

Xpert[®] Ebola

REF GXEBOLA-CE-10
GXEBOLA-CE-50

Trademark, Patents and Copyright Statements

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.

© 2015-2022 Cepheid.

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.

© 2015-2022 Cepheid.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Xpert[®] Ebola

Solo para uso diagnóstico *in vitro*.

1 Nombre patentado

Xpert[®] Ebola

2 Denominación común o habitual

Xpert Ebola Assay (Ensayo Xpert Ebola)

3 Indicaciones

El ensayo Xpert Ebola es una prueba de reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) en tiempo real indicado para la detección cualitativa de ARN del virus del Ébola Zaire (detectado en el brote que se produjo en África Occidental en 2014) en sangre completa venosa con EDTA, sangre periférica obtenida mediante punción dactilar o con hisopos bucales de individuos con signos y síntomas de enfermedad por el virus del Ébola (EVE) junto con factores de riesgo epidemiológicos.

Los análisis con el Xpert Ebola no deberán realizarse a menos que el individuo cumpla los criterios clínicos y epidemiológicos requeridos para el análisis de presuntos casos.

Los resultados son para la identificación provisional del virus del Ébola Zaire. La identificación definitiva de la infección por el virus del Ébola Zaire requiere otros análisis y procedimientos de confirmación realizados tras consultar a autoridades de salud pública o a otras autoridades a las que sea necesario informar. El diagnóstico de infección por el virus del Ébola Zaire debe basarse en los antecedentes, los signos, los síntomas, la probabilidad de exposición y otros indicios de laboratorio, además de en la identificación del virus del Ébola Zaire.

Los resultados negativos no descartan la infección por el virus del Ébola Zaire o por otros virus del Ébola, y no deben usarse como único criterio para tomar decisiones relacionadas con el diagnóstico y el tratamiento de los pacientes.

Se desconoce la concentración del virus del Ébola presente en sangre e hisopos bucales de individuos con infección sistémica inicial. Debido a lo difícil que resulta obtener muestras clínicas positivas para virus del Ébola, el ensayo Xpert Ebola se evaluó con cantidades limitadas de muestras artificiales a las que se había añadido virus del Ébola Zaire vivo o ARN del mismo. El ensayo no se ha evaluado con sangre e hisopos bucales de individuos con infección por el virus del Ébola Zaire.

Notificación de autoridades de salud pública: Las agencias de salud pública locales y nacionales deberán ser notificadas de cualquier paciente que se sospeche que tenga la EVE. En el caso de resultados de detección positivos, será necesario realizar análisis confirmatorios en el laboratorio de salud pública; dichos análisis también pueden ser necesarios en el caso de resultados de detección negativos. Tanto si los resultados de la prueba Xpert Ebola son positivos como si son negativos, los laboratorios deberán consultar con funcionarios de salud pública locales o nacionales sobre la necesidad de realizar más análisis y sobre el transporte adecuado de las muestras.

4 Resumen y explicación

La enfermedad por el virus del Ébola (EVE) se ha presentado esporádicamente por toda África Occidental durante décadas de brotes, pero la epidemia actual es la mayor registrada hasta ahora. Hasta marzo de 2015, más de 24.000 individuos han resultado infectados, y más de 10.000 de ellos han muerto a causa de ello. Actualmente, la EVE se ha propagado más allá de África, y a EE. UU. y a Europa. La tasa de mortalidad entre los trabajadores sanitarios de zonas endémicas es también considerable, al superar el 50 %.¹ Desde su descubrimiento inicial en 1976, se han descrito cinco especies del virus del Ébola: virus del Ébola Zaire, Sudán, Costa de Marfil (bosques de Tai), Bundibugyo y Reston. Entre estas especies del virus del Ébola, la Zaire es la que ha afectado a mayores regiones geográficas, y es la causa del reciente brote.

El ensayo Xpert Ebola utiliza tecnología de RT-PCR para lograr una alta sensibilidad en la detección cualitativa de ácidos nucleicos totales de virus del Ébola Zaire en muestras.

Para garantizar una detección fidedigna, el ensayo Xpert Ebola está diseñado para detectar gen de la glucoproteína (GP) y/o gen de la nucleoproteína (NP). Se cree que cada diana está presente en el 100 % de los virus del Ébola Zaire conocidos.

5 Principio del procedimiento

El ensayo Xpert Ebola es una prueba automatizada rápida para la detección cualitativa del virus del Ébola Zaire. El ensayo se realiza en los sistemas del instrumento GeneXpert de Cepheid.

Los sistemas del instrumento GeneXpert automatizan e integran la preparación de muestras, la amplificación de ácidos nucleicos y la detección de la secuencia diana en muestras simples o complejas mediante PCR con transcripción inversa en tiempo real. Los sistemas constan de un instrumento, un ordenador personal, y software precargado para realizar las pruebas y ver los resultados. Los sistemas requieren el uso de cartuchos GeneXpert desechables de un solo uso que contengan los reactivos para la PCR con transcripción inversa en tiempo real y que alojen los procesos de transcripción inversa en tiempo real. Al tratarse de cartuchos autónomos, la contaminación cruzada entre muestras se reduce al mínimo. Si desea obtener una descripción completa de los sistemas, consulte el *Manual del operador del GeneXpert Dx* o el *Manual del operador del GeneXpert Infinity* adecuados.

El ensayo Xpert Ebola incluye reactivos para la detección de ácidos nucleicos totales del virus del Ébola Zaire en muestras, así como un control de adecuación de la muestra y un control interno para asegurar la adición adecuada de muestra y el procesamiento adecuado de la diana, y para determinar la presencia de inhibidores en las reacciones de transcripción inversa y PCR. El control de comprobación de sondas (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 fluorocromo.

6 Reactivos e instrumentos

6.1 Materiales suministrados



Los kits del ensayo Xpert Ebola contienen reactivos suficientes para procesar 10 o 50 muestras de pacientes o de control de calidad. Los kits contienen lo siguiente:

Cartuchos del ensayo GeneXpert Ebola con tubos de reacción integrados

	10 por kit	50 por kit
• Microesfera 1, microesfera 2 y microesfera 3 (liofilizadas)	1 de cada por cartucho	1 de cada por cartucho
• Reactivo de enjuague	0,5 ml por cartucho	0,5 ml por cartucho
• Reactivo de elución	2,0 ml por cartucho	2,0 ml por cartucho
• Reactivo de unión	2,0 ml por cartucho	2,0 ml por cartucho

Reactivo para muestras de Ébola (reactivo para muestras)

	10 botellas por kit	50 botellas por kit
• Reactivo de lisis (tiocianato de guanidinio)	10 x 2,5 ml por frasco	50 x 2,5 ml por frasco

Pipetas de transferencia de 1 ml, desechables

	10 por kit	50 por kit
CD	1 por kit	1 por kit

Nota Las fichas de datos de seguridad (SDS, Safety Data Sheets) están disponibles en el apartado SUPPORT (Asistencia) de www.cephheidinternational.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 del ensayo Xpert Ebola a una temperatura de entre 2 y 28 °C.
- No utilice ningún reactivo que presente turbidez o un cambio de color.
- No utilice cartuchos que presenten fugas.



8 Materiales requeridos pero no suministrados

- Sistema GeneXpert Dx o sistemas GeneXpert Infinity (el número de catálogo varía según la configuración): Instrumento GeneXpert, ordenador con software GeneXpert patentado versión 4.4a o superior, Xpertise 6.2 o superior, lector de códigos de barras y manual del operador.
- Impresora: Si se requiere una impresora, póngase en contacto con el servicio técnico de Cepheid para organizar la compra de una impresora recomendada.
- Hisopos desechables (n.º de catálogo SWAB/E-50)
- Mezclador vórtex
- Lejía

9 Advertencias y precauciones



- Solo para uso diagnóstico *in vitro*.
- Trate todas las muestras biológicas, incluidos los cartuchos usados, como posibles agentes transmisores de infecciones. Con frecuencia es imposible saber qué muestras podrían ser infecciosas, por lo que todas las muestras biológicas deben tratarse tomando las precauciones habituales. Las directrices para la manipulación de las muestras están disponibles en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention) y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute) de Estados Unidos.
- Las agencias de salud pública locales, estatales y nacionales deberán ser notificadas de cualquier paciente que se sospeche que tenga la enfermedad por el virus del Ébola (EVE). En el caso de resultados de detección positivos, será necesario realizar análisis confirmatorios en el laboratorio de salud pública; dichos análisis también pueden ser necesarios en el caso de resultados de detección negativos. TANTO si los resultados del ensayo Xpert Ebola son positivos para EVE COMO si son negativos (esto es, si no se detecta el virus de la enfermedad), los laboratorios deberán consultar con funcionarios de salud pública locales o nacionales sobre la necesidad de realizar más análisis y sobre el transporte adecuado de las muestras.
- Las muestras biológicas, los dispositivos de transferencia y los cartuchos usados deben ser considerados capaces de transmitir agentes infecciosos que requieren las precauciones habituales. Siga los procedimientos de eliminación de residuos medioambientales 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) en cuanto a la manipulación y eliminación de desechos médicos.
- Todos los resultados deberán ser interpretados por un profesional cualificado, considerando los signos y síntomas clínicos y los antecedentes del paciente.
- Este ensayo solamente debe utilizarlo personal cualificado.
- Al procesar más de una muestra a la vez, abra solamente un cartucho; añada la muestra tratada con reactivo para muestras y cierre el cartucho antes de procesar la muestra siguiente. Cámbiese los guantes entre una muestra y la siguiente.
- Utilice guantes protectores desechables, bata de laboratorio y protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos. Lávese las manos a fondo tras manipular las muestras y los reactivos de la prueba.
- Siga los procedimientos de seguridad de su centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- No sustituya los reactivos del ensayo Xpert Ebola por otros reactivos.
- No abra la tapa del cartucho del ensayo Xpert Ebola excepto cuando vaya a añadir la muestra tratada con reactivo para muestras.
- No utilice cartuchos que estén mojados o que tengan el precinto roto.
- No utilice cartuchos que se hayan caído después de extraerlos del envase.
- No agite el cartucho. Si el cartucho se agita o se deja caer después de haber abierto su tapa, es posible que se obtengan resultados no válidos.

