

Xpert Norovirus[®]

REF GXNOV-CE-10

Instrucciones de uso

IVD CE

Declaraciones sobre marcas comerciales, patentes y derechos de propiedad intelectual

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.

© 2014-2023 Cepheid.

Consulte el apartado 24, Historial de revisiones para obtener una descripción detallada de los cambios.

Xpert Norovirus®

Solo para uso diagnóstico *in vitro*.

1 Nombre patentado

Xpert® Norovirus

2 Denominación común o habitual

Xpert Norovirus

3 Indicaciones

La prueba Xpert® Norovirus de Cepheid, realizada en los sistemas GeneXpert®, es una prueba cualitativa de diagnóstico *in vitro* para la identificación y diferenciación del ARN de norovirus del genogrupo I y el genogrupo II a partir de muestras de heces informes recientes obtenidas de individuos con síntomas de gastroenteritis aguda. La prueba utiliza la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en tiempo real (RT-PCR) automatizada para detectar ARN de norovirus. La prueba Xpert Norovirus está indicada para ayudar en el diagnóstico de las infecciones por norovirus cuando se utiliza junto con la evaluación clínica, los hallazgos de laboratorio y la información epidemiológica. El ensayo también ayuda en la detección e identificación de infecciones por norovirus en el contexto de brotes.

4 Resumen y explicación

Los norovirus son virus de ARN monocatenario sin envoltura del género *Norovirus*, familia *Caliciviridae*, que produce gastroenteritis aguda en humanos y otros mamíferos. El norovirus prototipo se identificó por primera vez como la causa de un brote de gastroenteritis que se produjo en 1968 en Norwalk, Ohio (EE. UU.).¹ Se calcula que el norovirus puede ser el virus causal de más de 23 millones de casos de gastroenteritis cada año en Estados Unidos, lo que representa aproximadamente el 60 % de todos los casos de gastroenteritis aguda.² Los norovirus pueden clasificarse en cinco genogrupos diferentes, de los cuales los genogrupos I (GI) y II (GII) son los causantes de la mayoría de las infecciones en humanos.

Los norovirus son una de las principales causas de gastroenteritis en todo el mundo. Afectan a personas de todas las edades, y suelen encontrarse en brotes observados en centros comunitarios, como residencias de ancianos, hospitales, guarderías, prisiones y cruceros.³⁻⁶ Los síntomas de la infección por norovirus suelen ser diarrea, vómitos, cólicos, náuseas y fiebre. Por lo general, la enfermedad remite espontáneamente y los signos y síntomas pueden durar varios días. En las personas jóvenes, ancianas e inmunocomprometidas, la enfermedad puede ser mortal debido a la deshidratación. Los nombres asociados frecuentemente a la gastroenteritis por norovirus son gastroenteritis vírica epidémica, gastroenteritis vírica y gastroenteritis no bacteriana aguda. Los norovirus solamente pueden cultivarse en sistemas de cultivo celular muy especializados.⁷ La microscopía electrónica puede utilizarse para visualizar directamente norovirus en muestras de heces, pero tiene una baja sensibilidad.⁸

Los ensayos de inmunoenzimología comercial han demostrado ser útiles durante los brotes de infecciones por norovirus. No obstante, debido a la baja sensibilidad de los ensayos, los ensayos de inmunoenzimología comercial solamente son útiles cuando la prevalencia de la infección por norovirus es alta. Además, las directrices actuales de los CDC recomiendan confirmar mediante métodos moleculares todos los resultados negativos de los ensayos de inmunoenzimología.⁸ Los ensayos de inmunoenzimología actualmente disponibles tienen una baja sensibilidad (36-80 %) cuando se los compara con los métodos de RT-PCR, y una especificidad de baja a buena (47-100 %) dependiendo del entorno de la prueba.⁹⁻¹⁵ En Europa y Japón, donde existen ensayos moleculares comerciales, los ensayos requieren técnicos de laboratorio de biología molecular altamente cualificados y, por diseño, obligan a realizar las pruebas en modo de lotes, lo que supone demoras en la notificación de los resultados. Las directrices actuales de los CDC recomiendan que los profesionales sanitarios consideren la posibilidad de desarrollar y

adoptar normas en sus centros, con el fin de permitir la confirmación clínica y virológica de los casos en los que se sospeche la presencia de infección sintomática por norovirus y, a la vez, implementar medidas inmediatas de control para reducir la magnitud de los brotes potenciales de infecciones por norovirus.¹⁶ El ensayo Xpert Norovirus ofrece una prueba molecular a demanda, rápida y exacta para facilitar la confirmación y la implementación de medidas inmediatas de control de las infecciones por norovirus, independientemente de la tasa de prevalencia.

5 Principio del procedimiento

La prueba es automatizada y utiliza reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en tiempo real (RT-PCR) para detectar secuencias de genes virales específicos asociadas con norovirus del genogrupo I y el genogrupo II. Las muestras de heces se recopilan de personas con síntomas de gastroenteritis aguda y se transportan al laboratorio en un recipiente limpio. Se inserta un hisopo en la muestra de heces y, a continuación, se coloca en un tubo que contenga reactivo para muestras. Después de una breve mezcla en una agitadora vorticial, la muestra eluida se transfiere a la cámara de la muestra del cartucho de fluidos desechable (el cartucho GeneXpert). El cartucho GeneXpert se carga en la plataforma del sistema GeneXpert, donde la muestra se procesa automáticamente, sin intervención del operador, y se lleva a cabo la RT-PCR en tiempo real para la identificación y diferenciación de norovirus del genogrupo I y el genogrupo II.

Los sistemas GeneXpert automatizan e integran la preparación de muestras, la extracción y amplificación de ácidos nucleicos, y la detección de las secuencias diana en muestras simples o complejas mediante ensayos de PCR con transcriptasa inversa (RT-PCR) y de 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 GeneXpert desechables de un solo uso que contengan los reactivos para la RT-PCR y la PCR, y que también alojen ambos procesos. Como los cartuchos son autónomos, el riesgo de contaminación cruzada entre muestras es mínimo. Para obtener una descripción completa de los sistemas, consulte el *Manual del operador del GeneXpert Dx* o el *Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity* adecuados.

La prueba Xpert Norovirus incluye reactivos para la detección de secuencias de ácidos nucleicos de los genogrupos I y II de norovirus a partir de muestras de heces informes recientes obtenidas de individuos con síntomas de gastroenteritis aguda. En el cartucho se incluye, además, un control de procesamiento de muestras (SPC) y un control de comprobación de la sonda (PCC). El SPC está presente para controlar el procesamiento adecuado de los virus diana y comprobar la presencia de inhibidores en la reacción de PCR. El PCC verifica la rehidratación de los reactivos secos, el llenado del tubo de PCR en el cartucho, la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes.

6 Reactivos e instrumentos

6.1 Materiales suministrados

El kit de la prueba Xpert Norovirus (n.º de catálogo GXNOV-CE-10) contiene reactivos suficientes para procesar 10 muestras de pacientes o de control de calidad. El kit contiene lo siguiente:

Cartuchos de Xpert Norovirus con tubos de reacción integrados	10
<ul style="list-style-type: none"> ● Microesfera 1, microesfera 2 y microesfera 3 (liofilizadas) ● Reactivo de elución ● Reactivo de enjuague ● Reactivo de unión (tiocianato de guanidinio) 	1 de cada por cartucho 1,5 ml por cartucho 1,0 ml por cartucho 2,7 ml por cartucho
Reactivo para muestras (tiocianato de guanidinio)	10 x 2,0 ml por frasco
CD	1 por kit
<ul style="list-style-type: none"> ● Archivo de definición del ensayo (ADF) ● Instrucciones para importar el ADF en el software ● 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.

7 Conservación y manipulación

- Conserve los cartuchos y los reactivos de la prueba Xpert Norovirus a una temperatura de entre 2 y 8 °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 antes de que transcurran 30 minutos después de abrir la tapa.

8 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 GeneXpert patentado versión 4.3 o superior, lector de códigos de barras portátil y manual del operador.
- Impresora: Póngase en contacto con el representante de ventas de Cepheid para organizar la compra de una impresora recomendada.
- Agitadora vorticial
- Pipetas de transferencia desechables
- Hisopo con punta de rayón desechable para un solo uso (SDPS-120) o hisopo de rayón equivalente para la transferencia de la muestra de heces del recipiente de muestras al frasco de reactivo para muestras
- Recipiente de muestras sin conservantes limpio

9 Materiales disponibles pero no suministrados

- Stock de rotavirus ZeptoMetrix NATtrol™ (n.º de catálogo NATROTA-6MC) como control negativo externo.
- Stock de norovirus GI ZeptoMetrix NATtrol™ y stock de norovirus GII NATtrol™ (n.º de catálogo NATNOVI-6MC y NATNOVII-6MC) como controles positivos externos.

