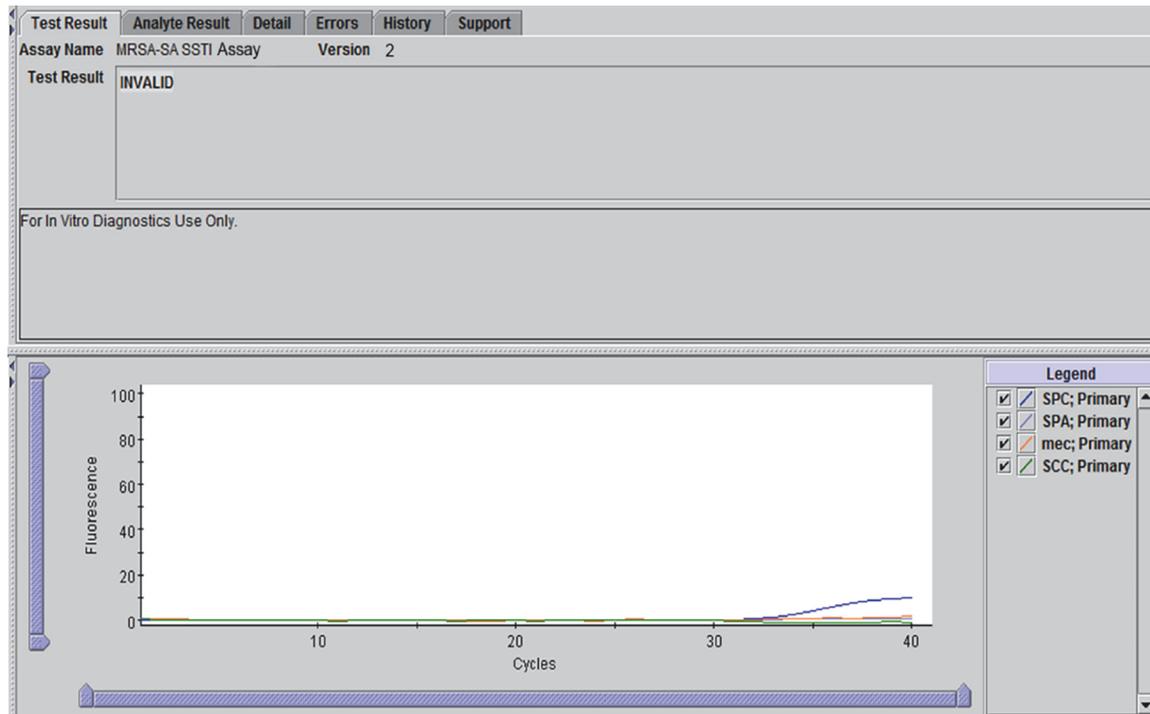


Figura 5. Ejemplo de un resultado no válido

17 Motivos para repetir el ensayo

17.1 Razones para repetir la prueba

Repita la prueba con un cartucho nuevo (no vuelva a utilizar el cartucho) y reactivos nuevos. Repita la prueba antes de transcurran 3 horas desde la obtención de un resultado indeterminado.

- **NO VÁLIDO (INVALID)** 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.
- **ERROR** 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.
- **A SIN RESULTADO (NO RESULT) SIN RESULTADO (NO RESULT)** indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, si el operador detuvo una prueba en curso.
- Si un CC externo deja de actuar según lo esperado, repita la prueba con el control externo o póngase en contacto con Cepheid para recibir asistencia.

17.2 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.

Para repetir una prueba, si se repite antes de 3 horas de haber obtenido un resultado indeterminado*:

1. Transfiera el contenido restante de la cámara de muestras a un nuevo reactivo de elución con una pipeta de transferencia desechable.
2. Agite en una agitadora vorticial y añada todo el contenido del reactivo de elución a la cámara de muestras del nuevo cartucho de la prueba MRSA/SA SSTI.
3. Cierre la tapa e inicie la nueva prueba.

* Si la prueba no puede repetirse en un plazo de 3 horas, utilice una nueva muestra.

18 Limitaciones

- La eficacia de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI se validó únicamente con los procedimientos descritos en este prospecto. Las modificaciones de estos procedimientos pueden afectar a la eficacia de la prueba. Los resultados de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI deben interpretarse junto con otros datos de laboratorio y clínicos de los que disponga el médico.
- La prueba Xpert MRSA/SA SSTI puede detectar ADN de SARM o SA procedente de microorganismos no viables. La probabilidad de que esto suceda aumenta en los pacientes tratados con antibióticos. En el estudio clínico fundamental, la tasa de positivos falsos (frente al cultivo) para detectar SA en pacientes tratados con antibióticos en las tres semanas previas a las pruebas con el Xpert MRSA/SA fue del 13,8 %. La tasa de positivos falsos (frente al cultivo) para detectar SARM en pacientes tratados con antibióticos en las tres semanas previas a la prueba con el Xpert MRSA/SA fue del 9,5 %.
- Un resultado positivo de la prueba no indica necesariamente la presencia de microorganismos viables. Sin embargo, se presupone la presencia de SARM o SA.
- La prueba con la prueba Xpert MRSA/SA SSTI debe utilizarse como complemento de otros métodos disponibles.
- 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.
- Dado que la detección de SARM y SA depende de la cantidad de microorganismos presentes en la muestra, la fiabilidad de los resultados dependerá de la recogida, manipulación y conservación correctas de las muestras.
- Las mutaciones o polimorfismos 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.
- En muestras que contienen tanto SARM como SA, es posible que la prueba Xpert MRSA/SA SSTI no detecte los microorganismos de SA resistente a meticilina. (En el ensayo clínico fundamental, la prueba Xpert MRSA/SA SSTI no detectó 2 de las 5 muestras positivas para SARM en el cultivo en casos con infecciones mixtas por SARM/SA documentadas).