- No utilice cartuchos con tubos de reacción dañados.
-  • Cada cartucho de un solo uso del ensayo Xpert Ebola se utiliza para procesar una sola prueba. No vuelva a utilizar los cartuchos usados.
- La pipeta desechable de un solo uso se utiliza para transferir una sola muestra. No vuelva a utilizar pipetas desechables usadas.
- El hisopo desechable de un solo uso se utiliza para recoger y transferir una sola muestra. No vuelva a utilizar hisopos desechables usados.
-  • Conserve el kit del ensayo Xpert Ebola a una temperatura de entre 2 y 28 °C.

Nota Antes de empezar, extraiga del kit el frasco que contenga el reactivo para muestras y deje que se establezca a la temperatura ambiente. Consulte la figura 1. Si el frasco no se ha conservado en posición vertical, asegúrese de que el tampón se haya asentado en el fondo agitando firmemente el frasco.

Nota Utilice guantes desechables. Etiquete el frasco de reactivo para muestras con la identificación de la muestra.

10 Peligros químicos^{2,3}

- ONU
- Palabra de advertencia: ATENCIÓN
- **Declaraciones de peligro del SGA de la ONU**
 - Nocivo en caso de ingestión
 - Puede ser nocivo en contacto con la piel
 - 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.

11 Recogida, transporte y conservación de las muestras

11.1 Recogida de sangre completa



Recoja muestras de sangre completa mediante venopunción en tubos con EDTA siguiendo las instrucciones de uso del fabricante. El ensayo Xpert Ebola requiere un mínimo de 100 µl de sangre completa. También se puede utilizar el hisopo (SWAB/E-50) para recoger muestras de sangre obtenida mediante punción dactilar. Deje que absorban sangre al menos dos tercios del cabezal del hisopo. Transfiera inmediatamente el hisopo al frasco con el reactivo para muestras (consulte la figura 1 en el apartado de preparación de las muestras).

11.2 Hisopo bucal

Utilice el hisopo (SWAB/E-50) para recoger muestras de hisopos bucales siguiendo las pautas de la OMS para la recogida de hisopos orales de pacientes de Ébola.* Evite tocar la punta del hisopo con los guantes y de ponerla en contacto con ninguna superficie. En el caso de pacientes vivos, haga que el paciente abra la boca y ponga inmediatamente la punta del hisopo en contacto con la cara interior de la mejilla. Frote firmemente todo el cabezal del hisopo con movimientos circulares y una presión firme y constante durante al menos 20 segundos. En el caso de pacientes difuntos, ponga su mano sobre la barbilla y presione firmemente para abrirles la boca un poco. Introduzca el hisopo en la boca del paciente y frote firmemente todo el cabezal del hisopo contra la cara interior de la mejilla con movimientos circulares y una presión firme y constante durante al menos 20 segundos. Repita la operación en la otra mejilla, si puede accederse a ella.

*Número de referencia de la OMS: WHO/EVD/Guidance/Lab/14.2

Importante Proceda inmediatamente a realizar el paso de preparación de la muestra para evitar que el virus del Ébola se inactive.

Nota Utilice guantes desechables. Etiquete el frasco de reactivo para muestras con la identificación de la muestra.

Preparación de las muestras *Sangre completa venosa recogida en tubos con EDTA*: Abra la tapa del frasco de reactivo para muestras. Transfiera 0,1 ml de sangre colocando el hisopo (SWAB/E-50) en el tubo con EDTA y déjelo que absorba sangre durante un mínimo de 5 segundos, transfiera la muestra introduciendo el hisopo preparado en el frasco de reactivo para muestras (consulte la figura 1). Sujete el hisopo por el vástago y alinee la pequeña muesca contra el borde del frasco. Parta el hisopo doblándolo hacia un lado. Otro método consiste en utilizar una pipeta automática con punta con barrera de filtro para transferir 0,1 ml de sangre desde el tubo con EDTA.

***Hisopo bucal*:** Abra la tapa del frasco de reactivo para muestras. Introduzca el hisopo preparado en el reactivo para muestras (consulte la figura 1). Sujete el hisopo por el vástago y alinee la pequeña muesca contra el borde del frasco. Parta el hisopo doblándolo hacia un lado.

***Sangre obtenida mediante punción dactilar*:** Utilice el hisopo (SWAB/E-50) para recoger sangre obtenida mediante punción dactilar y deje que el hisopo absorba 0,1 ml de sangre. Asegúrese de que al menos dos tercios del cabezal del hisopo queden cubiertos con sangre; a continuación, transfiera la muestra introduciendo el hisopo preparado en el frasco de reactivo para muestras (consulte la figura 1). Sujete el hisopo por el vástago y alinee la pequeña muesca contra el borde del frasco. Parta el hisopo doblándolo hacia un lado.

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

Cierre la tapa del frasco de reactivo para muestras y homogeneice la muestra agitando el frasco en un mezclador vórtex durante 10 segundos. Deje incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos.

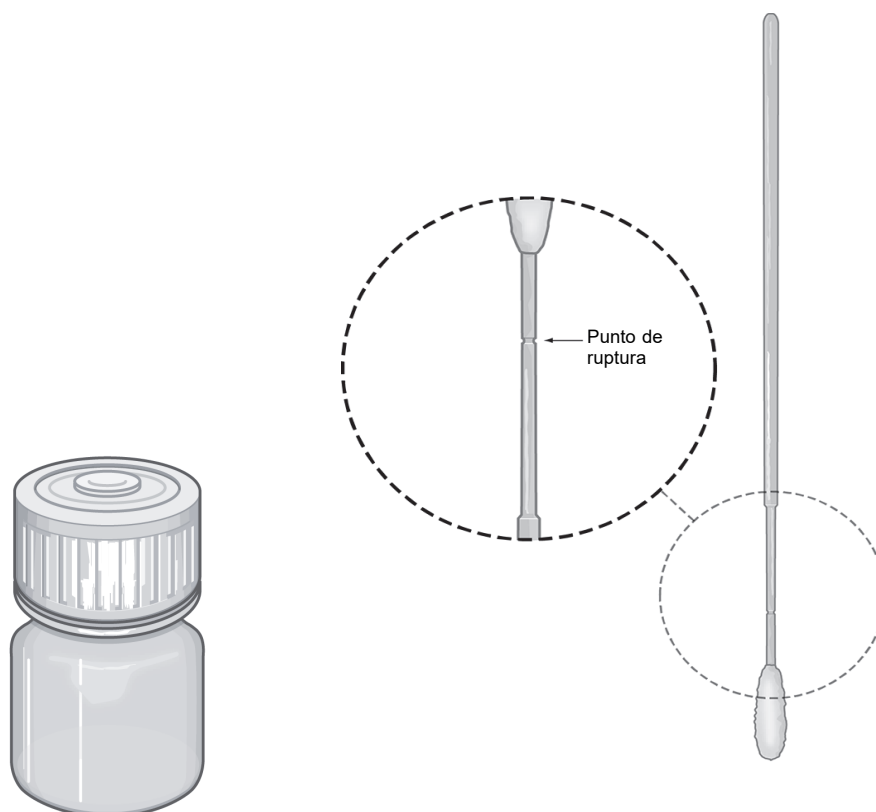


Figura 1. Frasco de reactivo para muestras del ensayo Xpert Ebola e hisopo para recogida de muestras de Ébola

11.3 Transporte y conservación de muestras



Transporte las muestras tratadas con reactivo para muestras a los laboratorios de análisis para su ulterior procesamiento en bolsas resellables individuales de acuerdo con las pautas de la OMS para el transporte de muestras de Ébola, «How to safely collect blood samples from persons suspected to be infected with highly infectious blood-borne pathogens (e.g. Ebola)» (Cómo recoger de manera segura muestras de sangre de personas que se sospeche que están infectadas por patógenos de transmisión hemática altamente infecciosos (p. ej., el Ébola)). Las muestras de sangre tratadas con reactivo para muestras pueden conservarse hasta 72 horas a entre 2 y 8 °C, hasta 48 horas a un máximo de 28 °C y hasta 24 horas a un máximo de 35 °C. Las muestras de hisopos bucales tratadas con reactivo para muestras pueden conservarse hasta 72 horas a entre 2 y 8 °C y hasta 24 horas a un máximo de 28 °C.