10 Declaraciones de atención y precaución

10.1 General

- Solo para uso diagnóstico *in vitro*.
- 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 utilizando 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)¹⁹ y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute)²⁰ de Estados Unidos.
- 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 y eliminación de desechos médicos. Consulte con el personal encargado de los residuos medioambientales del centro sobre cuál es la forma correcta de eliminar los cartuchos usados y los reactivos no utilizados.

10.2 Muestra

- Mantenga las condiciones de conservación adecuadas durante el transporte de las muestras para garantizar la integridad de las mismas (consulte el Apartado 12. Recogida, transporte y conservación de las muestras). No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de transporte distintas a las recomendadas.
- La recogida, conservación y transporte adecuados de las muestras son esenciales para obtener resultados correctos.

10.3 Ensayo/reactivo

- No sustituya los reactivos de la prueba Xpert Norovirus por otros reactivos.
- No abra la tapa del cartucho de la prueba Xpert Norovirus hasta que esté preparado para añadir una muestra.
- No utilice cartuchos que se hayan caído después de extraerlos del kit o que se hayan agitado después de haber abierto la tapa del cartucho. Si el cartucho se agita o se deja caer después de abrir la tapa, es posible que se obtengan resultados falsos o indeterminados.
- No coloque la etiqueta de ID de la muestra en la tapa del cartucho ni sobre la etiqueta del código de barras.
- No utilice cartuchos que parezcan mojados o que tengan el precinto de la Tapa roto.
- El reactivo para muestras es un líquido transparente incoloro. No utilice el reactivo para muestras si presenta turbidez o cambio de color.
- No utilice un cartucho que tenga un tubo de reacción dañado.
- Cada cartucho de un solo uso de la prueba Xpert Norovirus se utiliza para procesar una sola prueba. No vuelva a utilizar los cartuchos usados.
- Para evitar la contaminación de las muestras o los reactivos, deben seguirse las buenas prácticas de laboratorio y cambiarse los guantes entre las manipulaciones de muestras de pacientes. Limpie periódicamente la superficie y las zonas de trabajo con lejía al 10 % y, a continuación, vuelva a limpiar la superficie con un paño humedecido con alcohol etílico o isopropílico al 70 % antes y después de procesar muestras con el Xpert Norovirus Assay.
- Las muestras pueden contener altas concentraciones de microorganismos. Asegúrese de que los recipientes de las muestras no entren en contacto entre sí. Para evitar contaminar otras muestras, cámbiese los guantes si estos entran en contacto directo con la muestra y después de procesar cada muestra.

11 Peligros químicos^{19,20}

- Pictograma de peligro del SGA de la ONU 
- Palabra de advertencia: ATENCIÓN
- **Declaraciones de peligro del GHS de Naciones Unidas:**
 - Nocivo en caso de ingestión.
 - Provoca irritación cutánea leve.
 - Provoca irritación ocular.
- Declaraciones de precaución del SGA de la ONU:
 - **Prevención**
 - Lavarse concienzudamente tras la manipulación.
 - **Respuesta**
 - Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar.
 - 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.
 - **Conservación/eliminación**
 - Eliminar el contenido/el recipiente en conformidad con los reglamentos locales, regionales, nacionales e internacionales.

12 Recogida, transporte y conservación de las muestras

1. Recoja la muestra de heces informe reciente en un recipiente limpio sin conservantes. Siga las directrices de su centro para la recogida de muestras para las pruebas de norovirus.
2. Etiquete el recipiente de la muestra de heces con el nombre del paciente y la ID de la muestra, y envíelo al laboratorio.
3. Almacene la muestra a entre 2 °C y 8 °C. La muestra es estable durante un máximo de dos días cuando se conserva a entre 2 y 8 °C.

13 Procedimiento

13.1 Preparación del cartucho

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

Para añadir la muestra al cartucho del:

1. Extraiga el cartucho y el frasco de reactivo para muestras del kit.
2. Moje un hisopo en la muestra de heces informe reciente. Consulte Figura 1 para conocer la cantidad correcta de muestra que ha de utilizarse para la prueba Xpert Norovirus.

Envuelva el vástago del hisopo y la boca del frasco con gasa estéril para reducir al mínimo el riesgo de contaminación.

Nota No recubra toda la punta de fibra del hisopo con heces. Consulte la Figura 1. Un exceso de heces puede provocar errores o resultados no válidos.



Figura 1. Recogida de una muestra en un hisopo

3. Tras retirar la tapa del frasco de reactivo para muestras, introduzca el hisopo con la muestra de heces en el frasco que contiene el reactivo para muestras.
4. Sujete el hisopo por el vástago cerca del borde del frasco. Levante el hisopo unos milímetros del fondo del frasco y doble el vástago sobre el borde del frasco para romperlo y acortar el hisopo lo suficiente para permitir que quepa en el frasco y que la tapa pueda cerrarse firmemente.
5. Cierre la tapa del frasco de reactivo para muestras y agite el frasco en un mezclador vórtex a alta velocidad durante diez segundos.
6. Abra la tapa del cartucho. Con una pipeta de transferencia limpia (no suministrada), transfiera todo el contenido del frasco de reactivo para muestras a la cámara de muestras del cartucho de la prueba Xpert Norovirus. Consulte la Figura 2.
7. Cierre la tapa del cartucho e inicie la prueba en los 30 minutos siguientes.



Figura 2. Cartucho de Xpert Norovirus (vista superior)

13.2 Inicio de la prueba

Nota

Antes de iniciar la prueba, asegúrese de que se haya importado al software el archivo de definición del ensayo de la prueba Xpert Norovirus. Este apartado describe los pasos básicos para realizar el ensayo. 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.

Nota

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

1. Encienda el instrumento GeneXpert:
 - a) Si está utilizando el instrumento GeneXpert Dx, encienda primero el instrumento y, a continuación, encienda el ordenador. El software GeneXpert se ejecutará automáticamente o puede requerir que se haga doble clic en el icono del software GeneXpert Dx en el escritorio de Windows®.
 - o
 - b) Si está utilizando el instrumento GeneXpert Infinity, ponga en marcha el instrumento. El software GeneXpert se ejecutará automáticamente o puede requerir que se haga doble clic en el icono del software Xpertise en el escritorio de Windows®.
2. Inicie sesión en el Sistema GeneXpert software 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)** (GeneXpert Infinity). Se abre la ventana Crear prueba (Create Test)
4. Escanee (o escriba) la Id. paciente (Patient ID) (opcional). Si escribe la Id. paciente (Patient ID), asegúrese de escribirla correctamente. La Id. paciente (Patient ID) se muestra en el lado izquierdo de la ventana Ver resultados (View Results) y está asociada a los resultados de la prueba.
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 muestra en el lado izquierdo de la ventana Ver resultados (View Results) y está asociada a los resultados de la prueba.
6. Escanee el código de barras del cartucho de la prueba Xpert Norovirus. 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 no se escanea el código de barras del cartucho de la prueba Xpert Norovirus, repita la prueba con un cartucho nuevo siguiendo el procedimiento del apartado Procedimiento de repetición de la prueba.

7. Haga clic en **Iniciar prueba (Start Test)** (GeneXpert Dx) o en **Enviar (Submit)** (GeneXpert Infinity). Escriba su contraseña en el cuadro de diálogo que aparece.
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 recipientes de residuos de muestras adecuados de acuerdo con las prácticas habituales de su centro.

14 Visualización e impresión de los resultados

Este apartado describe los pasos básicos para ver e imprimir los resultados. Para obtener instrucciones detalladas sobre cómo ver e imprimir los resultados, consulte el *GeneXpert Dx System Operator Manual (Manual del operador del sistema GeneXpert Dx)* o el *GeneXpert Infinity System Operator Manual (Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity)*.

1. Haga clic en el icono **Ver resultados (View Results)** 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) y un control de comprobación de la sonda (PCC).

- **Control de procesamiento de muestras (SPC):** Asegura que la muestra se procesó correctamente. El SPC contiene Armored RNA® que se incluye en cada cartucho para verificar el procesamiento adecuado de la muestra. El SPC verifica que se haya producido la liberación del ARN del virus si el organismo está presente y verifica que el procesamiento de la muestra haya sido correcto. Además, este control detecta la inhibición asociada a la muestra de las reacciones RT-PCR y PCR. 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 GeneXpert Dx System o el sistema GeneXpert Infinity mide la señal de fluorescencia de las sondas (SPC, QC1, y QC2, una por cada una de las dos microesferas de reactivo) 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.

15.2 Controles externos

- Controles externos: el stock de rotavirus ZeptoMetrix NATrol (n.º de catálogo NATROTA-6MC) como control negativo externo y el stock de norovirus GI ZeptoMetrix NATrol y el stock de norovirus GII NATrol (n.º de catálogo NATNOVI-6MC y NATNOVII-6MC) como controles positivos externos pueden usarse de acuerdo con las organizaciones de acreditación locales, estatales y federales, según corresponda.