- En un cultivo mixto, el LD analítico de SARM es variable cuando existen concentraciones extremadamente altas de SA. Se observó competencia procedente del SA a una proporción SARM:SA de 1:1x10⁶. En los estudios clínicos, 5 de los 246 cultivos positivos para SARM mostraron infecciones mixtas por SARM y SA. La prueba Xpert MRSA/SA SSTI identificó 3 de las 5 infecciones mixtas como positivas para MRSA y 2 de las 5 como positivas para SA/negativas para SARM.
- Se ha observado la inhibición de la prueba MRSA/SA SSTI con las sustancias siguientes: StaphA +Septic (5 % p/v), hidrocortisona (5 % p/v) y desinfectante antibacteriano para manos (5 % p/v).
- No pueden utilizarse muestras que contengan merbromina (Mercurochrome) debido a su naturaleza fluorescente.
- La prueba Xpert MRSA/SA SSTI generará un resultado positivo falso para SARM cuando se analice una muestra de SSTI de infección mixta que contenga *Staphylococcus coagulasa* negativos resistentes a meticilina (MRCNS) y *Staphylococcus aureus* (SA) sensibles a meticilina tipo cassette vacío.
- Debido al factor de dilución asociado con el procedimiento de repetición de la prueba, es posible que muestras positivas de SARM o SA, muy próximas o en el límite de detección (LD) de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI, puedan dar un resultado negativo falso al repetir la prueba.

19 Sustancias interferentes

En el estudio de investigación de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI, se observó que 428 de las 848 muestras contenían sangre y 404 contenían otras sustancias no específicas, que podían interferir con la prueba (algunas muestras contenían más de un tipo de posible contaminante). Las pruebas exactas de Fisher realizadas en los datos generados con hisopos con estas sustancias potencialmente interferentes y sin ellas demostraron que su presencia no afecta a la eficacia de la prueba.

En un estudio no clínico, se evaluaron posibles sustancias interferentes que podrían estar presentes en las muestras clínicas de infección de la piel y tejidos blandos directamente en relación con la eficacia de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI. Las sustancias potencialmente interferentes presentes en las infecciones de la piel y los tejidos blandos incluyen, entre otras: sangre, pus, plasma, pomadas tópicas (antibióticos, antisépticos o analgésicos), agentes desbridantes y tinturas. Estas sustancias se indican en la Tabla 2 y la Tabla 3 junto con los principios activos y las concentraciones analizadas. Se ha observado la inhibición de la prueba MRSA/SA SSTI con las sustancias siguientes: Antiséptico para estafilococo (5 % p/v), hidrocortisona (5 % p/v) y desinfectante antibacteriano para manos (5 % p/v).

No pueden utilizarse muestras que contengan merbromina (Mercurochrome) debido a su naturaleza fluorescente.

Tabla 2. Posibles sustancias de SSTI interferentes analizadas

Sustancia	Principio activo	% evaluado
Tampón TET	Control	Control
Capa leucocítica (simula la herida)	LEU (1.5e9/ml)	50 % (v/v)
Sangre completa (sin (SARM/SA))	N/A	50 % (v/v)
Plasma	N/A	50 % (v/v)
Neosporina	400 unidades de bacitracina 5000 unidades de polimixina B 3,5 mg de neomicina	1 % y 5 % (p/v)
StaphA+Septic	Cloruro de bencetonio al 0,2 % , lidocaína HCl al 2,5 %	1 % y 5 % (p/v)
Hidrocortisona	Hidrocortisona al 1 %	1 % y 5 % (p/v)
Boil-Ease	Benzocaína al 20 %	1 % y 5 % (p/v)
Tintura de yodo	Yodo al 2 %	50 % (v/v)

Tabla 3. Posibles sustancias de SSTI interferentes analizadas

Sustancia	Principio activo	% evaluado
Tampón TET (control)	Control	Control
Mupirocina	Cloruro de bencetonio al 0,2 % , lidocaína HCl al 2,5 %	5 % (p/v)
Sangre completa (sin (SARM/SA))	N/A	50 % (v/v)
Solución salina	Cloruro sódico al 0,65 %	50 % (v/v)
Desinfectante antibacteriano para manos	Etanol al 62 %	1 % y 5 % (p/v)
Isopropanol al 70 %	Isopropanol al 70 %	50 % (v/v)