12 Procedimiento

12.1 Preparación del cartucho

Nota Hay una fina película de plástico que cubre el anillo interior de los orificios del cartucho de la prueba. Esta película no debe retirarse.

Importante **Inicie la prueba antes de que transcurran 30 minutos desde que se añadió la muestra al cartucho.**

1. Utilice guantes protectores desechables.
2. Inspeccione el cartucho para comprobar que no esté dañado. Si está dañado, no lo utilice.
3. Etiquete el cartucho con la identificación de la muestra.
4. Abra la tapa del cartucho.
5. Utilice la pipeta de transferencia de 1 ml (consulte la figura 2) o la pipeta automática con punta con barrera de filtro para transferir 1 ml de la muestra tratada con reactivo para muestras en la cámara de muestras del cartucho (consulte la figura 3). **NO** vierta la muestra en la cámara de muestras.

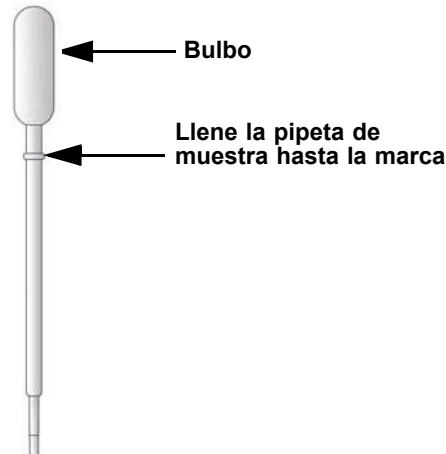


Figura 2. Pipeta de transferencia de 1 ml del ensayo Xpert Ebola

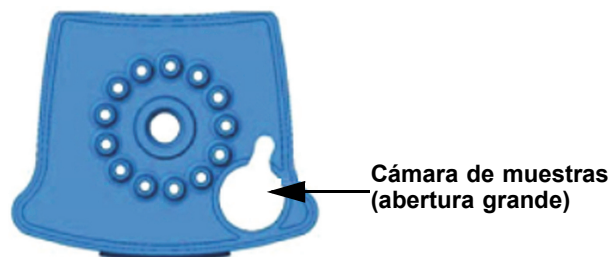


Figura 3. Cartucho del ensayo Xpert Ebola (vista superior)

12.2 Inicio de la prueba

Importante

Antes de iniciar la prueba, asegúrese de que se haya importado al software el archivo de definición del ensayo Xpert Ebola.

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

1. Encienda el sistema del instrumento GeneXpert:
 - Si está utilizando el instrumento GeneXpert Dx, encienda primero el instrumento y, a continuación, encienda el ordenador. El software GeneXpert se ejecutará automáticamente o puede requerir que se haga doble clic en el icono del acceso directo del software GeneXpert Dx en el escritorio de Windows®.
 - o
 - Si está utilizando el instrumento GeneXpert Infinity, ponga en marcha el instrumento. El software Xpertise se ejecutará automáticamente o puede requerir que se haga doble clic en el icono del acceso directo del software Xpertise en el escritorio de Windows.
2. Inicie una sesión en el software del sistema del instrumento GeneXpert con su nombre de usuario y su contraseña.
3. En la ventana del sistema GeneXpert, haga clic en **Crear prueba** (GeneXpert Dx) o haga clic en **Orders** (Solicitudes) y **Order Test** (Solicitar prueba) (Infinity).
4. Escanee la ID del paciente (opcional). Si escribe la ID del paciente, asegúrese de escribirla correctamente. La ID del paciente se asocia al resultado de la prueba, y se muestra en la ventana **View Results** (Ver resultados).
5. Escanee o escriba la ID de la muestra. Si escribe la ID de la muestra, asegúrese de escribirla correctamente. La ID de la muestra se asocia al resultado de la prueba, y se muestra en la ventana **View Results** (Ver resultados) y en todos los informes. Aparecerá el cuadro de diálogo **Scan Cartridge** (Escanear cartucho).
6. Escanee el código de barras del cartucho del ensayo Xpert Ebola. Aparecerá la ventana **Create Test** (Crear prueba). El software utiliza la información del código de barras para rellenar automáticamente los cuadros de los campos siguientes: **Select Assay** (Seleccionar ensayo), **Reagent Lot ID** (Id. del lote) y **Cartridge SN** (Nº de serie del cartucho).
7. Haga clic en **Iniciar prueba** (GeneXpert Dx) o **Submit** (Enviar) (Infinity). Introduzca su contraseña si se le solicita.
8. En el sistema GeneXpert Infinity, coloque el cartucho en la cinta transportadora. El cartucho se cargará automáticamente, se realizará la prueba y el cartucho usado se colocará en el recipiente de residuos.

o

Para el instrumento GeneXpert Dx:

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

13 Visualización e impresión de los resultados

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

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

14 Control de calidad

CONTROL Cada prueba incluye un control de adecuación de la muestra (SAC), un control interno de Cepheid (CIC) y un control de comprobación de sondas (PCC).

- **Control de adecuación de la muestra (SAC):** El SAC asegura que se han añadido células humanas a la cámara de muestras. El SAC se considera superado si cumple los criterios de aceptación validados.
- **Control interno de Cepheid (CIC):** Confirma que la muestra se procesó correctamente. El CIC es un Armored RNA® en forma de microesfera seca que se incluye en cada cartucho para verificar el procesamiento adecuado de los virus de la muestra. El CIC confirma que la lisis del Ébola ha tenido lugar, si el microorganismo está presente, y comprueba además si el procesamiento de la muestra ha sido adecuado. Además, este control también detecta la inhibición asociada a la muestra de la reacción PCR. El CIC debe ser positivo en una muestra negativa, y puede ser negativo o positivo en una muestra positiva. El CIC se considera superado si cumple los criterios de aceptación validados.
- **Control de comprobación de sondas (PCC, QC1, QC2):** Antes de iniciar el ensayo de PCR con transcripción inversa, el sistema del instrumento GeneXpert mide la señal de fluorescencia de dos de las sondas (denominadas QC1 y QC2) para comprobar la rehidratación de las microesferas, el llenado del tubo de reacción, la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes. Como QC1 y QC2 se miden en el momento del paso de la PCR con transcripción inversa (antes del paso de PCR en tiempo real), no hay disponibles curvas de crecimiento. El PCC se considera superado si cumple los criterios de aceptación asignados.
- **Controles externos:** Los controles externos deben utilizarse de acuerdo con los requisitos de las organizaciones de acreditación locales, estatales/provinciales y nacionales, según corresponda.
- Pueden utilizarse muestras de sangre completa venosa negativas como controles negativos externos procesados como muestras de pacientes.
- Para obtener información sobre cómo obtener materiales de control externos opcionales, póngase en contacto con el servicio técnico en TechSupport@cepheid.com o en www.cepheid.com, en el apartado **SUPPORT** (ASISTENCIA).

15 Interpretación de los resultados

El sistema del instrumento GeneXpert interpreta automáticamente los resultados a partir de las señales de fluorescencia medidas y de los algoritmos de cálculo incorporados, y los muestra claramente en la ventana **View Results** (Ver resultados) (consulte la figura 4, la figura 5, la figura 6 y la figura 7). Los resultados posibles se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados e interpretación del ensayo Xpert Ebola

Resultado	Interpretación
Ebola GP DETECTED, Ebola NP DETECTED (GP de Ébola DETECTADA, NP de Ébola DETECTADA) o Ebola GP DETECTED, Ebola NP NOT DETECTED (GP de Ébola DETECTADA, NP de Ébola NO DETECTADA) o Ebola GP NOT DETECTED, Ebola NP DETECTED (GP de Ébola NO DETECTADA, NP de Ébola DETECTADA) Consulte la figura 4, la figura 5 y la figura 6.	Se han detectado los ácidos nucleicos diana de ÉBOLA. <ul style="list-style-type: none"> • La señal de ÉBOLA de uno o de los dos ácidos nucleicos diana tiene un valor de Ct dentro del rango válido y un punto final por encima del valor mínimo configurado. • SAC: NA (no aplicable); El SAC se omite porque tuvo lugar la amplificación de la diana de ÉBOLA. • CIC: NA (no aplicable); El CIC se omite porque tuvo lugar la amplificación de la diana de ÉBOLA. • Comprobación de sondas: SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de sondas superan la comprobación.