16 Interpretación de los resultados

Los resultados son interpretados por el Sistema GeneXperta 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 se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados e interpretación de Xpert Norovirus

Resultado	Interpretación
-----------	----------------

Resultado	Interpretación
<p>NORO GI DETECTADO (NORO GI DETECTED), NORO GII NO DETECTADO (NORO GII NOT DETECTED)</p> <p>Consulte la Figura 3.</p>	<p>Se ha detectado secuencia de ARN de norovirus de genogrupo I (GI).</p> <ul style="list-style-type: none"> ● La secuencia de ARN diana de norovirus de genogrupo I (GI) tiene un Ct que está dentro del rango válido y un punto extremo por encima del valor umbral configurado. ● SPC – N/A (no corresponde); el SPC se ignora, ya que la amplificación diana de norovirus podría competir con este control. ● PCC – SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
<p>NORO GI NO DETECTADO (NORO GI NOT DETECTED), NORO GII DETECTADO (NORO GII DETECTED)</p> <p>Consulte la Figura 4.</p>	<p>Se ha detectado secuencia de ARN de norovirus de genogrupo II (GII).</p> <ul style="list-style-type: none"> ● La secuencia de ARN diana de norovirus de genogrupo II (GII) tiene un Ct que está dentro del rango válido y un punto final por encima del valor umbral configurado. ● SPC – N/A (no corresponde); el SPC se ignora, ya que la amplificación diana de norovirus podría competir con este control. ● PCC – SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
<p>NORO GI DETECTADO (NORO GI DETECTED), NORO GII DETECTADO (NORO GII DETECTED)</p> <p>Consulte la Figura 5.</p>	<p>Se ha detectado secuencia de ARN de norovirus de genogrupo I (GI) y secuencia de ARN de norovirus de genogrupo II (GII).</p> <ul style="list-style-type: none"> ● La secuencia de ARN diana de norovirus de genogrupo I (GI) tiene un Ct que está dentro del rango válido y un punto extremo por encima del valor umbral configurado. ● La secuencia de ARN diana de norovirus de genogrupo II (GII) tiene un Ct que está dentro del rango válido y un punto final por encima del valor umbral configurado. ● SPC – N/A (no corresponde); el SPC se ignora, ya que la amplificación diana de norovirus podría competir con este control. ● PCC – SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
<p>NORO GI NO DETECTADO (NORO GI NOT DETECTED), NORO GII NO DETECTADO (NORO GII NOT DETECTED)</p> <p>Consulte la Figura 6.</p>	<p>No se han detectado secuencias de ARN diana de norovirus.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● No se han detectado secuencias de ARN diana de norovirus. ● SPC – SUPERADO; el SPC tiene un Ct dentro del rango válido y un punto extremo por encima del valor umbral configurado. ● PCC – SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
<p>NO VÁLIDO (INVALID)</p> <p>Consulte la Figura 7.</p>	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de secuencias de ARN diana de norovirus. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del Apartado 17.2.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Norovirus GI – NO VÁLIDO ● Norovirus GII – NO VÁLIDO ● SPC – NO SUPERADO; el Ct del SPC Ct no está dentro del rango válido y el punto final está por debajo del valor umbral configurado. ● PCC – SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.

Resultado	Interpretación
ERROR	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de secuencias de ARN diana de norovirus. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del Apartado 17.2.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Norovirus GI – ERROR • Norovirus GII – ERROR • PCC – NO SUPERADO*; uno o más de los resultados de la comprobación de la sonda no superaron la comprobación. <p>* Si la comprobación de la sonda se superó, el error se debe a que el límite máximo de presión excedió el rango aceptable.</p>
SIN RESULTADO (NO RESULT)	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de secuencias de ARN diana de norovirus. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del Apartado 17.2. SIN RESULTADO indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, el operador detuvo una prueba en curso o se produjo un corte del suministro eléctrico.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Norovirus GI – SIN RESULTADO • Norovirus GII – SIN RESULTADO • PCC – N/A (no aplicable).