20 Valores esperados

En el estudio clínico del Xpert MRSA/SA SSTI se incluyó un total de 848 muestras de SSTI de cuatro grandes hospitales de todo Estados Unidos. El número y porcentaje de casos positivos por el método del cultivo de referencia, calculados por grupo de edad, se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Prevalencia observada de SARM y SA por cultivo

Grupo de edad	N total	SARM por cultivo		SA por cultivo	
		Número de positivos	Prevalencia observada	Número de positivos	Prevalencia observada
Menores de 3 años	34	11	32,4 %	21	61,8 %
De 3 a 18 años	100	25	25,0 %	55	55,0 %
De 19 a 65 años	614	188	30,6 %	300	48,9 %
Mayores de 66 años	100	22	22,0 %	35	35,0 %

21 Eficacia diagnóstica

21.1 Eficacia clínica

Las características de eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI se determinaron en un estudio de investigación multicéntrico prospectivo en cuatro centros de EE. UU. mediante la comparación de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI con el cultivo de referencia. Los sujetos incluyeron personas cuya atención médica ordinaria requería la recogida de un hisopo de infección de la piel y los tejidos blandos del paciente para su cultivo.

Se recogieron dos hisopos de cada sujeto. Un hisopo se analizó con la prueba Xpert MRSA/SA SSTI en el centro de inclusión y el otro se analizó con el método habitual del centro; la muestra restante se envió al laboratorio central para su análisis mediante el cultivo de referencia.

En el laboratorio centralizado, la muestra se enriqueció en un caldo de soja tripticasa con 6,5 % de NaCl durante toda la noche. A continuación, se sembró el caldo de soja tripticasa en placas con cefoxitina (para SARM) y sin cefoxitina (para SA). En los casos en que las placas de SA, SARM o ambas, mostraron colonias presuntamente de *S. aureus*, se subcultivaron las colonias en una placa de agar-sangre. La confirmación de colonias presuntamente positivas se realizó con catalasa, coagulasa en tubo y tinción de Gram. La resistencia a la oxacilina mediada por *MecA* se analizó mediante la prueba de difusión en disco con un disco de cefoxitina de 30 µg y un valor de corte de 21/22 mm. En los casos en los que tanto las placas de SA como de SARM mostraron resultados negativos en el cultivo, se subcultivó en agar-sangre el caldo de soja tripticasa con 6,5 % de NaCl guardado, seguido de las pruebas de SA/SARM descritas anteriormente.

Se calculó la eficacia de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI en relación con los resultados del cultivo de referencia.

21.2 Resultados generales

Se analizó un total de 848 muestras para la detección de SARM y SA mediante la prueba Xpert MRSA/SA SSTI y cultivo.

De los 848 casos en el conjunto de datos aptos, se informó del uso de antibióticos en las 3 semanas anteriores a la recogida de las muestras en 207 sujetos y se confirmó la no utilización de antibióticos en 441 sujetos; en 200 casos, no se pudo determinar el estado respecto al uso de antibióticos. Se observó una disminución estadísticamente significativa en la tasa de positivos para SA en relación a los resultados del cultivo cuando se utilizaron antibióticos ($p=0,007$); este fenómeno se ha descrito también en la literatura.^{10, 11, 12, 13, 14} La tasa de positivos para SARM en los cultivos también disminuyó, aunque en menor grado ($p=0,022$). No se observó una disminución de resultados positivos con la prueba Xpert MRSA/SA SSTI en los casos en los que se utilizaron antibióticos ni se observó inhibición en el ensayo en presencia de antibióticos tópicos (consulte el apartado 20 Sustancias interferentes). La disminución de la tasa de positivos en los cultivos de SARM y SA en presencia de antibióticos ocasionó una tasa de positivos falsos superior a la esperada con la prueba Xpert MRSA/SA SSTI.

Cinco de los 246 cultivos positivos para SARM tenían infecciones mixtas de SARM y SA. La prueba Xpert MRSA/SA SSTI identificó 3 de las 5 infecciones mixtas como positivas para MRSA y 2 de las 5 como positivas para SA/negativas para SARM.

La eficacia de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI se resume en la Tabla 5 a la Tabla 7.

Tabla 5. Rendimiento de SARM/SA en sujetos sin uso de antibióticos en las 3 semanas tras la recogida de muestras frente al cultivo de referencia

	Cultivo			Total
	SARM+	SA+/SARM-	Neg/Sin crecimiento	
SARM+	137 ^a	2	6	145
SA+/SARM-	3 ^b	79	16	98
SA-	6	4	188	198
Total	146	85	210	441

^a 1 de las 137 tenía infección mixta por SARM y SA.

^b 2 de las 3 tenían infecciones mixtas por SARM y SA.