Tabla 1. Resultados e interpretación del ensayo Xpert Ebola (continuación)

Resultado	Interpretación
<p>Ebola GP NOT DETECTED, Ebola NP NOT DETECTED (GP de Ébola NO DETECTADA, NP de Ébola NO DETECTADA)</p> <p>Consulte la figura 7.</p>	<p>No se han detectado los ácidos nucleicos diana de ÉBOLA. El CIC cumple los criterios de aceptación.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SAC: SUPERADO; El SAC tiene un valor de Ct dentro del rango válido y un punto final por encima del valor mínimo configurado. • CIC: SUPERADO; El CIC tiene un valor de Ct dentro del rango válido y un punto final por encima del valor mínimo configurado. • Comprobación de sondas: SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de sondas superan la comprobación.
<p>INVALID (NO VÁLIDO)</p>	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de los ácidos nucleicos diana. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del apartado Procedimiento de repetición de la prueba.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SAC: NO SUPERADO; El Ct del SAC no está dentro del rango válido y el punto final está por debajo del valor mínimo configurado. • CIC: SUPERADO; El CIC tiene un valor de Ct dentro del rango válido y un punto final por encima del valor mínimo configurado. • Comprobación de sondas: SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de sondas superan la comprobación. <p>O</p> <ul style="list-style-type: none"> • SAC: SUPERADO; El SAC tiene un valor de Ct dentro del rango válido y un punto final por encima del valor mínimo configurado. • CIC: NO SUPERADO; El Ct del CIC no está dentro del rango válido y el punto final está por debajo del valor mínimo configurado. • Comprobación de sondas: SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de sondas superan la comprobación.
<p>ERROR</p>	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de los ácidos nucleicos de ÉBOLA. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del apartado Procedimiento de repetición de la prueba.</p> <ul style="list-style-type: none"> • ÉBOLA: SIN RESULTADO • SAC: SIN RESULTADO • CIC: SIN RESULTADO • Comprobación de sondas: NO SUPERADO; todas o una de las comprobaciones de sondas no se superan.

Tabla 1. Resultados e interpretación del ensayo Xpert Ebola (continuación)

Resultado	Interpretación
NO RESULT (SIN RESULTADO)	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de los ácidos nucleicos diana de ÉBOLA. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del apartado Procedimiento de repetición de la prueba. NO RESULT (SIN RESULTADO) indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, si el operador detuvo una prueba en curso.</p> <ul style="list-style-type: none"> • ÉBOLA: SIN RESULTADO • SAC: SIN RESULTADO • CIC: SIN RESULTADO • Comprobación de sondas: NA (no aplicable)

Nota Las capturas de pantalla del ensayo se incluyen solamente como ejemplo y pueden ser distintas a las que se muestran en este prospecto. En las leyendas de la figura 4, la figura 5, la figura 6 y la figura 7, QC1 y QC2 son los controles utilizados para detectar la presencia de sondas (consulte Control de comprobación de sondas en el apartado 14, Control de calidad); no se generan curvas de amplificación.

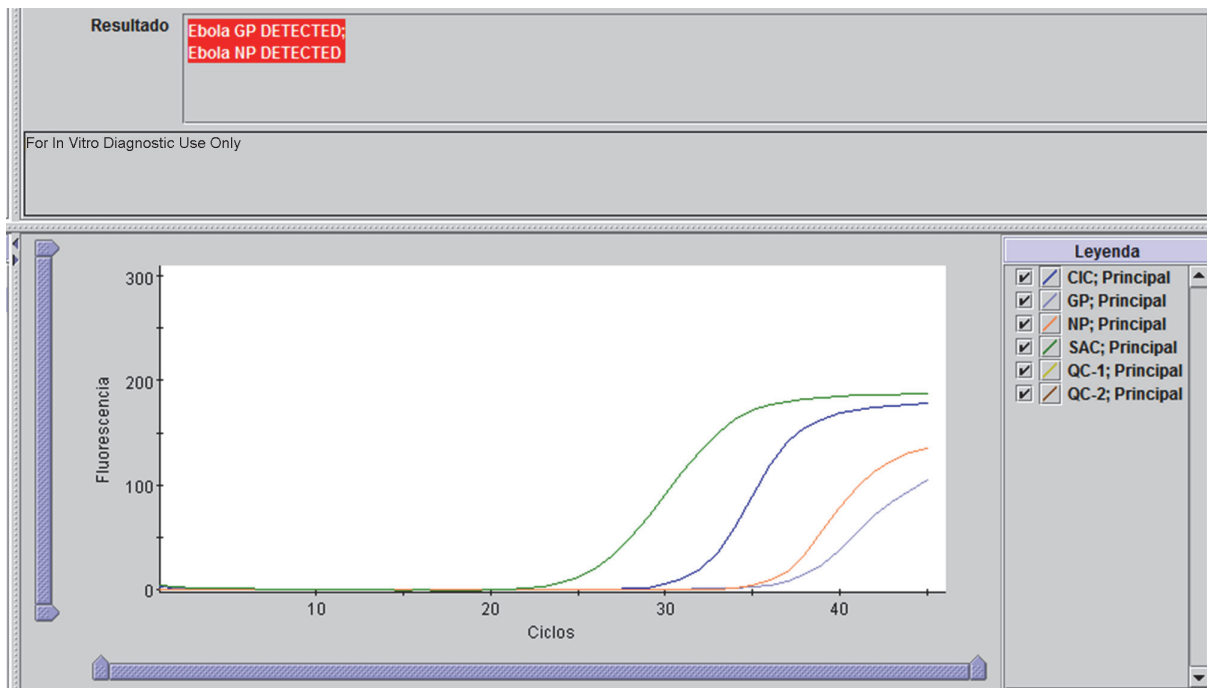


Figura 4. Ebola GP DETECTED, Ebola NP DETECTED (GP de Ébola DETECTADA, NP de Ébola DETECTADA)

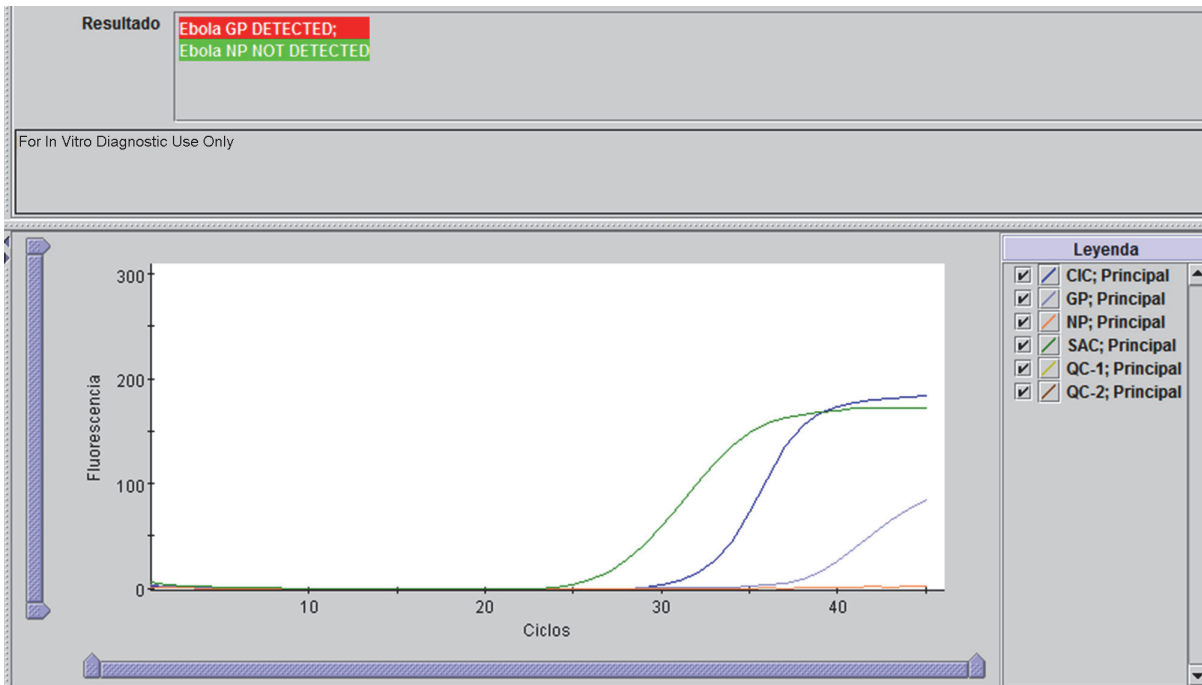


Figura 5. Ebola GP DETECTED, Ebola NP NOT DETECTED (GP de Ébola DETECTADA, NP de Ébola NO DETECTADA)