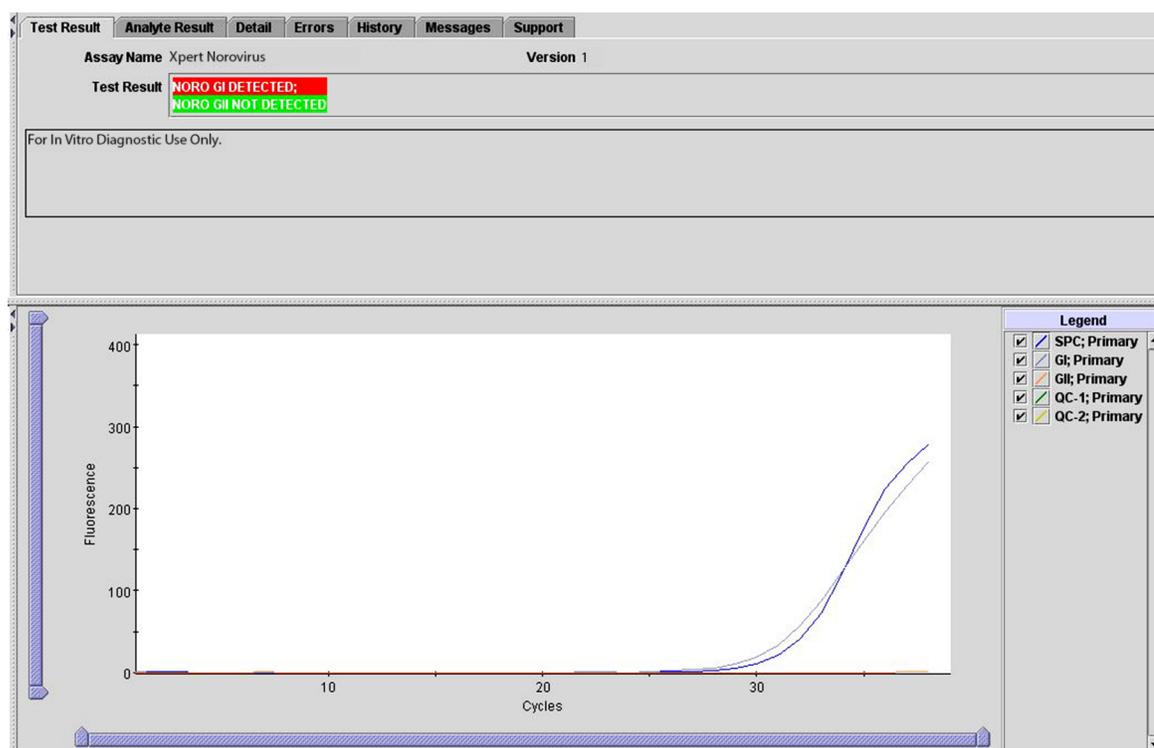


Figura 3. Norovirus GI detectado; Norovirus GII no detectado

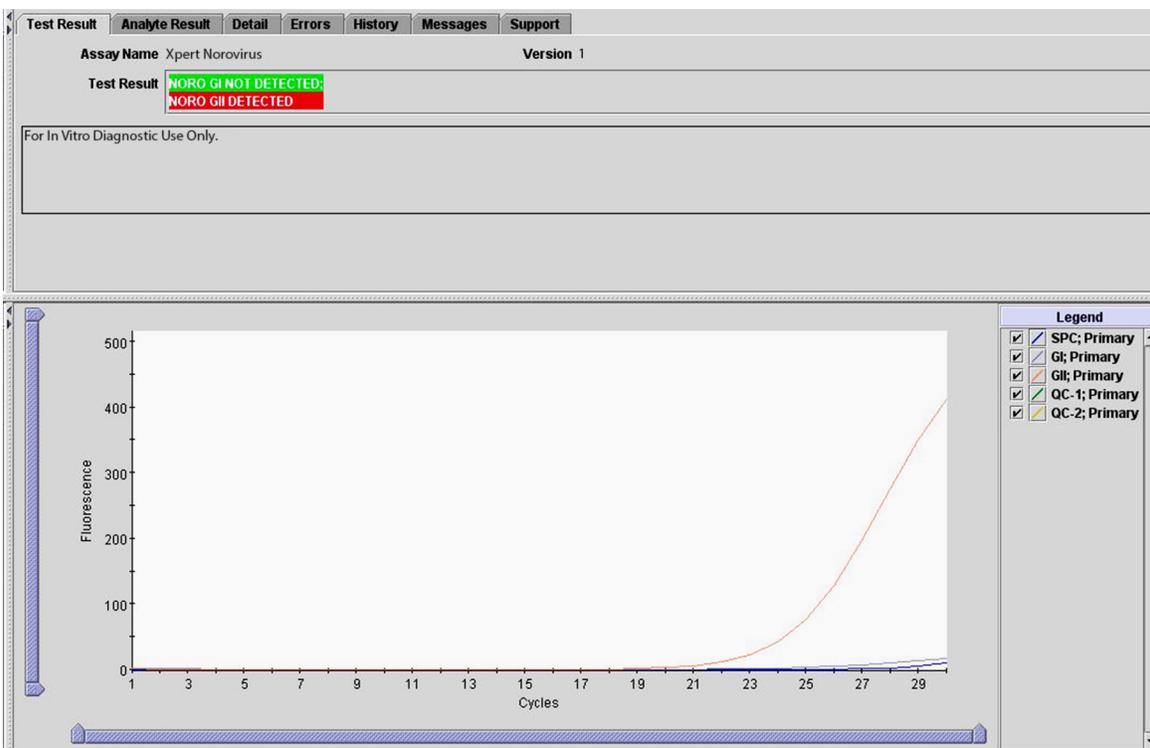


Figura 4. Norovirus GI no detectado; Norovirus GII detectado

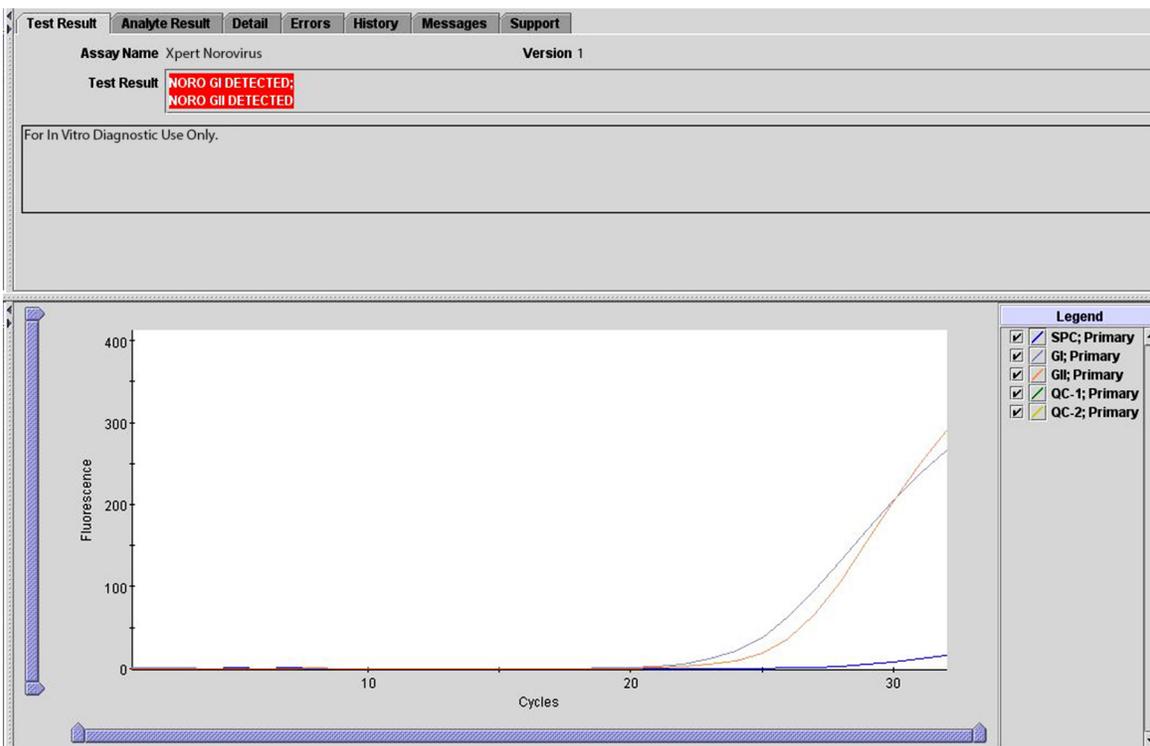


Figura 5. Norovirus GI detectado; Norovirus GII detectado

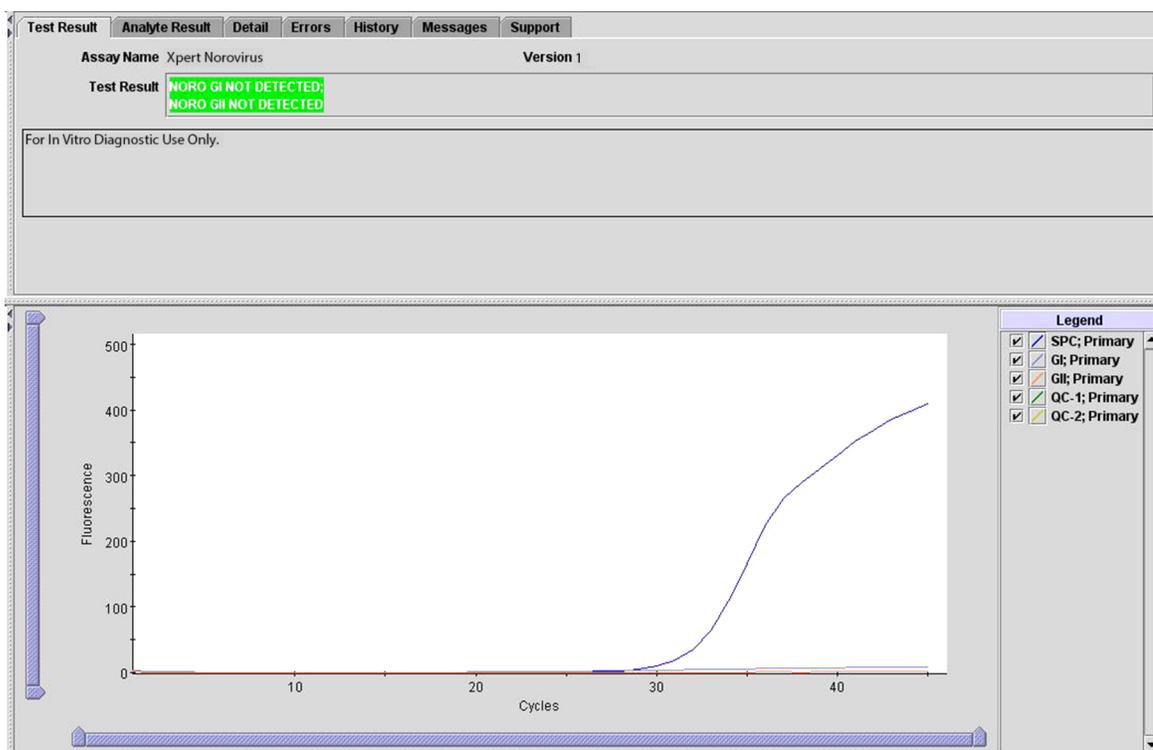


Figura 6. Norovirus GI no detectado; Norovirus GII no detectado

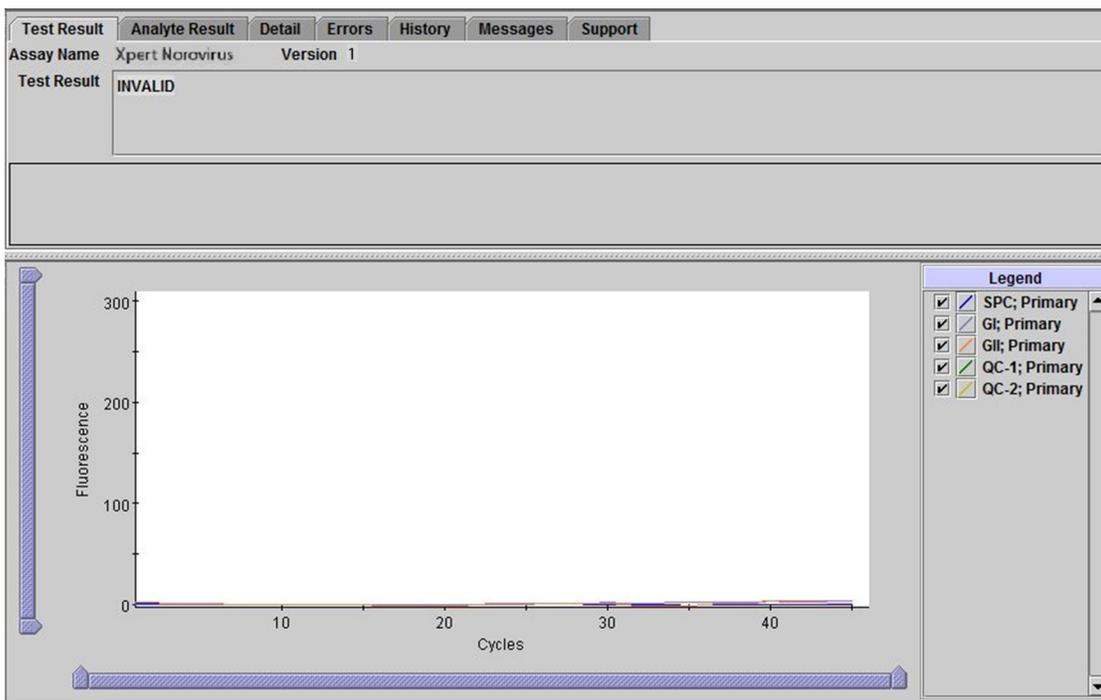


Figura 7. NO VÁLIDO (INVALID)

17 Repetición de ensayos

17.1 Motivos para repetir el ensayo

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 17.2. Procedimiento de repetición de la prueba.