Porcentaje de concordancia de positivos (SARM+) = 93,8; Intervalo de confianza del 95 % = 88,6-97,1

Porcentaje de concordancia de negativos (SARM+) = 97,3; Intervalo de confianza del 95 % = 94,7-98,8

Porcentaje de concordancia de positivos (SA+/SARM+) = 95,7; Intervalo de confianza del 95 % = 92,2-97,9

Porcentaje de concordancia de negativos (SA+SARM+) = 89,5; Intervalo de confianza del 95 % = 84,6-93,3

Entre los sujetos sin uso de antibióticos en las tres semanas anteriores a la recogida de muestras, la prueba Xpert MRSA/SA SSTI identificó el 93,8 % de las muestras positivas para SARM y el 97,3 % de las muestras negativas para SARM en relación al método de cultivo de referencia, y el 95,7 % de las muestras positivas para SA y el 89,5 % de las muestras negativas para SA en relación al método de cultivo de referencia.

Entre estos sujetos sin uso de antibióticos, el 96,8 % (427/441) generó correctamente un resultado en el primer intento con la prueba Xpert MRSA/SA SSTI. Las 14 muestras restantes dieron resultados indeterminados en el primer intento (6 **NO VÁLIDO (INVALID)**, 7 **ERROR** y 1 **SIN RESULTADO (NO RESULT)**). De las 14 muestras indeterminadas en el primer intento, las en su totalidad generaron un resultado en el segundo intento.

Tabla 6. Rendimiento de SARM/SA en sujetos con uso desconocido de antibióticos en las 3 semanas tras la recogida de muestras frente al cultivo de referencia

Cultivo					
		SARM+	SA+/SARM-	Neg/Sin crecimiento	Total
Xpert	SARM+	47 ^a	0	4	51
	SA+/SARM-	2	45	8	55
	SA-	1	2	91	94
	Total	50	47	103	200

^a 2 de las 47 tenían infecciones mixtas por SARM y SA

Porcentaje de concordancia de positivos (SARM+) = 94,0; Intervalo de confianza del 95 % = 83,5-98,7

Porcentaje de concordancia de negativos (SARM+) = 97,3; Intervalo de confianza del 95 % = 93,3-99,3

Porcentaje de concordancia de positivos (SA+/SARM+) = 96,9; Intervalo de confianza del 95 % = 91,2-99,4

Porcentaje de concordancia de negativos (SA+/SARM+) = 88,3; Intervalo de confianza del 95 % = 80,5-93,8

En los casos en los que no se sabía si el sujeto había utilizado antibióticos en las 3 semanas anteriores a la recogida de muestras, la prueba Xpert MRSA/SA SSTI identificó el 94,0 % de las muestras positivas para SARM y el 97,3 % de las muestras negativas para SARM en relación con el método de cultivo de referencia, y el 96,9 % de las muestras positivas para SA y el 88,3 % de las muestras negativas para SA en relación con el método de cultivo de referencia.

Entre estos sujetos con un uso de antibióticos desconocido, el 97,0 % (194/200) generó correctamente un resultado en el primer intento con la prueba Xpert MRSA/SA SSTI. Las 6 muestras restantes dieron resultados indeterminados en el primer intento (2 **NO VÁLIDO (INVALID)**, 3 **ERROR** y 1 **SIN RESULTADO (NO RESULT)**). De las 6 muestras indeterminadas en el primer intento, las en su totalidad generaron un resultado en el segundo intento.

Tabla 7. Rendimiento de SARM/SA en sujetos con uso conocido de antibióticos en las 3 semanas tras la recogida de muestras frente al cultivo de referencia

Cultivo					
		SARM+	SA+/SARM-	Neg/Sin crecimiento	Total
Xpert	SARM+	44	2	10	56
	SA+/SARM-	3	31	19	53
	SA-	3	1	94	98
	Total	50	34	123	207

Porcentaje de concordancia de positivos (SARM+) = 88,0; Intervalo de confianza del 95 % = 75,7-95,5

Porcentaje de concordancia de negativos (SARM+) = 92,4; Intervalo de confianza del 95 % = 87,0-96,0

Porcentaje de concordancia de positivos (SA+/SARM+) = 95,2; Intervalo de confianza del 95 % = 88,3-98,7

Porcentaje de concordancia de negativos (SA+/SARM+) = 76,4; Intervalo de confianza del 95 % = 67,9-83,6

En los sujetos con un uso conocido de antibióticos en las 3 semanas anteriores a la recogida de muestras, la prueba Xpert MRSA/SA SSTI identificó el 88,0 % de las muestras positivas para SARM y el 92,4 % de las muestras negativas para SARM en relación con el método de cultivo de referencia, y el 95,2 % de las muestras positivas para SA y el 76,4 % de las muestras negativas para SA en relación con el método de cultivo de referencia.

Entre estos sujetos con uso de antibióticos, el 96,1 % (199/207) de estas muestras elegibles generó correctamente un resultado en el primer intento con la prueba Xpert MRSA/SA SSTI. Las 8 muestras restantes dieron resultados indeterminados en el primer intento (5 **NO VÁLIDO (INVALID)** y 3 **ERROR**). De las 89 muestras indeterminadas en el primer intento, las en su totalidad generaron un resultado en el segundo intento.

