

# Xpert® MTB/RIF

**REF** CGXMTB/RIF-10

## **Trademark, Patents and Copyright Statements**

Cepheid<sup>®</sup>, the Cepheid logo, GeneXpert<sup>®</sup>, and Xpert<sup>®</sup> 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.

© 2011-2023 Cepheid.

## **Declaraciones sobre marcas comerciales, patentes y derechos de propiedad intelectual**

Cepheid<sup>®</sup>, el logotipo de Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup> y Xpert<sup>®</sup> 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.

© 2011-2023 Cepheid.



Cepheid AB  
Röntegenvägen 5  
SE-171 54 Solna  
Suecia

Tel.: +46 8 6843 7000  
Fax: +46 8 6843 7010

Servicio técnico: [TechSupport@cepheid.com](mailto:TechSupport@cepheid.com)

# Xpert® MTB/RIF

---

Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*

**Nombre patentado**

Ensayo Xpert® MTB/RIF

**Denominación común o habitual**

Ensayo Xpert MTB/RIF

## A. Indicaciones

El ensayo Xpert MTB/RIF, que se usa con los sistemas GeneXpert® de Cepheid, es una prueba de diagnóstico *in vitro* de PCR en tiempo real semicuantitativa y anidada, que se utiliza para la detección de:

- ADN del complejo *Mycobacterium tuberculosis* en muestras de esputo o sedimentos concentrados que se han preparado a partir de esputo inducido o expectorado con baciloscopia de bacilos acidorresistentes (BAR) positiva o negativa
- Mutaciones del gen *rpoB* asociadas a la resistencia a rifampicina en muestras de pacientes con riesgo de resistencia a la rifampicina

El ensayo Xpert MTB/RIF está indicado para utilizarse con muestras de pacientes no tratados en los que existe una sospecha clínica de tuberculosis. El uso del ensayo Xpert MTB/RIF para la detección de *M. tuberculosis* (MTB) o para la determinación de la sensibilidad a la rifampicina no ha sido validado para pacientes que reciben tratamiento para la tuberculosis.

## B. Resumen y explicación

Cerca de 2000 millones de personas están infectadas con MTB en todo el mundo.<sup>1</sup> Unos 9 millones de personas desarrollan cada año la enfermedad activa y 2 millones de personas mueren a consecuencia de la enfermedad. El MTB activo, cuya naturaleza es predominantemente pulmonar, es una enfermedad sumamente infecciosa de transmisión aérea. Dada la naturaleza infecciosa del MTB, el diagnóstico rápido y preciso es un elemento importante del tratamiento y el control del MTB.

El tratamiento conlleva la administración prolongada de múltiples fármacos y suele ser muy efectivo. Sin embargo, las cepas de MTB pueden volverse resistentes a uno o más de los fármacos, lo que hace que la cura sea más difícil de conseguir. Cuatro fármacos de uso primario que se emplean habitualmente para tratar la tuberculosis son:

- Isoniazida (INH)
- Rifampicina (RIF)
- Etambutol (EMB)
- Pirazinamida (PZA)

La resistencia a la rifampicina raramente ocurre en aislamiento y generalmente indica resistencia a varios fármacos antituberculosos.<sup>2</sup> La resistencia a la rifampicina se ve con mayor frecuencia en cepas multirresistentes (TB-MR) y se ha notificado una frecuencia de más del 95 % en dichos aislados.<sup>3,4,5</sup> La TB-MR se define como una tuberculosis causada por una cepa bacteriana resistente al menos a la isoniazida y la rifampicina. La resistencia a RIF o a otros fármacos de uso primario suele indicar que es necesario realizar pruebas completas de sensibilidad, incluidas las pruebas para agentes de uso secundario.

La detección molecular del MTB y las mutaciones del gen *rpoB* asociadas a la resistencia a RIF reduce notablemente el tiempo al diagnóstico de la tuberculosis -sensible a fármacos y multirresistente (TB-MR). Con el ensayo Xpert MTB/RIF, esto puede conseguirse en menos de 2,5 horas en muestras de esputo fresco y en sedimentos preparados. La detección rápida de MTB y la resistencia a RIF permite que el médico tome decisiones críticas relacionadas con el tratamiento del paciente en la misma visita médica.

## C. Principio del procedimiento

Los sistemas del instrumento GeneXpert automatizan e integran el procesamiento de muestras, la amplificación de ácidos nucleicos y la detección de las secuencias diana en muestras simples o complejas mediante ensayos de PCR con transcriptasa inversa y de PCR en tiempo real. El sistema consta de un instrumento, un ordenador personal, un lector de códigos de barras y un software precargado para la realización de pruebas con las muestras recogidas y la visualización de los resultados. El sistema requiere el uso de cartuchos GeneXpert desechables de un solo uso para albergar los reactivos y el realizar proceso de PCR. Dado que los cartuchos son independientes, se elimina el riesgo de contaminación cruzada entre las muestras. Si desea obtener una descripción detallada del sistema, consulte el *Manual del usuario del sistema GeneXpert Dx* o el *Manual del usuario del sistema GeneXpert Infinity*.

El ensayo Xpert MTB/RIF incluye reactivos para la detección de MTB y la resistencia a RIF, así como un control de procesamiento de muestras (SPC) para controlar el procesamiento adecuado de las bacterias diana y monitorizar la presencia de inhibidores en la reacción PCR. El control de comprobación de la sonda (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.

Los cebadores del ensayo Xpert MTB/RIF amplifican una porción del gen *rpoB* que contiene la región «central» de 81 pares de bases. Las sondas son capaces de distinguir entre la secuencia natural conservada y las mutaciones de la región central que se asocian a la resistencia a RIF.