- Un resultado **NO VÁLIDO (INVALID)** indica que el control SPC falló. La muestra no se procesó correctamente, la PCR se inhibió o la muestra no se recogió correctamente.
- Un resultado de **ERROR** puede deberse, entre otras cosas, a un fallo del control de comprobación de la sonda o a que se excedieron los límites máximos de presión.
- **SIN RESULTADO (NO RESULT)** indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, el operador detuvo un ensayo que estaba en curso o se produjo una interrupción del suministro eléctrico.

17.2 Procedimiento de repetición de la prueba

Para repetir la prueba con muestras que obtengan un resultado de **NO VÁLIDO**, **ERROR** o **SIN RESULTADO**, utilice un cartucho nuevo (no vuelva a utilizar el cartucho) y un frasco de reactivo para muestras nuevo.

1. Extraiga el cartucho y el frasco de reactivo para muestras del kit de la prueba Xpert Norovirus.
2. Tras retirar la tapa del frasco de reactivo para muestras, moje brevemente un hisopo en la muestra de heces informe. Consulte Figura 8 para conocer la cantidad correcta de muestra que ha de utilizarse para la prueba Xpert Norovirus.

Envuelva el vástago del hisopo y la boca del frasco con gasa estéril para reducir al mínimo el riesgo de contaminación.

Nota No recubra toda la punta de fibra del hisopo con heces. Consulte la Figura 8. Un exceso de heces puede provocar errores o resultados no válidos.



Figura 8. Recogida de una muestra en un hisopo

3. Tras retirar la tapa del frasco de reactivo para muestras, introduzca el hisopo con la muestra de heces en el frasco que contiene el reactivo para muestras.
4. Sujete el hisopo por el vástago cerca del borde del frasco. Levante el hisopo unos milímetros del fondo del frasco y presione el vástago contra el borde del frasco para romperlo. Asegúrese de que el hisopo sea lo suficiente corto para que la tapa pueda cerrarse bien.
5. Cierre la tapa del frasco de reactivo para muestras y agite el frasco en un mezclador vórtex a alta velocidad durante diez segundos.
6. Abra la tapa del cartucho. Con una pipeta de transferencia limpia (no suministrada), transfiera todo el contenido del frasco de reactivo para muestras a la cámara de muestras del cartucho de la prueba Xpert Norovirus. Consulte la Figura 2.
7. Cierre la tapa del cartucho e inicie la prueba en los 30 minutos siguientes.

18 Limitaciones

- solo para uso diagnóstico in vitro .
- La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert Norovirus se validó únicamente mediante 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 Norovirus deben interpretarse junto con otros datos de laboratorio y clínicos de los que disponga el médico.
- La prueba puede arrojar resultados erróneos si las muestras no se recogen, manipulan y almacenan correctamente, si se confunden las muestras o si el número de microorganismos presentes en la muestra es inferior al límite de detección de la prueba. El estricto cumplimiento de las instrucciones de este prospecto es necesario para evitar resultados erróneos.

- Con muestras de heces informes recientes, es posible que el ensayo sufra interferencias en presencia de sulfato de bario (≥ 1 % p/p) y cloruro de benzalconio a todas las concentraciones analizadas (1 % p/v, 0,2 %, p/v y 0,04 % p/v).
- Las mutaciones o los polimorfismos en las regiones de unión de los cebadores o las sondas pueden afectar a la detección de variantes nuevas o desconocidas de norovirus y hacer que se obtenga un resultado negativo falso.
- En caso de una infección mixta por norovirus GI y GII en la que el título de un genogrupo sea superior al del otro genogrupo, el genogrupo con el título superior de las dos infecciones se notificará como detectado; el genogrupo de título inferior puede notificarse como no detectado.

19 Valores esperados

En el estudio clínico de la prueba Xpert Norovirus, se incluyeron un total de 914 muestras de heces informes recientes, recién obtenidas de forma prospectiva a partir de siete centros del estudio. El número y el porcentaje de casos positivos para Norovirus GI y Norovirus GII, calculados por grupo de edad y presentados en Tabla 2.

Tabla 2. Prevalencia observada de GI y GII por grupo de edad

Edad (Años)	N.º de positivos para GI	% de prevalencia observada para GI	N.º de positivos para GII	% de prevalencia observada para GII
0-1	0/8	0	0/8	0
>1-5	1/6	16,7	0/6	0
>5-12	0/10	0	1/10	10,0
>12-21	0/29	0	3/29	10,3
>21-65	9/520	1,7	35/520	6,7
>65	6/341	1,8	35/341	10,3
Total	16/914	1,8	74/914	8,1

20 Eficacia diagnóstica

20.1 Eficacia clínica

La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert Norovirus se evaluó en siete instituciones de los EE. UU. y la UE. Las muestras del estudio constaron de muestras de heces informes recientes de sujetos con síntomas de gastroenteritis aguda. La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert Norovirus se comparó con el método de prueba de referencia compuesto realizado en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC; Atlanta, GA, EE. UU.).

Se analizaron un total de 1403 muestras de Norovirus GI mediante la prueba Xpert Norovirus y la prueba de referencia compuesta. De las 1403 muestras, 914 eran muestras recién obtenidas de forma prospectiva y 489 eran muestras congeladas archivadas. Se analizaron un total de 1401 muestras de Norovirus GII mediante la prueba Xpert Norovirus y la prueba de referencia compuesta. De las 1401 muestras, 914 eran muestras recién obtenidas de forma prospectiva y 487 eran muestras congeladas archivadas.

En las muestras recién obtenidas de forma prospectiva, la prueba Xpert Norovirus demostró un PPA del 100 % y un NPA del 99,6 % para la detección de Norovirus GI, en relación con la prueba de referencia compuesta (Tabla 3). La prueba Xpert Norovirus demostró un PPA del 98,5 % y un NPA del 98,8 % para la detección de Norovirus GII (Tabla 4).

En las muestras archivadas congeladas, la prueba Xpert Norovirus demostró un PPA del 98,1 % y un NPA del 94,6 % para la detección de Norovirus GI, en relación con la prueba de referencia compuesta (Tabla 5). La prueba Xpert Norovirus demostró un PPA del 100 % y un NPA del 96,8 % para la detección de Norovirus GII (Tabla 6).

Tabla 3. Rendimiento de Xpert Norovirus para GI frente a la prueba de referencia compuesta – Muestras recién obtenidas

		Prueba de referencia compuesta		
		POS	NEG	Total
Xpert Norovirus	POS	12	4	16
	NEG	0	898	898
	Total	12	902	914
		PPA% (IC del 95 %)	100 % (IC del 95 %: 73,5–100)	
		NPA% (IC del 95 %)	99,6 % (IC del 95 %: 98,9–99,9)	

Tabla 4. Rendimiento de Xpert Norovirus para GII frente a la prueba de referencia compuesta – Muestras recién obtenidas

		Prueba de referencia compuesta		
		POS	NEG	Total
Xpert Norovirus	POS	64	10	74
	NEG	1	839	840
	Total	65	849	914
		PPA% (IC del 95 %)	98,5 % (IC del 95 %: 91,7–100)	
		NPA% (IC del 95 %)	98,8 % (IC del 95 %: 97,8–99,4)	

Tabla 5. Rendimiento de Xpert Norovirus para GI frente a la prueba de referencia compuesta – Muestras congeladas

		Prueba de referencia compuesta		
		POS	NEG	Total
Xpert Norovirus	POS	101	21	122
	NEG	2	365	367
	Total	103	386	489
		PPA% (IC del 95 %)	98,1 % (IC del 95 %: 93,2–99,8)	
		NPA% (IC del 95 %)	94,6 % (IC del 95 %: 91,8–96,6)	

Tabla 6. Rendimiento de Xpert Norovirus para GII frente a la prueba de referencia compuesta – Muestras congeladas

		Prueba de referencia compuesta		
		POS	NEG	Total
Xpert Norovirus	POS	109	12	121
	NEG	0	366	366
	Total	109	378	487
		PPA% (IC del 95 %)	100 % (IC del 95 %: 96,7–100)	
		NPA% (IC del 95 %)	96,8 % (IC del 95 %: 94,5–98,3)	

21 Eficacia analítica

21.1 Sensibilidad analítica (límite de detección)

El estudio del límite de detección (LD) se realizó para evaluar la sensibilidad analítica de la prueba Xpert Norovirus con muestra de heces clínicas positivas con contenido de norovirus GI.3 o norovirus GII.4 diluido en una matriz de heces negativas combinadas. El LD se define como la concentración más baja (copias/ml) por muestra que puede distinguirse de forma reproducible de muestras negativas con una confianza del 95 %. Réplicas de al menos 23 se evaluaron a siete concentraciones para comprobar la presencia de norovirus GI.3 y norovirus GII.4, tras lo que se calcularon los LD mediante análisis probit. Los LD calculados se confirmaron analizando al menos 20 muestras réplicas con virus diluido a las concentraciones de los LD calculados.