21.3 Variantes de cassette vacío

Para que un aislado sea identificado como positivo para SARM con la prueba Xpert MRSA/SA SSTI, la prueba para *spa* debe ser positiva, al igual que la prueba para *mecA* y *SCCmec*. Un aislado positivo para *spa* y *SCCmec*, pero no para *mecA* se notifica como SA porque es sensible a meticilina. Esta situación puede darse cuando el fragmento del elemento *SCCmec* que transporta el *mecA* se suprime, mientras que los extremos de este elemento móvil permanecen en su lugar, produciendo una señal *SCCmec* positiva. A estos aislados se les denomina a veces «variantes de cassette vacío» y no son raros en el entorno clínico. La importancia de estos aislados es que pueden confundir un ensayo para SARM que no detecta el gen *mecA* directamente. La prueba Xpert MRSA/SA SSTI se diseñó para identificar correctamente estas variantes como SA.

Entre las muestras aptas incluidas en los análisis de datos presentados en este informe, un total de 16 aislados se ajustaron al perfil de cassette vacío con resultados positivos en la prueba de *spa* y *SCCmec*, pero sin detección de *mecA* (Ct = 0), como se muestra en la Tabla 8. Quince (15) de los 16 aislados se verificaron como negativos verdaderos para SARM en relación con el cultivo y 14 de los 16 se verificaron como positivos verdaderos para SA en relación con el cultivo. Un aislado se identificó como SARM mediante cultivo y 2 aislados resultaron negativos para SARM y SA en el cultivo.

Tabla 8. Eficacia del MRSA/SA SSTI Assay frente al cultivo de referencia - variantes de cassette vacío

N.º de sujetos	Resultado de Xpert	Ct de <i>spa</i>	Ct de <i>mecA</i>	Ct de <i>SCCmec</i>	Cultivo	Xpert frente al cultivo	
						SARM	SA
1	SA	23,6	0	26,0	SA	NV	PV
2	SA	14,7	0	16,5	SA	NV	PV
3	SA	20,5	0	34,0	SA	NV	PV
4	SA	18,4	0	21,0	SA	NV	PV
5	SA	15,6	0	28,4	SARM	NF	PV
6	SA	17,2	0	31,6	SA	NV	PV
7	SA	34,1	0	35,6	Neg	NV	PF
8	SA	29,1	0	33,0	SA	NV	PV
9	SA	12,7	0	23,5	SA	NV	PV
10	SA	18,2	0	27,6	SA	NV	PV
11	SA	18,4	0	22,0	SA	NV	PV
12	SA	25,5	0	27,7	SA	NV	PV
13	SA	20,0	0	22,1	Neg	NV	PF
14	SA	26,0	0	28,3	SA	NV	PV
15	SA	23,9	0	25,7	SA	NV	PV
16	SA	19,9	0	34,0	SA	NV	PV

22 Eficacia analítica

22.1 Estudio de especificidad analítica (reactividad cruzada)

Se recogieron, cuantificaron y analizaron ciento cinco (105) cepas con la prueba Xpert MRSA/SA SSTI. Los 98 cultivos de la American Type Culture Collection (ATCC) y 7 cepas de la Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA) representan especies filogenéticamente relacionadas con el *Staphylococcus aureus* o potencialmente presentes en el entorno hospitalario.

Estos cultivos y cepas incluyeron estafilococos coagulasa negativos sensibles a meticilina (29) y estafilococos coagulasa negativos resistentes a meticilina (9). Los microorganismos analizados se identificaron como grampositivos (74), gramnegativos (28) o levaduras (3). Los microorganismos se clasificaron además como aerobios (95) o anaerobios (10).

Se analizaron dos (2) o más réplicas de cada aislado a 1,7-3,2 unidades McFarland. En las condiciones del estudio, todos los aislados se notificaron como MRSA negativo y SA negativo; ninguno de los aislados fue detectado por la prueba Xpert MRSA/SA SSTI. Se incluyeron en el estudio controles positivos y negativos. La especificidad analítica fue del 100 %.

22.2 Evaluación de cepas BORSA

Se analizaron siete (7) cepas de *Staphylococcus aureus* con resistencia de bajo nivel a la oxacilina (borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*, BORSA) bien caracterizadas, incluido un «cassette vacío» aparente (véase más arriba). El *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina es resistente a todos los β -lactámicos a través de la proteína alternativa de unión a penicilina PBP2a codificada por *mecA*¹⁵. Las cepas BORSA son *mecA* negativas, 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 para evitar el uso innecesario e indebido de vancomicina y las medidas de aislamiento injustificadas para pacientes infectados con una cepa sensible a β -lactámicos¹⁶.

En las condiciones de este estudio, los 7 aislados de BORSA (incluido el aislado de «cassette vacío» aparente) se notificaron como MRSA negativo/SA positivo (SARM negativo/SA positivo) a concentraciones celulares alta y baja con la prueba Xpert MRSA/SA SSTI. No se notificaron señales de *mecA*. Estos resultados demuestran que una cepa BORSA se identificará correctamente como MRSA negativo/SA positivo y no se notificará un resultado positivo falso de la prueba de SARM con la prueba Xpert MRSA/SA SSTI.