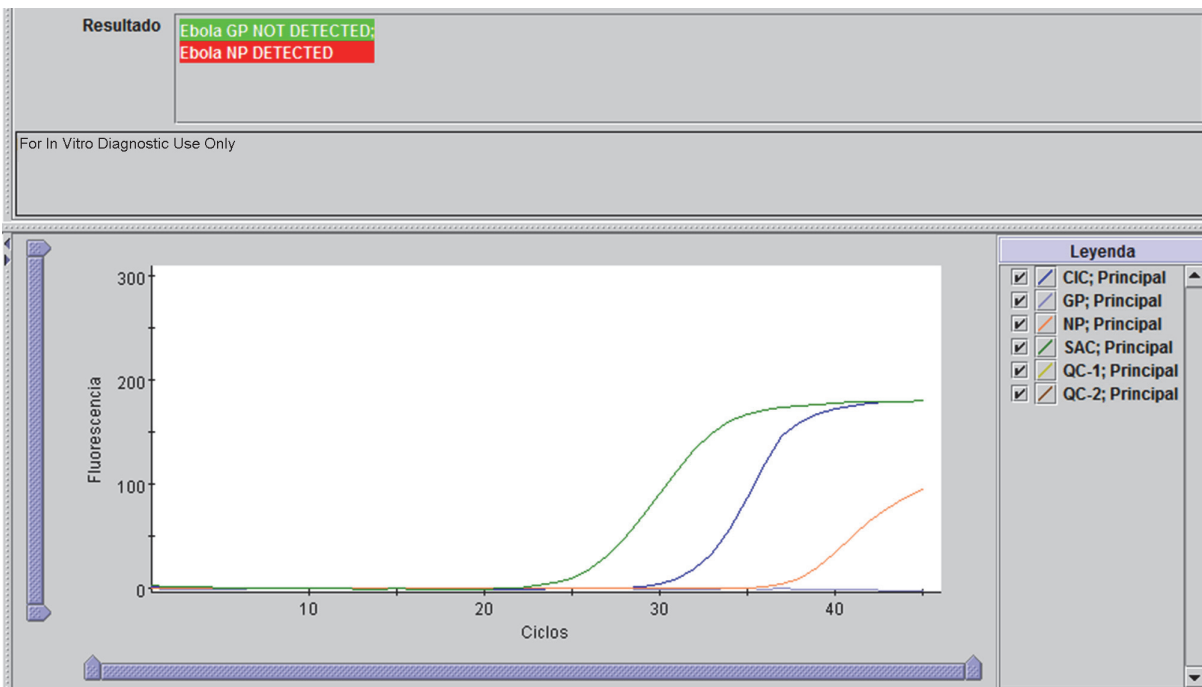
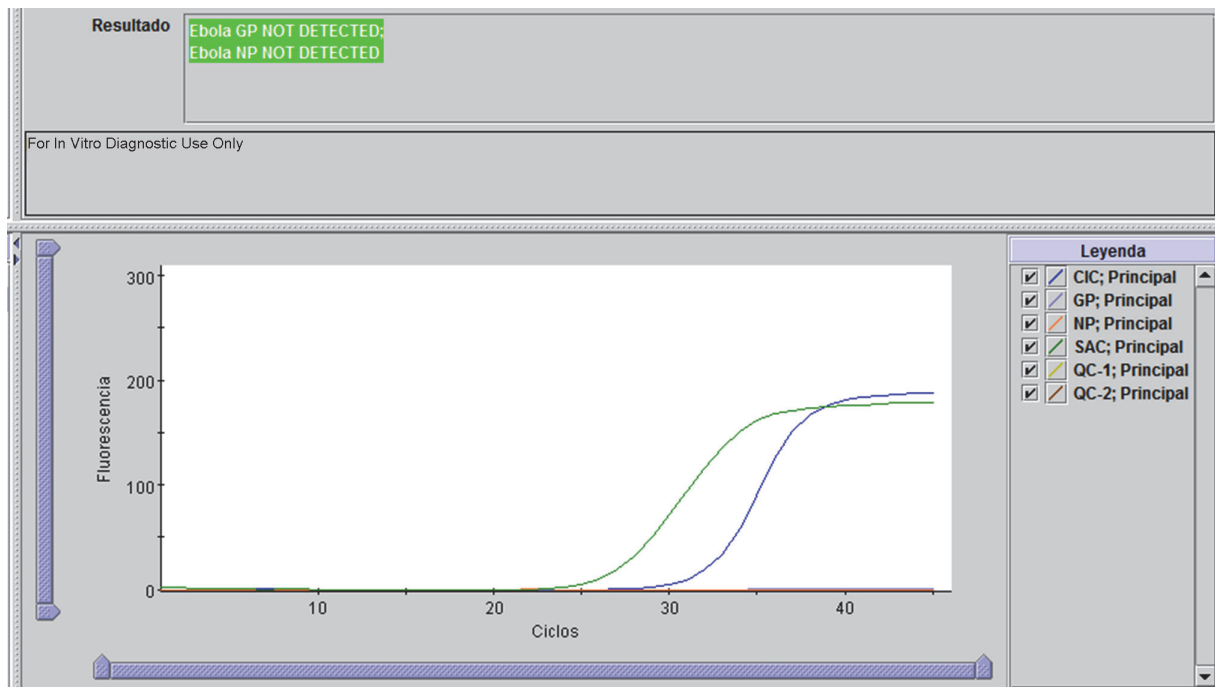


Figura 6. Ebola GP NOT DETECTED, Ebola NP DETECTED (GP de Ébola NO DETECTADA, NP de Ébola DETECTADA)



**Figura 7. Ebola GP NOT DETECTED, Ebola NP NOT DETECTED
(GP de Ébola NO DETECTADA, NP de Ébola NO DETECTADA)**

16 Repetición de pruebas

16.1 Razones para repetir la prueba

Si se obtiene alguno de los resultados de la prueba que se mencionan a continuación, repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del apartado 16.2, Procedimiento de repetición de la prueba.

- Un resultado **INVALID (NO VÁLIDO)** indica una o más de las siguientes causas:
 - El control CIC no superó la comprobación.
 - La muestra no se procesó correctamente o la PCR está inhibida.
 - El control SAC no superó la comprobación.
 - El volumen de muestra añadido fue insuficiente.
- Un resultado de **ERROR** indica que el ensayo se canceló. Las posibles causas son: el tubo de reacción no se llenó correctamente, se detectó un problema de integridad en las sondas de los reactivos, porque se excedió el límite máximo de presión.
- **NO RESULT (SIN RESULTADO)** indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, el operador detuvo una prueba que estaba en curso o se produjo una interrupción del suministro eléctrico.

16.2 Procedimiento de repetición de la prueba

Para la repetición de la prueba en el caso de resultados **NO RESULT (SIN RESULTADO)**, **INVALID (NO VÁLIDO)**, o **ERROR**, utilice un cartucho nuevo (no reutilice el cartucho) y reactivos nuevos.

1. Saque un cartucho nuevo del kit.
2. Consulte el apartado 12.1, Preparación del cartucho, y el apartado 12.2, Inicio de la prueba.

17 Eficacia diagnóstica

17.1 Límite de detección con sangre completa

Se calculó el límite de detección (LD) del ensayo Xpert Ebola con ARN de virus del Ébola Zaire y con virus del Ébola Zaire vivos. Los análisis se realizaron con tres grupos de diluciones, cada uno de los cuales se analizó utilizando un lote de kits de reactivos. Se tomó ARN vírico purificado de virus del Ébola Zaire Mayinga obtenido de la Agencia de Salud Pública de Suecia y se diluyó en una mezcla de reactivo para muestras y sangre completa; también se obtuvieron virus del Ébola 2014/Gueckedou-C05 y 2014/Gueckedou-C07 vivos y se diluyó cada uno de ellos en sangre completa con EDTA. En total, se analizaron 20 réplicas de ARN y 4 réplicas de virus vivo por nivel y muestra. Cuando se utilizó ARN, el LD se calculó como la concentración de ARN de Ébola Zaire diana más baja que pudo distinguirse reproduciblemente de muestras negativas con una probabilidad del 95 % utilizando análisis Probit. El LD asumido con ARN de Mayinga se confirmó analizando al menos veinte réplicas diluidas hasta obtener las concentraciones del LD calculado utilizando tres lotes de reactivos del ensayo Xpert Ebola. El 95 % de las réplicas fueron positivas en un lote de reactivo y el 100 % en dos lotes de reactivos. El LD calculado del virus vivo se confirmó como la concentración más baja de unidad formadora de placa (UFP) por ml de sangre completa con EDTA a la que al menos 19 de las 20 réplicas fueron positivas. Los resultados correspondientes al ARN de Ébola Zaire y al virus vivo se muestran en la tabla 2 y en la tabla 3.