Los cálculos de los puntos de los LD y el LD confirmado de cada genogrupo analizado se resumen en Tabla 7.

Tabla 7. Límite de detección de la prueba Xpert Norovirus

Genogrupo/cepa de norovirus	Límite de detección (IC del 95 %)
GI.3	$5,7 \times 10^5$ (copias/ml)($4,64 \times 10^5 - 6,67 \times 10^5$)
GII.4	$3,0 \times 10^5$ (copias/ml)($1,25 \times 10^5 - 1,78 \times 10^5$)

21.2 Especificidad analítica (reactividad cruzada)

La especificidad analítica de la prueba Xpert Norovirus se evaluó analizando un grupo de 68 microorganismos, compuesto por 54 cepas de bacterias, 1 de hongos, 9 de virus y 4 de parásitos, como representación de los patógenos habituales de la gastroenteritis o de los que pueden encontrarse en las heces. Se analizaron un mínimo de tres réplicas de todas las cepas de bacterias y de hongos a concentraciones $\geq 10^6$ UFC/ml. Se analizaron un mínimo de tres réplicas de todos los virus a concentraciones $\geq 10^5$ TCID50/ml con la excepción de dos virus obtenidos a partir de muestras clínicas de concentraciones desconocidas. Se analizaron un mínimo de tres réplicas de todos los parásitos a concentraciones $\geq 10^6$ copias/ml. Todos los organismos analizados se notificaron correctamente como **NORO GI NO DETECTADO (NORO GI NOT DETECTED)**; **NORO GII NO DETECTADO (NORO GII NOT DETECTED)** por la prueba Xpert Norovirus. La especificidad analítica fue del 100 %. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Especificidad analítica de la prueba Xpert Norovirus

Organismo	ID de la cepa	Concentración
<i>Acinetobacter baumannii</i>	CCUG 3477	$>3,0 \times 10^8$ UFC/ml
<i>Anaerococcus prevotii</i> ^a	ATCC 9321	$6,7 \times 10^8$ UFC/ml
<i>Bacteriocides fragilis</i> ^a	ATCC 25285	$1,4 \times 10^9$ UFC/ml
<i>Campylobacter coli</i>	ATCC 43478	$1,8 \times 10^8$ UFC/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33560	$1,3 \times 10^8$ UFC/ml
<i>Campylobacter lari</i>	ATCC 35221	$3,4 \times 10^7$ UFC/ml
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 33128	$1,5 \times 10^9$ UFC/ml
<i>Clostridium difficile</i> ^a	ATCC 9689	$2,2 \times 10^8$ UFC/ml
<i>Clostridium sordelli</i> ^a	DSMZ 2141	$2,0 \times 10^8$ UFC/ml
<i>Eggerthella lenta</i>	ATCC 43055	$>3,0 \times 10^7$ UFC/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 70021	$1,0 \times 10^9$ UFC/ml
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	ATCC 25788	$1,0 \times 10^9$ UFC/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	$5,4 \times 10^8$ UFC/ml

Organismo	ID de la cepa	Concentración
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 9756	8,2 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Enterococcus gallinarum</i>	ATCC 49573	4,5 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichiacoli O157:H7</i>	ATCC 43888	8,4 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli O26:H11</i>	CDC 033014	7,4 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli O45:H2</i>	CDC 003039	3,3 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli O103:H11</i>	CDC 063008	5,4 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli O11</i>	CDC 201114	6,9 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli O121</i>	CDC 023211	1,4 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Escherichia coli O145</i>	CDC 993311	7,1 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia hermannii</i>	ATCC 33650	1,5 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Fusobacterium necrophorum</i> ^a	ATCC 31647	9,6 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Helicobacter pylori</i>	CCUG 1784	>1.5 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 70063	1.2 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	ATCC 25258	4.0 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	CCUG 3358	1.2 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 4698	1,8 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Morganella morganii</i>	ATCC 49948	1,3 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ^a	CCUG 7835	1,5 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	ATCC 51903	3,1 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Prevotella oralis</i> ^a	ATCC 33269	1.2 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 43071	1,1 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 49132	1,8 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Providencia alcalifaciens</i>	CCUG 6325	1,8 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Providencia stuartii</i>	ATCC 49809	1,3 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	6,3 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525	>3,0 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Pseudomonas putida</i>	ATCC 49128	5,5 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Salmonella agona</i>	ATCC 51957	1.2 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Salmonella bongori</i>	ATCC 43975	1,7 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 13314	9,2 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 43862	3,8 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12022	8,1 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 25931	>3,0 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	8,8 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 14990	>3,0 x 10 ⁷ UFC/ml

Organismo	ID de la cepa	Concentración
<i>Streptococcus agalactiae</i> (GBS)	ATCC 12386	9,6 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	ATCC 43078	7,2 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615	5,5 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Vibrio cholerae</i> ^b	CCUG 9118	5,2 x 10 ⁹ copias/ ml
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 17802	3,8 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 9610	7,1 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Adenovirus</i>	Tipo 31	3,6 x 10 ⁵ TCID50/ml
<i>Adenovirus</i>	Tipo 40	2,8 x 10 ⁷ TCID50/ml
<i>Adenovirus</i>	Tipo 41	4,6 x 10 ⁷ TCID50/ml
<i>Astrovirus</i> ^c	--	No aplicable ^d
<i>Virus de Coxsackie</i>	tipo B5	1,4 x 10 ⁵ TCID50/ml
<i>Ecovirus</i>	11	3,3 x 10 ⁹ TCID50/ml
<i>Parechovirus</i>	Tipo 6	1,9 x 10 ⁷ TCID50/ml
<i>Rotavirus</i>	Tipo Wa	1,0 x 10 ⁶ TCID50/ml
<i>Sapovirus</i> ^c	--	No aplicable ^e
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	>3,0 x 10 ⁷ UFC/ml
<i>Blastocystis hominis</i> ^b	BT1	1,0 x 10 ⁹ copias/ml
<i>Cryptosporidium parvum</i> ^b	Iowa	6,1 x 10 ⁹ copias/ml
<i>Giardia lamblia</i> ^b	Portland-1	3,05 x 10 ⁹ copias/ml
<i>Entamoeba histolytica</i> ^b	ATCC 30459D	4,9 x 10 ⁶ copias/ml

a Estrictamente bacterias anaerobias.

b Analizado como ADN genómico.

c Muestra clínica.

d La concentración no es conocida para las muestras clínicas de astrovirus que se obtuvieron de KUL; los valores de Ct de acuerdo con el ensayo de KUL estuvieron dentro del intervalo de 12-27.

e La concentración no es conocida para las muestras clínicas de sapovirus que se obtuvieron de KUL; los valores de Ct de acuerdo con el ensayo de KUL estuvieron dentro del intervalo de 19-23.

21.3 Reactividad analítica (inclusividad)

Se evaluó la reactividad analítica de la prueba Xpert Norovirus respecto a treinta y un genotipos que representaban los dos genogrupos de norovirus (GI y GII). Las treinta y una cepas de norovirus evaluadas en este estudio se probaron respecto a casi la concentración del LD del ensayo (Tabla 9). Se analizaron tres réplicas para cada cepa.