22.3 Sensibilidad analítica

Estudios de límite de detección

Se realizaron estudios destinados a determinar los intervalos de confianza del 95 % para el límite de detección (LD) analítico de células de *Staphylococcus aureus* (SA) y células de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (SARM), diluidas en una matriz de origen humano que simula la herida. La matriz que simula la herida consistió en un concentrado de leucocitos (LEU) preparado por centrifugación a partir de sangre completa. La matriz contenía también hemáticas (HEM) y plasma, y una cantidad insignificante de anticoagulante (CPD o CPDA-1). El límite de detección se define como el número mínimo de unidades formadoras de colonias (UFC) por muestra que pueden distinguirse de forma reproducible de las muestras negativas con una confianza del 95 % o la concentración más baja a la que 19 de 20 réplicas son positivas.

Para el SARM, se evaluaron réplicas de 20 a cada concentración de SARM analizada (UFC/hisopo) de 6 aislados individuales que representaban los tipos I, II, III, IVa, V y VI de *SCCmec*. Cuando se caracterizaron mediante electroforesis en gel de campo pulsado (pulsed-field gel electrophoresis, PFGE), estuvieron representadas las cepas USA100 (la más común adquirida en el ámbito sanitario) y USA400 (una de las más comunes adquiridas en el ámbito comunitario).

Para el SA, se evaluaron réplicas de 20 a cada concentración de SA (UFC/hisopo) de 3 aislados de SA individuales. Estos aislados representaban los tipos USA900 y USA1200 de EE. UU.

La estimación y los intervalos de confianza se determinaron mediante regresión logística con datos (número de resultados positivos por número de réplicas de cada nivel) en todo el rango de UFC/hisopo analizado. Los intervalos de confianza se determinaron utilizando estimaciones de máxima verosimilitud de los parámetros del modelo logístico, utilizando la matriz de varianzas y covarianzas de muestras de gran tamaño. Las estimaciones puntuales del LD y los intervalos de confianza superior e inferior del 95 % para cada SA y cada tipo *SCCmec* de SARM analizados se resumen en las Tabla 9 y Tabla 10.

Tabla 9. Intervalos de confianza del 95 % para el LD analítico – SA

ID de la cepa de SA	PFGE	LD (UFC/hisopo)	IC del 95 % inferior	IC del 95 % superior
N7129	USA900	51	42	69
102-04	USA1200	87	76	109
29213	desconocido	123	97	188

Tabla 10. Intervalos de confianza del 95 % para el LD analítico – SARM

ID de cepa de SARM	Tipo <i>SCCmec</i>	PFGE	LD (UFC/hisopo)	IC del 95 % inferior	IC del 95 % superior
--------------------	--------------------	------	-----------------	----------------------	----------------------

ID de cepa de SARM	Tipo SCCmec	PFGE	LD (UFC/hisopo)	IC del 95 % inferior	IC del 95 % superior
64/4176	I	USA500	221	195	271
N315	II	USA100	122	106	152
11373	III	desconocido	124	115	155
MW2	IVa	USA400	82	68	113
ST59-MRSA-V	V	USA1000	242	208	305
HDE288	VI	USA800	183	161	223

Los resultados de este estudio indican que la prueba Xpert MRSA/SA SSTI producirá un resultado SA positivo el 95 % de las veces con una confianza del 95 % para un hisopo de herida que contenga 150 UFC y un resultado SARM positivo el 95 % de las veces con una confianza del 95 % para un hisopo de herida que contenga 300 UFC.

Se analizaron ciento veintiún (121) cepas de *Staphylococcus aureus* adicionales con la prueba Xpert MRSA/SA SSTI. Los cultivos de noche se incubaron en medios de infusión de cerebro y corazón (Brain Heart Infusion, BHI) y se ajustaron a 0,5 unidades McFarland. Todas las cepas se analizaron por triplicado usando 100 µl de cultivos diluidos adicionalmente entre 100 mil y un millón de veces.

Se seleccionaron cepas de SARM (78) y SA (43) que representaran en líneas generales el rango de diversidad genética hallado en la especie *Staphylococcus aureus* en función de la estructura filogenética. Las selecciones representan líneas primarias con énfasis en complejos clonales específicos dentro de los cuales se observa predominantemente el SARM. Se incluyeron líneas con SARM y SA, así como líneas que contenían exclusivamente SA.

La prueba Xpert MRSA/SA SSTI identificó correctamente 116 de las 121 cepas. Los 5 resultados discordantes se caracterizaron mediante catalasa, coagulasa en tubo y tinción de Gram. La resistencia a la oxacilina mediada por *mecA* se analizó mediante difusión en disco con un disco de cefoxitina de 30 µg y un valor de corte de 21/22 mm de diámetro.

Tres (3) de las 78 cepas de SARM mostraron resultados MRSA negativo/SA positivo con la prueba Xpert MRSA/SA SSTI. La caracterización adicional indica que estas cepas no son resistentes y fueron correctamente notificadas como MRSA negative; SA positive (SARM negativo; SA positivo).