Tabla 2. Límite de detección del ensayo Xpert Ebola con ARN de Ébola Zaire utilizando regresión Probit

Muestra	Concentración nominal (copias/ml)	Total de réplicas (N)	Total de positivos (N)	Tasa de positividad (%)	LD con probabilidad del 95 % calculado mediante Probit (intervalo de confianza del 95 %)
ARN de Ébola Zaire Mayinga	700	20	20	100	232,4 copias/ml (IC del 95 %: 163,1-301,6)
	300	20	20	100	
	150	20	13	65	
	75	20	12	60	
	30	20	9	45	
	15	20	5	25	

Tabla 3. Números de réplicas positivas por nivel en los casos de los virus del Ébola Zaire Makona-Gueckedou 07 y 05 en sangre completa con EDTA y confirmación del límite de detección

Muestra	Concentración nominal (UFP/ml)	Total de réplicas (N)	Total de positivos (N)	Tasa de positividad (%)	Confirmación del LD		
					Concentración nominal (UFP/ml)	Total de réplicas (N)	Total de positivos (N)
Virus del Ébola Zaire Makona-Gueckedou 07	50	4	4	100	1,0	20	20
	25	4	4	100			
	12,5	4	4	100			
	1	4	4	100			
	0,1	3	1	33			
	0,01	4	0	0			
Virus del Ébola Zaire Makona-Gueckedou 05	0,13	4	4	100	0,13	20	20
	0,065	4	4	100			
	0,0325	4	3	75			
	0,01625	4	1	25			

17.2 Límite de detección con hisopos bucales

Se determinó el límite de detección (LD) de ARN de Ébola Zaire del ensayo Xpert Ebola con hisopos bucales. Se preparó un grupo de diluciones de ocho miembros a partir de una muestra de ARN de Ébola Zaire Mayinga y se analizó en un lote de reactivos. El grupo de diluciones se preparó añadiendo ARN de Ébola en un conjunto de hisopos en reactivo para muestras en el intervalo de aproximadamente 0 a 1000 copias de ARN de Ébola/hisopo. Cuando se utilizó ARN, el LD con hisopos bucales se calculó mediante análisis Probit. El LD asumido se confirmó analizando al menos 20 réplicas diluidas hasta obtener las concentraciones de los LD calculados utilizando dos lotes de reactivos del ensayo Xpert Ebola. El LD asumido se define como la concentración a la que el 95 % de al menos 20 réplicas por lote de reactivo es positivo (tabla 4). Cuando se utilizaron hisopos bucales a los que se había añadido ARN de Ébola Zaire Mayinga, se determinó que el LD del ensayo Xpert Ebola era de 350,0 copias/hisopo.

Tabla 4. Límite de detección de ARN de Ébola Zaire en hisopos bucales del ensayo Xpert Ebola utilizando regresión Probit y confirmación del límite de detección

Muestra	Concentración nominal (copias/hisopo)	Total de réplicas (N)	Total de positivos (N)	Tasa de positividad (%)	LD con probabilidad del 95 % calculado mediante Probit (intervalo de confianza del 99,9 %)	Confirmación del LD			
						Concentración nominal (copias/hisopo)	Lote de reactivos	Total de réplicas (N)	Total de positivos (N)
ARN de Ébola Zaire en hisopos bucales	600	20	20	100	250,0 copias/hisopo (IC del 99,9 %: 149,3-350,0)	350	1	20	20
	400	20	19	95					
	200	20	18	90					
	100	20	18	90					
	50	20	5	25			2	20	20
	25	20	5	25					
	12,5	20	1	5					
	0	20	0	0					

Equivalencia del tipo de muestra (sangre completa venosa con EDTA y sangre completa obtenida mediante punción dactilar)

Utilizando el ensayo Xpert Ebola y muestras de veinte individuos sanos, se demostró la equivalencia de la eficacia diagnóstica lograda con los dos tipos de muestra diferentes (sangre completa venosa con EDTA y sangre completa obtenida mediante punción dactilar). La sangre obtenida mediante venopunción se recogió en un tubo con EDTA y se transfirió al frasco de reactivo para muestras, mientras que la sangre obtenida mediante punción dactilar se puso inmediatamente en el reactivo para muestras. A ambos tipos de muestras se les añadió ARN de Ébola Mayinga a una concentración de 1500 copias/ml y los análisis se realizaron uno al lado del otro. Se demostró la equivalencia de la eficacia diagnóstica lograda con los dos tipos de muestra.

Intervalo lineal

La linealidad del ensayo Xpert Ebola respecto a las dianas de GP y NP de Ébola se determinó analizando un grupo de diluciones de seis miembros preparado con diluciones sucesivas de muestra de ARN de Ébola Mayinga en sangre completa con un intervalo de entre 3×10^2 a 1×10^7 copias/ml. Se analizaron seis réplicas de cada miembro del grupo utilizando un lote de reactivos. Los resultados se muestran en las figuras 8 y 9, y demuestran que el ensayo es lineal dentro de un intervalo de 3×10^2 a 1×10^7 copias/ml, con un valor de R^2 (que es el producto de una curva estándar) de 0,99 en el caso de la diana de GP de Ébola y de 0,98 en el de la diana de NP de Ébola.

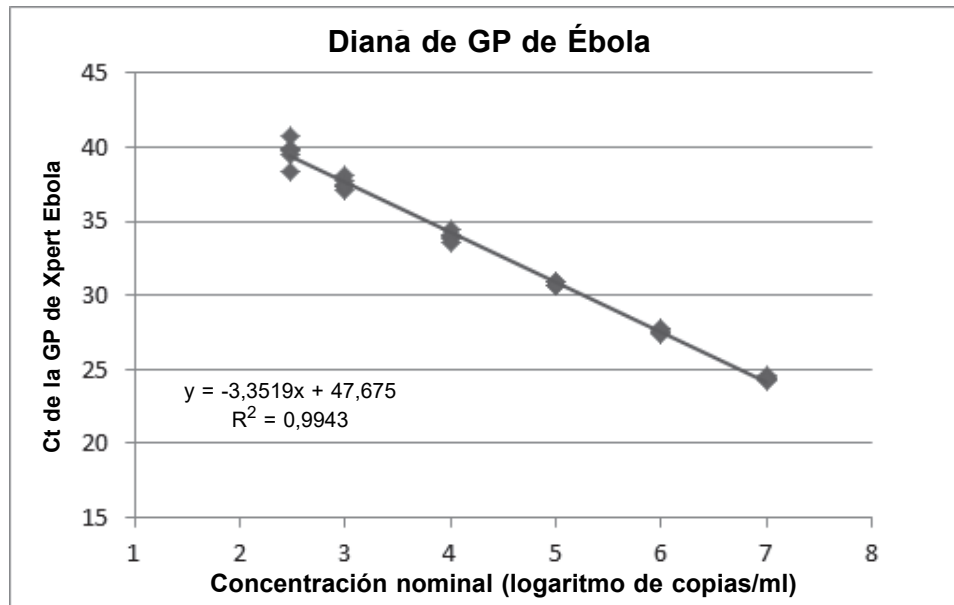


Figura 8. Linealidad de la diana de GP de Xpert Ebola

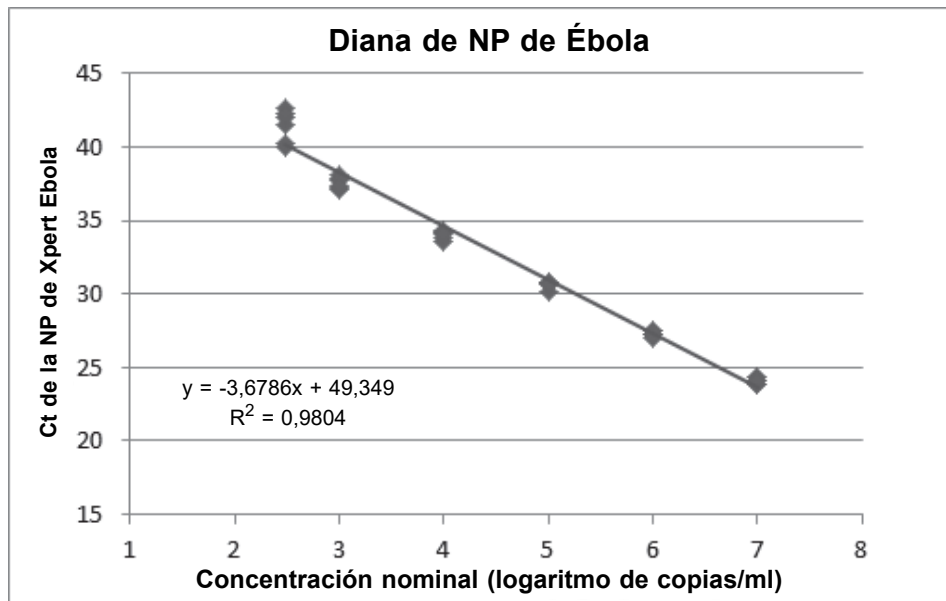


Figura 9. Linealidad de la diana de NP de Xpert Ebola

17.3 Reactividad analítica (inclusividad)

La reactividad analítica (inclusividad) del ensayo Xpert Ebola se determinó con cuatro cepas de Ébola Zaire distintas a la Mayinga, disponibles en forma de virus del Ébola vivo o de ARN vírico. También se realizaron análisis *in silico* de todas las demás secuencias disponibles, no analizadas, de cepas de Ébola Zaire. Las muestras problema se prepararon añadiendo cada muestra individual a sangre completa con EDTA negativa para Ébola o, si se utilizó ARN preparado a partir de virus, a sangre completa con EDTA negativa para Ébola mezclada con reactivo para muestras. Se utilizó un lote de kits de reactivos para analizar veinte réplicas de cada muestra y tres réplicas de una muestra de control negativa, compuesta de sangre completa con EDTA negativa para Ébola. Los resultados de los análisis de las muestras positivas para Ébola se presentan en la tabla 5. Todas las muestras de control negativas para Ébola se notificaron como **Ebola GP NOT DETECTED** (GP de Ébola NO DETECTADA), **Ebola NP NOT DETECTED** (NP de Ébola NO DETECTADA).