Tabla 9. Resultados de reactividad analítica de la prueba Xpert Norovirus

Cepa de norovirus	Concentración estimada (copias/ml) ^a	Resultado	
		GI	GI

Cepa de norovirus	Concentración estimada (copias/ml) ^a	Resultado	
		GI	GII
GI.1	9,0 x 10 ⁶	POS	NEG
GI.2	3,7 x 10 ⁸	POS	NEG
GI.3	1,4 x 10 ⁶	POS	NEG
GI.4	1,0 x 10 ⁵	POS	NEG
GI.5 ^b	2,5 x 10 ⁵	POS	NEG
GI.6 ^b	2,5 x 10 ⁵	POS	NEG
GI.7 ^b	2,5 x 10 ⁵	POS	NEG
GI.8	3,7 x 10 ⁵	POS	NEG
GI.14	3,0 x 10 ⁶	POS	NEG
GII.1	3,6 x 10 ⁶	NEG	POS
GII.2	1,1 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.3 ^b	1,3 x 10 ³	NEG	POS
GII.4 (2006a)	1,2 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.4 (2006b)	2,4 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.4 (2008)	4,3 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.4 (2009) Nueva Orleans	1,7 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.4 (2010)	9,6 x 10 ⁴	NEG	POS
GII.4 (2012) Sídney	1,2 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.5 ^b	1,3 x 10 ³	NEG	POS
GII.6 ^b	1,3 x 10 ³	NEG	POS
GII.7	8,0 x 10 ⁴	NEG	POS
GII.8 ^b	1,3 x 10 ³	NEG	POS
GII.9 ^b	1,3 x 10 ³	NEG	POS
GII.10 ^b	1,3 x 10 ³	NEG	POS
GII.11	2,6 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.12	5,7 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.13	6,9 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.14	1,5 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.15	1,7 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.16 ^b	1,3 x 10 ³	NEG	POS
GII.17 ^b	1,3 x 10 ³	NEG	POS

^a Se proporcionó un título o concentración estimados con base en un valor de Ct (debido a la dificultad de realizar cultivos de norovirus, no se puede proporcionar una concentración exacta). El valor de Ct de cada muestra clínica en el estudio de

inclusividad se extrapoló al título obtenido del estudio del LD de muestras de GI y GII bien caracterizadas, utilizando una curva estándar en el ciclo de división celular (CDC).

^b Se utilizaron transcritos de ARN desnudo para estas cepas, no había muestras clínicas disponibles en el momento de la prueba.

21.4 Estudio de sustancias interferentes

Se evaluaron sustancias potencialmente interferentes que pueden estar presentes en heces en relación directa con la eficacia diagnóstica de la prueba Xpert Norovirus. Las sustancias potencialmente interferentes incluían la hemoglobina, la mucina, el colesterol, los triglicéridos y la sangre completa, además de las sustancias endógenas y exógenas adicionales mencionadas en Tabla 10.

Se analizaron muestras negativas en réplicas de 8 con cada sustancia en una matriz de heces negativa para determinar el efecto en la eficacia diagnóstica del control de procesamiento de muestras (SPC). Se analizaron muestras positivas en réplicas de 8 por sustancia con un aislado clínico de norovirus GI y uno de norovirus GII cerca del LD.

Todos los resultados se compararon con controles positivos y negativos preparados en una matriz de heces negativa. Todas las muestras de control positivo y negativo válidas se notificaron correctamente utilizando la prueba Xpert Norovirus.

La inhibición de la prueba Xpert Norovirus se observó en presencia de cloruro de benzalconio (1 % p/v, 0,2 % p/v y 0,04 % p/v). Se notificaron resultados de la prueba negativos falsos para la diana de norovirus GII en cloruro de benzalconio (1 % p/v). En presencia de sulfato de bario (5 % p/p), se observó un efecto inhibitorio significativo a nivel estadístico en el Ct del norovirus GII en muestras positivas en relación con el control (valor de $p < 0,05$). No se observó ningún efecto significativo a nivel estadístico en el Ct del norovirus GII en relación con el control, en presencia de sulfato de bario (1 % p/p).

No se notificaron otras sustancias potencialmente interferentes que se considerasen inhibitorias ni se notificaron otros negativos falsos para estas sustancias.

Tabla 10. Sustancias potencialmente interferentes en Xpert Norovirus

Sustancias endógenas		
Sustancia	Descripción/principio activo	Concentración analizada
Colesterol	Grasa fecal y colesterol	5 % p/v
Hemoglobina	Hemoglobina humana	12,5 % p/v
Mucina	Proteína de mucina purificada	5 % p/v
Ácido esteárico/ ácido palmítico (1:1)	Ácidos grasos/ácido esteárico, ácido palmítico	5 % p/p
Triglicérido	Mezcla de grasa fecal y triglicérido	5 % p/v
Recogida de sangre completa	Sangre humana completa	10 % v/v
Sustancias exógenas		
Sustancia	Descripción/principio activo	Concentración analizada
Paracetamol	Paracetamol	5 % p/v
Amoxicilina	Antibiótico/amoxicilina	5 % p/v
Ampicilina	Sal de ampicilina sódica	152 µmol/l
Aspartamo	Aspartamo	5 % p/v
Sulfato de bario	Medio de contraste/ sulfato de bario	5 % p/p, 1 % p/p
Cloruro de benzalconio Alcohol comercial	Toallitas antisépticas/cloruro de benzalconio en etanol	1 %, 0,2 %, 0,04 % p/v
Subsalicilato de bismuto	Subsalicilato de bismuto (III) (un ingrediente activo en peptobismol)	1 % p/v

Sustancias endógenas		
CaCO ₃	Carbonato cálcico	5 % p/v
Hidrocortisona	Hidrocortisona	50 % p/v
Ibuprofeno	Ibuprofeno	5 % p/v
Imodium	Hidrocloruro de loperamida	5 % v/v
Kaopectate	Atapulgita	5 mg/ml
Metronidazol	Metronidazol	5 % p/v
Mycostatin	Nistatina	50 % p/p
Naprosyn	Naproxeno sódico	2,2 µmol/ml
Novaluzid	Mg(OH) ₂ , Al(OH) ₃ y MgCO ₃	5 % p/v
Polimixina B sulfato Bacitracina-zinc	Polisporina/polimixina B sulfato y bacitracina-zinc	50 % p/v
Pursenid	Glucósidos de senna	5 % p/v
Laxante de aceite de vaselina Rexall	Aceite mineral	50 % v/v

21.5 Estudio de contaminación por arrastre

Se llevó a cabo un estudio para demostrar que los cartuchos GeneXpert autónomos de un solo uso evitan la contaminación por arrastre en muestras negativas procesadas seguidas de muestras muy positivas en el mismo módulo GeneXpert. El estudio consistió en una muestra negativa procesada en el mismo módulo GeneXpert inmediatamente después de una muestra altamente positiva en norovirus GII. Esto se repitió 21 veces en dos módulos GeneXpert, para un total de 42 ciclos que dieron lugar a 20 muestras positivas y 22 negativas. Las 19 muestras positivas se notificaron correctamente como **NORO GI NO DETECTADO (NORO GI NOT DETECTED)**; **NORO GII DETECTADO (NORO GII DETECTED)** y una muestra positiva se notificó como un **ERROR**. Las 22 muestras negativas se notificaron correctamente como **NORO GI NO DETECTADO (NORO GI NOT DETECTED)**; **NORO GII NO DETECTADO (NORO GII NOT DETECTED)**.

22 Reproducibilidad

Un grupo de 7 muestras con diversas concentraciones de norovirus GI y norovirus GII fue analizado dos veces al día en cinco días diferentes por dos operadores diferentes en tres centros (7 muestras x 2 veces/día x 5 días x 2 operadores x 3 centros). Se utilizó un lote de cartuchos de la prueba Xpert Norovirus en cada uno de los 3 centros de análisis. La prueba Xpert Norovirus se realizó de acuerdo con el procedimiento de la prueba Xpert Norovirus. Los resultados se resumen en la Tabla 11.

Tabla 11. Resumen de los resultados de reproducibilidad

ID de la muestra	Centro 1	Centro 2	Centro 3	Global
Neg	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
GI - Neg alto	30,0 % (6/20)	15,0 % (3/20)	30,0 % (6/20)	25,0 % (15/60)
GI - Pos bajo	100 % (20/20)	85,0 % (17/20)	95,0 % (19/20)	93,3 % (56/60)
GI - Pos mod	100 % (19/19)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (59/59) ^a
GII - Neg alto	25,0 % (5/20)	30,0 % (6/20)	35,0 % (7/20)	30,0 % (18/60)
GII - Pos bajo	100 % (20/20)	95,0 % (19/20)	90,0 % (18/20)	95,0 % (57/60)

ID de la muestra	Centro 1	Centro 2	Centro 3	Global
GII - Pos mod	95,0 % (19/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	98,3 % (59/60)

^a Una muestra 2x indeterminadas

La reproducibilidad de la prueba Xpert Norovirus también se evaluó en términos de la señal de fluorescencia expresada en valores de Ct para cada diana detectada. La media, la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV) entre centros, entre días y entre operadores correspondientes a cada miembro del grupo de muestras se presentan en la Tabla 12.