Dos (2) de las 43 cepas de SA se notificaron como MRSA positivo/SA positivo con la prueba Xpert MRSA/SA SSTI. La caracterización adicional indica que estas cepas son resistentes y fueron correctamente notificadas como MRSA positive/SA positive (SARM positivo/SA positivo).

Los 12 aislados USA300 conocidos se notificaron correctamente como MRSA positivo y SA positivo, tal como se esperaba.

23 Evaluación de variantes de cassette vacío

Se analizaron veintidós (22) aislados de *Staphylococcus aureus* identificados como «variantes de cassette vacío» con la prueba Xpert MRSA/SA SSTI. Los cultivos de noche se ajustaron a 0,5 unidades McFarland. Todas las cepas se analizaron a partir de cultivos diluidos adicionalmente 100 veces (alto) y 100 mil veces (bajo).

La prueba Xpert MRSA/SA SSTI identificó correctamente los 22 aislados como MRSA negativo y SA positivo. A ambas concentraciones celulares analizadas, solamente se notificaron los Ct para las dianas *spa* y *SCCmec*. No se indicaron los valores Ct de *mecA*.

24 Estudio de contaminación por arrastre

Se llevó a cabo un estudio para demostrar que los cartuchos GeneXpert autónomos de un solo uso previenen la contaminación por arrastre en muestras negativas procesadas después de muestras positivas muy altas en el mismo módulo GeneXpert. El estudio consistía en una muestra negativa procesada en el mismo módulo GeneXpert inmediatamente después de una muestra SARM positiva muy alta (aproximadamente 10⁷ UFC/prueba). Esto se repitió 20 veces en 2 módulos GeneXpert sumando un total de 42 ciclos. No hubo ningún indicio de contaminación por arrastre. Las 21 muestras positivas se notificaron correctamente como MRSA positivo/SA positivo. Las 21 muestras negativas se notificaron correctamente como MRSA negativo/SA negativo.

25 Reproducibilidad

Un grupo de 10 muestras con concentraciones variables de SA, SARM y *Staphylococcus epidermidis* (negativo) se analizó por duplicado en 10 días diferentes en cada uno de los tres centros (10 muestras x 2 veces/día x 10 días x 3 centros). Se utilizó un lote del kit Xpert MRSA/SA en cada uno de los 3 centros de análisis. Las pruebas Xpert MRSA/SA se realizaron de acuerdo con el procedimiento de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI.

Tabla 11. Resumen de los resultados de reproducibilidad

ID de la muestra	Centro 1	Centro 2	Centro 3	Concordancia total
Neg (MSSE)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SA neg alto	100 % (20/20)	100 % (20/20)	90 % (18/20)	96,7% (58/60)
SA pos bajo	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95 % (19/20)	98,3 % (59/60)
SARM1 neg alto	100 % (20/20)	90 % (18/20)	100 % (20/20)	96,6 % (58/60)
SARM1 pos bajo	100 % (20/20)	100 % (20/20)	90 % (18/20)	96,6 % (58/60)
SARM2 neg alto	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SARM2 pos bajo	100 % (20/20)	95 % (19/20)	95 % (19/20)	96,6 % (58/60)
% de concordancia total por centro	100 % (140/140)	97,9 % (137/140)	95,7 % (134/140)	97,9 % (411/420)

Tabla 12. Resumen de resultados del valor Ct por nivel de muestra y sonda

Nivel	Media	DE	%CV
SPC			
SARM1 neg alto	34,52	0,82	2,36
SARM2 neg alto	34,46	0,85	2,46
Neg (MSSE)	34,44	0,90	2,62
SA neg alto	34,38	0,92	2,66
spa			
Nivel	Media	DE	%CV
SARM1 pos bajo	32,96	0,8	2,44
SARM2 pos bajo	31,05	0,69	2,21
SA pos bajo	33,91	0,8	2,35
mecA			
Nivel	Media	DE	%CV
SARM1 pos bajo	33,25	0,80	2,40
SARM2 pos bajo	31,50	0,68	2,16
SCCmec			
Nivel	Media	DE	%CV
SARM1 pos bajo	34,19	0,90	2,63
SARM2 pos bajo	33,13	0,68	2,05

Se llevó a cabo un segundo estudio de reproducibilidad con un grupo de 4 muestras de (SA: 10X LD, SARM1: 10X LD, SARM2: 10X LD y control negativo: *Staphylococcus epidermidis*). Los grupos se analizaron por duplicado en 10 días diferentes en cada uno de los tres centros (4 muestras x 2 veces/día x 10 días x 3 centros). Se utilizó un lote de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI en cada uno de los 3 centros de análisis. Las pruebas Xpert MRSA/SA SSTI se realizaron de acuerdo con el procedimiento de la prueba Xpert MRSA/SA SSTI. Se obtuvieron resultados correctos en 239 de las 240 pruebas.