Tabla 5. Reactividad analítica del ensayo Xpert Ebola

Cepa Ébola Zaire	Tipo de muestra	Concentración del análisis	Total de réplicas (N)	Total de positivos (N)	Tasa de positividad (%)
Guinea	Virus vivo	1 x LD	20	20	100 %
Ekron	Virus vivo	3 x LD	20	20	100 %
Gabon	Virus vivo	3 x LD	20	20	100 %
Kikwit	ARN	5 x LD	20	20	100 %

Se realizaron análisis *in silico* para predecir la eficacia diagnóstica del ensayo Xpert Ebola en la detección de todas las secuencias variantes de Ébola Zaire disponibles en GenBank; desde los primeros datos de secuencias de Zaire publicados en 1976 hasta las secuencias del reciente brote de África Occidental. Las dos secuencias de los amplicones de Xpert Ebola derivadas de los genes de la glucoproteína (GP) y de la nucleoproteína (NP) de Zaire se enviaron a BLAST (NCBI). Además, se cotejaron todas las seis secuencias de oligonucleótidos del Xpert Ebola con una alineación de una base de datos local que contenía todas las secuencias de Ébola Zaire disponibles en GenBank. Los análisis mostraron que los oligonucleótidos de NP y de GP de Ébola Zaire coincidieron totalmente con todas las secuencias de Zaire presentes en GenBank.

17.4 Especificidad analítica (exclusividad)

La especificidad analítica del ensayo Xpert Ebola se evaluó analizando virus y bacterias diferentes al virus del Ébola y cepas diferentes a la Ébola Zaire a concentraciones clínicamente relevantes. Las muestras se prepararon añadiendo cada microorganismo individual a sangre completa con EDTA negativa para Ébola o, si se utilizó ARN/ADN genómico del microorganismo, a sangre completa con EDTA negativa para Ébola mezclada con reactivo para muestras. Los resultados de especificidad analítica se muestra en la tabla 6 y en la tabla 7. La especificidad analítica del ensayo Xpert Ebola en relación con los microorganismos evaluados es del 100 %.

Tabla 6. Determinación de la especificidad analítica del ensayo Xpert Ebola, muestras positivas para Ébola no Zaire

Microorganismo	Tipo de muestra	Conc. del análisis (Conc. de partículas utilizada para el aislamiento de ácidos nucleicos)	Unidad (ng o UFP/ml de sangre completa)	N	Resultados positivos	Resultados negativos
Ébola Costa de Marfil	Ácidos nucleicos	546 ^a	ng/ml	3	0	3
Ébola Reston	Ácidos nucleicos	3,0 x 10 ⁵	UFP/ml	3	0	3

a. Concentración de ARN del material de stock

Tabla 7. Determinación de la especificidad analítica del ensayo Xpert Ebola, muestras no Ébola

Microorganismo	Tipo de muestra	Conc. del análisis (Conc. de partículas utilizada para el aislamiento de ácidos nucleicos)	Unidad (ng o UFP/ml de sangre completa)	N	Resultados positivos	Resultados negativos
Virus Chikungunya (181/25)	Ácidos nucleicos	2798 ^a	ng/ml	3	0	3
<i>Coxiella burnetti</i>	Ácidos nucleicos	50	ng/ml	3	0	3
Virus de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo (Dubái)	Ácidos nucleicos	3,4 x 10 ⁶	UFP/ml	3	0	3
Virus del dengue (tipo 2)	Ácidos nucleicos	2,7 x 10 ⁶	UFP/ml	3	0	3
<i>Hemophilus influenzae</i>	Ácidos nucleicos	50	ng/ml	3	0	3
Virus de la gripe A (H9N2)	Ácidos nucleicos	1,0 x 10 ⁵	UFP/ml	3	0	3
Virus de Lassa (Pinneo)	Ácidos nucleicos	5,7 x 10 ³	UFP/ml	3	0	3
Marburg (Angola)	Ácidos nucleicos	2,6 x 10 ⁶	UFP/ml	3	0	3
Marburg (Angola)	Virus vivo	5,0 x 10 ^{4b}	UFP/ml	3	0	3
Marburg (Musoke)	Ácidos nucleicos	6,0 x 10 ⁴	UFP/ml	3	0	3
Marburg (Musoke)	Virus vivo	5,0 x 10 ^{4b}	UFP/ml	3	0	3
Marburg (Ravn)	Ácidos nucleicos	4,8 x 10 ⁵	UFP/ml	3	0	3
Mosquito	Ácidos nucleicos	50	ng/ml	3	0	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ácidos nucleicos	50	ng/ml	3	0	3
<i>Rickettsia conorii</i>	Ácidos nucleicos	50	ng/ml	3	0	3
<i>Rickettsia prowazekii</i>	Ácidos nucleicos	50	ng/ml	3	0	3
<i>Rickettsia typhi</i>	Ácidos nucleicos	50	ng/ml	3	0	3
Virus de la fiebre del Valle del Rift (SA51)	Ácidos nucleicos	7,5 x 10 ⁵	UFP/ml	3	0	3
<i>Salmonella bongori</i>	Ácidos nucleicos	50	ng/ml	3	0	3
<i>Salmonella typhi</i>	Ácidos nucleicos	50	ng/ml	3	0	3
<i>Shigella flexneri</i> tipo 2	Ácidos nucleicos	50	ng/ml	3	0	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Ácidos nucleicos	50	ng/ml	3	0	3
Garrapata	Ácidos nucleicos	50	ng/ml	3	0	3
Fiebre amarilla (OBS-6745)	Ácidos nucleicos	1,0 x 10 ⁶	UFP/ml	3	0	3
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Ácidos nucleicos	50	ng/ml	3	0	3
<i>Yersinia pestis</i>	Ácidos nucleicos	50	ng/ml	3	0	3

a. Concentración de ARN del material de stock

b. Concentración de análisis de virus vivo.

Se realizaron análisis *in silico* para predecir el riesgo de reactividad cruzada de los oligonucleótidos diana (GP y NP) de Zaire del ensayo Xpert Ebola con virus del Ébola distintos al Zaire, así como con todos los patógenos de enfermedades de exclusividad enumerados en la tabla 7 y la tabla 8. Los análisis muestran que las secuencias de los cebadores y las sondas del Xpert Ebola son específicas y no deben arrojar resultados positivos falsos para Ébola Zaire con los microorganismos evaluados.

Tabla 8. Microorganismos utilizados para determinar la especificidad analítica *in silico*

Microorganismo
Ébola Sudán-Boniface
Ébola Sudán-Bundibugyo
Ébola Sudán-Gulu
Adenovirus
<i>Borrelia recurrentis</i>
Enterovirus
Virus de la gripe B
Género <i>Leptospira</i>
Marburg (Ci67)
<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Plasmodium falciparum</i>
<i>Plasmodium malariae</i>
<i>Plasmodium ovale</i>
<i>Plasmodium vivax</i>
<i>Rickettsia africae</i>
Rotavirus
RSV (virus respiratorio sincitial)
<i>Trypanosoma</i>
<i>Vibrio cholera</i>

17.5 Sustancias potencialmente interferentes

Se evaluó la susceptibilidad del ensayo Xpert Ebola a las interferencias producidas por altas concentraciones de sustancias endógenas presentes en sangre completa. Para las sustancias endógenas, se evaluaron sangre completa con EDTA negativa para Ébola y sangre completa con EDTA positiva para Ébola a la que se le había añadido las sustancias. Para preparar muestras positivas para Ébola, se añadió ARN de Ébola Zaire Mayinga (2500 copias/ml) al reactivo para muestras, que a continuación se mezcló con sangre completa con EDTA a la que se había añadido individualmente cada sustancia interferente. Se evaluó un total de cinco sustancias a las concentraciones que se muestran en la tabla 9. Se analizaron seis réplicas de cada muestra utilizando un lote de kits de reactivos. Se observó que las altas concentraciones de las sustancias endógenas indicadas en la tabla 9 no afectaron a la especificidad de ensayo ni interfirieron en la detección de Ébola.