Tabla 12. Resumen de los datos de reproducibilidad

Muestra	Canal del ensayo (analito)	N ^a	Ct medio	Entre centros		Entre días		Entre operadores		Intraensayo		Total	
				DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
Neg	SPC	60	31,9	0,17	0,5	0,06	0,2	0,06	0,2	0,26	0,8	0,32	1,0
GI - Neg alto	GI	60	39,4	0	0	0,46	1,2	0	0	1,80	4,6	1,86	4,7
GI - Pos bajo	GI	59	37,9	0,29	0,8	0	0	0,36	1,0	1,03	2,7	1,13	3,0
GI - Pos mod ^b	GI	57	34,7	0,09	0,2	0,07	0,2	0	0	0,41	1,2	1,01	1,2
GII - Neg alto	GII	54	38,9	0	0	0	0	0,77	2,0	1,77	4,5	1,93	5,0
GII - Pos bajo	GII	60	37,3	0	0	0	0	0,58	1,6	1,33	3,6	1,45	3,9
GII - Pos mod ^b	GII	59	34,3	0,22	0,6	0	0	0	0	0,45	1,3	0,50	1,5

^a Resultados con valores de Ct distintos de cero en 60 muestras

^b n=3 valores atípicos de muestras (2 GI pos. mod. y 1 GII pos. mod.) donde más de 5 desviaciones estándar respecto a la media se consideraron valores atípicos y se retiraron del análisis.

23 Precisión del sistema del instrumento

Se realizó un estudio de precisión interno para comparar la eficacia diagnóstica de los sistemas del instrumento GeneXpert Dx y GeneXpert Infinity. Se analizó un panel de 7 muestras con concentraciones variables de Norovirus GI y Norovirus GII en 12 días diferentes por parte de dos operadores. Cada operador llevó a cabo cuatro análisis de cada muestra del grupo por día en cada uno de los dos sistemas de instrumentos (7 muestras x 4 veces/día x 12 días x 2 usuarios x 2 sistemas de instrumentos). Para el estudio se utilizaron tres lotes de cartuchos de la prueba Xpert Norovirus. La prueba Xpert Norovirus se realizó de acuerdo con el procedimiento Xpert Norovirus. Los resultados se resumen en la Tabla 13.

Tabla 13. Resumen de los resultados de precisión de los sistemas de instrumentos (Dx frente a Infinity)

Muestra	GeneXpert Dx			Infinity			% de concordancia total por muestra
	Op 1	Op 2	Inst	Op 1	Op 2	Inst	
Neg	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
GI - Neg alto	14,6 % (7/48)	10,4 % (5/48)	12,5 % (12/96)	14,6 % (7/48)	25,0 % (12/48)	19,8 % (19/96)	16,2 % (31/192)
GI - Pos bajo	100 % (48/48)	97,9 % (47/48)	99,0 % (95/96)	97,9 % (47/48)	97,9 % (47/48)	97,9 % (94/96)	98,4 % (189/192)
GI - Pos mod	100 % ^a (47/47)	100 % (48/48)	100 % (95/95)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (191/191)
GII - Neg alto	25,0 % (12/48)	29,2 % (14/48)	27,1 % (26/96)	29,2 % (14/48)	31,3 % (15/48)	30,2 % (29/96)	28,7 % (55/192)
GII - Pos bajo	89,6 % (43/48)	89,6 % (43/48)	89,6 % (86/96)	83,3 % (40/48)	95,7 % (44/46)	87,5 % (84/96)	88,5 % (170/192)

Muestra	GeneXpert Dx			Infinity			% de concordancia total por muestra
	Op 1	Op 2	Inst	Op 1	Op 2	Inst	
GII - Pos mod	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (48/48)	100 % ^b (47/47)	100 % (95/95)	100 % (191/191)

^a Una muestra pos. mod. GI no analizada.

^b Una muestra pos. mod. GII indeterminada y no analizada nuevamente.

La precisión de la prueba Xpert Norovirus también se evaluó en términos de la señal de fluorescencia expresada en valores de Ct para cada diana detectada. La media, la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV) entre instrumentos, entre lotes, entre días, entre operadores e intraensayo correspondientes a cada miembro del grupo de muestras se presentan en la Tabla 14.

Tabla 14. Resumen de los datos de precisión

Muestra	Canal del ensayo (analito)	N ^a	Ct medio	Entre instrumentos		Entre lotes		Entre días		Entre operadores		Intraensayo		Total	
				DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
Neg	SPC	192	31,8	0	0	0,44	1,4	0	0	0,08	0,2	0,39	1,2	0,59	1,9
GI - Neg alto	GI	188	38,6	0,19	0,5	0,25	0,7	0,18	0,5	0	0	1,40	3,6	1,45	3,8
GI - Pos bajo	GI	192	37,1	0,39	1,1	0,26	0,7	0,19	0,5	0	0	0,95	2,6	1,08	2,9
GI - Pos mod	GI	191	34,0	0	0	0,36	1,1	0,04	0,1	0,08	0,2	0,38	1,1	0,53	1,6
GII - Neg alto	GII	178	38,7	0,16	0,4	0	0	0,29	0,7	0	0	2,03	5,3	2,06	5,3
GII - Pos bajo	GII	187	37,6	0,10	0,2	0	0	0	0	0,45	1,2	1,65	4,4	1,71	4,6
GII - Pos mod	GII	191	34,3	0	0	0,09	0,2	0	0	0,17	0,5	0,42	1,2	0,46	1,3

^a Resultados con valores de Ct distintos de cero en 192 muestras.

24 Bibliografía

1. Kapikian AZ, et al. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol* 1972;10(5):1075-1081.
2. Mead PS, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis.* 1999;5(5):607-625.
3. Kaplan JE, et al. An outbreak of acute nonbacterial gastroenteritis in a nursing home: demonstration of person-to-person transmission by temporal clustering of cases. *Am J Epidemiol* 1982; 116(6):940-948.
4. Johnston CP, et al. Outbreak management and implications of a nosocomial Norovirus outbreak. *Clin Infect Dis.* 2007; 45(5):534-540.
5. Corwin AL, et al. Shipboard impact of a probable Norwalk virus outbreak from coastal Japan. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61(6):898-903.
6. Leshem E, et al. Effects and Clinical Significance of GII.4 Sydney Norovirus, United States, 2012-2013. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(8):1231-1238.
7. Straub TM, et al. In vitro cell culture infectivity assay for human noroviruses. *Emerg Inf Dis.* 2007; 13(3): 396-403.
8. CDC. Updated Norovirus Outbreak Management and Disease Prevention Guidelines. *MMWR Recomm Rep.* 2011; 60(No. RR-3):1-15.
9. Okitsu-Negishi S, et al. Detection of norovirus antigens from recombinant virus-like particles and stool samples by a commercial norovirus enzyme-linked immunosorbent assay kit. *J Clin Microbiol* 2006;44(10):3784-3786.
10. Burton-MacLeod JA, et al. Evaluation and comparison of two commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits for detection of antigenically diverse human noroviruses in stool samples. *J Clin Microbiol* 2004;42(6):2587-2595.

11. Dimitriadis A, et al. Evaluation of a commercial enzyme immunoassay for detection of norovirus in outbreak specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005;24(9):615-618.
12. Richards AF, et al. Evaluation of a commercial ELISA for detecting Norwalk-like virus antigen in faeces. *J Clin Virol* 2003;26(1):109-115.
13. Morillo SG, et al. Norovirus 3rd generation kit: an improvement for rapid diagnosis of sporadic gastroenteritis cases and valuable for outbreak detection. *J Virol Methods* 2011;173(1):13-16.
14. Wilhelmi de Cal I, et al. Evaluation of two commercial enzyme immunoassays for the detection of norovirus in faecal samples from hospitalised children with sporadic acute gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect* 2007;13(3):341-343.
15. Costantini V, et al. Diagnostic accuracy and analytical sensitivity of IDEIA Norovirus assay for routine screening of human norovirus. *J Clin Microbiol* 2010;48(8):2770-2778.
16. MacCannell T, et al. Guideline for the prevention and control of Norovirus Gastroenteritis outbreaks in healthcare settings. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011; 32(10):939-969.
17. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories (consultar la última edición, disponible en <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>).
18. 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, disponible en <http://shopping.netsuite.com/clsi>). CLSI, Wayne, PA.
19. 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).
20. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

25 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

26 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

Los usuarios deben informar de los incidentes graves asociados con la prueba Xpert TV a Cepheid y a la autoridad competente del estado miembro en el que se haya producido el incidente grave.

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.

27 Tabla de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	<i>Producto sanitario para diagnóstico in vitro</i>
	No reutilizar
	Código de lote
	Consultar las instrucciones de uso
	Precaución
	Fabricante
	País de fabricación
	Contiene cantidad suficiente para n pruebas
	Control
	Fecha de caducidad
	Marca CE: conformidad europea
	Límites de temperatura
	Riesgos biológicos
	Advertencia
	Representante autorizado en Suiza
	Importador



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Suecia



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



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



28 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.