Tabla 13. Resumen de los resultados de reproducibilidad

ID de la muestra	Centro 1	Centro 2	Centro 3	Concordancia total
Neg (MSSE)	100 (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SA pos moderado ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SARM1 pos moderado ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SARM2 pos moderado ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95 % (19/20)	98,3 % (59/60)
% de concordancia total por centro	100 % (80/80)	100 % (80/80)	98,8 % (79/80)	99,6 % (239/240)

^a 10X LoD

Tabla 14. Resumen de resultados del valor Ct por nivel de muestra y sonda

Nivel	Media	DE	%CV
SPC			
SARM1 pos moderado	35,72	1,87	5,24
SARM2 pos moderado	36,29	2,66	7,34
SA pos moderado	34,55	1,19	3,44
NEG	34,45	1,06	3,09
spa			
Nivel	Media	DE	%CV
SARM1 pos moderado	29,52	1,30	4,40
SARM2 pos moderado	28,91	1,03	3,57
SA pos moderado	30,59	0,91	2,99
mecA			
Nivel	Media	DE	%CV
SARM1 pos moderado	29,78	1,28	4,29
SARM2 pos moderado	29,32	1,24	4,22
SCCmec			
Nivel	Media	DE	%CV
SARM1 pos moderado	31,49	1,26	3,99
SARM2 pos moderado	31,05	1,12	3,59

26 Bibliografía

1. Bannerman TL. 2003 Chapter 28: Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. Manual of clinical microbiology, 8th ed. ASM Press Washington, DC. Pages 384-404.
2. Mainous AG, Hueston WJ, Everett, et al. 2006. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S aureus* in the United States, 2001-2002. An Family Medicine. 4(2):132-137.
3. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control 2004;32:470-85.
4. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of Endemic Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. JAMA 282(19):1745-51.
5. Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Emerging Infectious Diseases 7(2) 323-6.
6. Salgado CD et al. 2003. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Meta-analysis of Prevalence and Risk Factors. CID 36:131.
7. Donnio, P-Y, Février F, Bifani P, et al. 2007. Molecular and epidemiological evidence for the spread of multiresistant methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains in hospitals. Antimicrobial. Agents Chemother. 51: 4342 – 4350.
8. 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.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (anteriormente denominado National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Documento M29 (consultar la última edición).
10. Ewig S, Schlochtermeyer M, Göke N, et al. 2002. Applying sputum as a diagnostic tool in pneumonia: limited yield, minimal impact on treatment decisions. Chest. 121:1486-1492.
11. RG Dotson and SK Pingleton. 1993. The effect of antibiotic therapy on recovery of intracellular bacteria from bronchoalveolar lavage in suspected ventilator-associated nosocomial pneumonia. Chest. 103, 541-546.
12. Souweine B, Veber B, Bedos JP, et al. 1998. Diagnostic accuracy of protected specimen brush and bronchoalveolar lavage in nosocomial pneumonia: impact of previous antimicrobial treatments. Crit Care Med. Feb;26(2):236-244.
13. Kanegaye JT, Solimanzadeh P, Bradley JS, et al. 2001. Lumbar puncture in pediatric bacterial meningitis: defining the time interval for recovery of cerebrospinal fluid pathogens after parenteral antibiotic pretreatment. Pediatrics. 108(5):1169-1174.
14. Brook I, Gober A. 2005. Effects of amoxicillin and cefdinir on nasopharyngeal bacterial flora. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. Sep;131:785-787.
15. Nadarajah J, et. al., Identification of different clonal complexes and diverse amino acid substitutions in penicillin-binding protein 2 (PBP2) associated with borderline oxacillin resistance in Canadian *Staphylococcus aureus* isolates. J of Med Micro (2006), 55: 1675-1683.
16. Ribeiro J, et. al., Misclassification of Susceptible Strains of *Staphylococcus aureus* as Methicillin-Resistant *S. aureus* by a rapid Automated Susceptibility Testing System. (1999), 37: 1619-1620.
17. REGLAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 16 de diciembre de 2008 sobre el etiquetado de clasificación y el envasado de sustancias y mezclas que modifica y anula la Lista de Declaraciones de Precaución, Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE (que modifica la normativa (CE) N.º 1907/2006).
18. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

27 Oficinas centrales de Cepheid

Sede central corporativa

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Teléfono: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sede central europea

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Teléfono: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

28 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, «Número de servicio técnico» (Service Tag) del ordenador

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/support/contact-us

29 Tabla de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	No volver a utilizar
	Código de lote

Símbolo	Significado
	Consultar las instrucciones de uso
	Precaución
	Fabricante
	País de fabricación
	Contiene una cantidad suficiente para <i>n</i> pruebas
CONTROL	Control
	Fecha de caducidad
CE	Marca CE – Conformidad europea
	Límites de temperatura
	Advertencia
	Riesgos biológicos
CH REP	Representante autorizado en Suiza
	Importador



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden



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



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



30 Historial de revisiones

Apartado	Descripción del cambio
Tabla de símbolos	Se añadieron los símbolos y definiciones de CH REP a la tabla de símbolos. Se añadió la información de CH REP e importador con la dirección en Suiza.
Historial de revisiones	Se actualizó la tabla de Historial de revisiones.