Tabla 9. Sustancias endógenas y concentración analizada

Sustancias endógenas	Concentración analizada
Albúmina	90,0 mg/ml
Bilirrubina	0,300 mg/ml
ADN humano	4,0 µg/ml
Hemoglobina	5,0 mg/ml
Triglicéridos	30,0 mg/ml

17.6 Análisis de muestras clínicas artificiales

La eficacia diagnóstica del ensayo Xpert Ebola se evaluó utilizando muestras clínicas simuladas. Los datos recogidos con estas muestras clínicas simuladas se obtuvieron utilizando estrategias de análisis a ciegas. Debido a lo difícil que resulta obtener muestras clínicas de pacientes infectados por Ébola, se prepararon muestras simuladas añadiendo virus del Ébola vivo o ARN vírico de Ébola a muestras de sangre completa con EDTA obtenidas de diferentes individuos negativos para Ébola. A la sangre completa se le añadió virus del Ébola o ARN vírico de Ébola a distintas concentraciones, que iban desde cerca del LD hasta altos niveles (hasta 200 veces el límite de detección [LD]). También se analizaron muestras de sangre completa con EDTA a la que no se les había añadido nada, muestras que se habían obtenido de diferentes donantes negativos individuales. Las muestras se analizaron a ciegas con el ensayo Xpert Ebola.

En el caso del ARN de virus del Ébola Mayinga, el porcentaje de concordancia de positivos (PCP) fue del 100,0 % (50/50, [IC del 95 %: 92,9-100,0]), en el del virus vivo Makona-Gueckedou 05, del 100,0 % (50/50, [IC del 95 %: 92,9-100,0]), y en el del virus vivo Makona-Gueckedou 07, del 84,0 % (42/50, [IC del 95 %: 71,5-97,1]). El porcentaje de concordancia de negativos fue del 100,0 % (50/50 [IC del 97,5 %: 92,9-100,0]) en todos los estudios. La tabla 10, la tabla 11 y la tabla 12 muestran los resultados de las muestras negativas y de las muestras a las que se les había añadido Ébola.

Tabla 10. Números de resultados positivos y negativos obtenidos con muestras a las que se había añadido ARN de Ébola Zaire Mayinga y con muestras de control negativas

Concentración nominal	N	Resultados positivos		Resultados negativos
0	50	0		50
1 x LD	25	25		0
3 x LD	10	10		0
10 x LD	10	10		0
100 x LD	5	5		0
				IC del 95 %
Porcentaje de concordancia de positivos		50/50	100 %	92,9 %-100 %
Porcentaje de concordancia de negativos		50/50	100 %	92,9 %-100 %

Tabla 11. Números de resultados positivos y negativos obtenidos con muestras a las que se había añadido virus del Ébola Makona-Gueckedou 05 y con muestras de control negativas

Concentración nominal	N	Resultados positivos		Resultados negativos
0	50	0		50
1 x LD	25	25		0
3 x LD	10	10		0
10 x LD	10	10		0
100 x LD	5	5		0
				IC del 95 %
Porcentaje de concordancia de positivos		50/50	100 %	92,9 %-100 %
Porcentaje de concordancia de negativos		50/50	100 %	92,9 %-100 %

Tabla 12. Números de resultados positivos y negativos obtenidos con muestras a las que se había añadido virus del Ébola Makona-Gueckedou 07 y con muestras de control negativas

Concentración nominal	N	Resultados positivos		Resultados negativos
0	50	0		50
2 x LD	25	21		4
6 x LD	10	10		0
20 x LD	10	6		4
200 x LD	5	5		0
				IC del 95 %
Porcentaje de concordancia de positivos		42/50	84,0 %	71,5 %-97,1 %
Porcentaje de concordancia de negativos		50/50	100 %	92,9 %-100 %

La investigación de la diferencia en los resultados de PCP de las muestras artificiales a las que se había añadido virus del Ébola Makona-Gueckedou 07 (tabla 12) comparados con los de los otros dos conjuntos de muestras artificiales (tabla 10 y tabla 11) mostró falta de uniformidad en la preparación de las muestras. Los hisopos no se sumergieron por completo en las muestras que contenían las muestras de sangre completa a las que se había añadido Ébola Makona-Gueckedou 07, lo que limitó la cantidad de muestra disponible para los análisis. Los análisis correspondientes a las muestras artificiales a las que se había añadido virus del Ébola Makona-Gueckedou 07 se repitió utilizando 50 muestras de sangre completa individuales a las concentraciones finales y el volumen correctos para cada muestra. La tabla 13 muestra el resumen de los resultados obtenidos con cada concentración analizada y los porcentajes de concordancia de positivos y de negativos de la repetición del estudio.

Tabla 13. Resumen de resultados y porcentajes de concordancia de positivos y de negativos de las muestras clínicas simuladas a las que se había añadido virus del Ébola Makona-Gueckedou 07, Texas

Concentración nominal	N	Resultados positivos		Resultados negativos
0	6	0		6
1 x LD	25	20		5
3 x LD	10	10		0
10 x LD	10	10		0
100 x LD	5	5		0
				IC del 95 %
Porcentaje de concordancia de positivos		45/50	90,0 %	78,6 %-95,7 %
Porcentaje de concordancia de negativos		6/6	100 %	61,0 %-100 %

18 Eficacia viricida

La eficacia del reactivo para muestras del Xpert Ebola para inactivar el virus del Ébola después de una incubación de 20 minutos en reactivo para muestras se evaluó añadiendo $4,6 \times 10^6$ UFP de virus del Ébola Zaire Guinea vivo a 2,5 ml de reactivo para muestras. Tras la inactivación, la mezcla de virus del Ébola y reactivo para muestras se sometió a diálisis empleando un dispositivo de diálisis de equilibrio rápido de un solo uso. El control empleado en el experimento de inactivación fue virus del Ébola Zaire Kikwit vivo ($\sim 1 \times 10^7$ UFP/ml) diluido 10 veces en tampón de lisis AVL completo e inactivado durante 5 minutos a 90 °C. Como control positivo se utilizó virus Zaire Guinea vivo ($4,6 \times 10^6$ UFP). La eficiencia viricida del reactivo para muestras se estudió añadiendo la mezcla de virus y reactivo para muestras a células Vero E6 confluentes y determinando el efecto citopático (ECP) en 2 pases (7 + 7 días) en réplicas de tres.

El reactivo para muestras del Xpert Ebola inactivó por completo el virus del Ébola añadido y se demostró que era eficaz al 100 % para concentraciones víricas de hasta 1 000 000 copias del virus del Ébola por ml (6 logs).

19 Limitaciones del ensayo

- Los resultados negativos de la prueba no descartan la infección por el virus del Ébola y no deben usarse como único criterio para tomar decisiones relacionadas con el tratamiento de los pacientes u otras decisiones relacionadas con su atención.
- Todos los resultados de la prueba deberán ser interpretados por un profesional cualificado, considerando los antecedentes y los signos y síntomas clínicos del paciente.
- Esta prueba se ha evaluado para uso exclusivo con muestras de sangre completa e hisopos bucales de origen humano.
- Las muestras de pacientes que hayan recibido tratamientos terapéuticos o vacunas basados en secuencias de ácidos nucleicos derivados de virus del Ébola Zaire pueden presentar resultados positivos falsos u otros resultados confusos en la prueba.
- La prueba es de carácter cualitativo y no proporciona un valor cuantitativo del virus presente en la muestra.
- La interpretación de resultados del ensayo Xpert Ebola debe tener en cuenta la posibilidad de resultados positivos falsos y negativos falsos.
- Los resultados positivos falsos pueden deberse a la contaminación cruzada por el microorganismo diana, por sus ácidos nucleicos o derivada del amplicón de la PCR.
- Si no se siguen los procedimientos del ensayo pueden obtenerse resultados falsos.
- Los inhibidores presentes en las muestras pueden hacer que se obtengan resultados negativos falsos.
- 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 está muy por debajo del límite de detección de la prueba. El estricto cumplimiento de las instrucciones de este prospecto es necesario para evitar resultados erróneos.
- Las mutaciones o polimorfismos en las regiones de unión de sondas o cebadores pueden afectar a la detección de variantes nuevas o desconocidas, y pueden producir un resultado negativo falso.

20 Bibliografía

1. WHO Ebola Situation Reports <http://apps.who.int/ebola/en/ebola-situation-reports>.
2. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC)).
3. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z)

21 Oficinas centrales de Cepheid

Oficinas centrales corporativas

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA (EE. UU.)
Teléfono: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Oficinas centrales europeas

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

22 Asistencia técnica

Antes de ponerse en contacto con el servicio técnico de Cepheid, reúna la información siguiente:

- Nombre del producto
- Número de lote
- Número de serie del instrumento
- Mensajes de error (si los hubiera)
- Versión de software y, si corresponde, «Service Tag» (número de servicio técnico) del ordenador.

Información de contacto

EE. UU.

Teléfono: + 1 888 838 3222

Correo electrónico: techsupport@cepheid.com

















Francia

Teléfono: + 33 563 825 319

Correo electrónico: support@cepheideurope.com

La información de contacto de todas las oficinas del servicio técnico de Cepheid está disponible en nuestro sitio web:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

23 Tabla de símbolos

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



Cepheid
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