## D. Reactivos e instrumentos

### D.1 Material suministrado



El kit Xpert MTB/RIF (CGXMTB/RIF-10) contiene reactivos suficientes para procesar 10 muestras de paciente o de control de calidad. El kit Xpert MTB/RIF contiene los elementos siguientes:

|   |                        |
|---|------------------------|
| <b>Cartuchos Xpert MTB/RIF con tubos de reacción integrados</b> | <b>10 por kit</b>      |
| • Microesfera 1 y microesfera 2 (liofilizadas)                  | 2 de cada por cartucho |
| • Microesfera 3 (liofilizada)                                   | 1 por cartucho         |
| • Reactivo 1  | 4,0 ml por cartucho    |
| • Reactivo 2  | 4,0 ml por cartucho    |
| <b>Frascos de reactivo para muestras</b>                        | <b>10 por kit</b>      |
| • Reactivo para muestras  | 8 ml por frasco        |
| • Hidróxido de sodio  |                        |
| • Isopropanol   |                        |
| <b>Pipetas de transferencia desechables</b>                     | <b>12 por kit</b>      |
| <b>CD</b>   | <b>1 por kit</b>       |
| • Archivo de definición del ensayo (Assay Definition File, ADF) |                        |
| • Instrucciones para importar el ADF en el software             |                        |
| • Instrucciones de uso (prospecto)                              |                        |

#### Nota

El reactivo para muestras presenta un rango de colores de incoloro a ámbar, pasando por amarillo. El color puede intensificarse con el tiempo, pero no afecta al rendimiento.

#### Nota

Las fichas de datos de seguridad (SDS) están disponibles en la ficha de **ASISTENCIA (SUPPORT)** de [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) o [www.cepheidinternational.com](http://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.

#### Nota

Las pipetas de transferencia tienen una sola marca que representa el volumen mínimo de muestra tratada que se necesita transferir al cartucho. Úselas solamente para este fin. El laboratorio deberá suministrar todas las demás pipetas.

## D.2 Conservación y manipulación



- Conserve los contenidos del kit Xpert MTB/RIF a una temperatura de 2 a 28 °C.
- No utilice los reactivos ni los cartuchos después de la fecha de caducidad indicada.
- No abra la tapa del cartucho hasta el momento de realizar la prueba.
- Los cartuchos son estables un máximo de 6 semanas a una temperatura entre 2 °C y 45 °C, después de abrir la bolsa.

## E. Materiales requeridos pero no suministrados

- Sistema GeneXpert Dx o sistema GeneXpert Infinity (el número de catálogo varía según la configuración): instrumento GeneXpert, ordenador, lector de códigos de barras y manual del operador
  - Para el sistema GeneXpert Dx: Software versión 4.0 o superior
  - Para el sistema GeneXpert Infinity-48: Software Xpertise versión 4.3 o superior
  - Para los sistemas GeneXpert Infinity-80 e Infinity-48s: Software Xpertise versión 6.0 o superior
- Impresora: Si se requiere una impresora, póngase en contacto con el representante de ventas de Cepheid para organizar la compra de una impresora recomendada.
- Recipientes herméticos y estériles, con tapa de rosca, para recogida de muestras
- Guantes desechables y protección ocular
- Etiquetas o rotulador de etiquetas indeleble
- Pipetas estériles para procesamiento de muestras

## F. Advertencias, precauciones y peligros químicos

### F.1 Advertencias y precauciones






- Trate todas las muestras biológicas, incluidos los cartuchos usados, como posibles agentes transmisores de infecciones. Con frecuencia es imposible saber qué muestras podrían ser infecciosas, por lo que todas las muestras biológicas deben tratarse tomando las precauciones habituales. Las directrices para la manipulación de las muestras están disponibles en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades<sup>6</sup> y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio<sup>7</sup> de Estados Unidos.
- 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 del centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- No se ha demostrado el rendimiento del ensayo Xpert MTB/RIF para la detección del complejo MTB con muestras no respiratorias, como sangre, LCR, heces u orina. No se ha evaluado el rendimiento del ensayo Xpert MTB/RIF con muestras procesadas mediante métodos diferentes a los descritos en este prospecto.
- Si se procesa más de una muestra a la vez, abra solo un cartucho; añada la muestra tratada con el reactivo para muestras y cierre la tapa del cartucho antes de procesar la siguiente muestra. Cámbiese los guantes entre una muestra y la siguiente.
- No abra la tapa del cartucho del ensayo Xpert MTB/RIF, salvo para añadir la muestra tratada.
- No utilice cartuchos que se hayan caído después de extraerlos del kit.
- No utilice cartuchos que se hayan caído o agitado, o cuyo contenido se haya derramado, después de añadir la muestra tratada. Si el cartucho se agita o se deja caer después de abrir la tapa, es posible que se obtengan resultados falsos o indeterminados.
- No utilice cartuchos que parezcan mojados o que tengan el precinto roto.
- No utilice cartuchos con tubos de reacción dañados.
- Cada cartucho del ensayo Xpert MTB/RIF se utiliza para procesar una sola prueba. No reutilice los cartuchos procesados.
- Consulte los requisitos de eliminación de residuos médicos y peligrosos de su país o región. Si las normativas no proporcionan indicaciones claras sobre la eliminación adecuada de muestras o cartuchos usados, estos deben tratarse como posibles agentes transmisores de infecciones. Elimine los cartuchos usados como residuos químicos sanitarios peligrosos en recipientes para residuos resistentes según las pautas de la OMS (Organización Mundial de la Salud) sobre manipulación y eliminación de residuos médicos.



**F.2 Peligros químicos<sup>8,9</sup>****Reactivo para muestras:**

El reactivo para muestras contiene hidróxido de sodio (pH > 12,5) e isopropanol.

- Pictogramas de peligro del SGA de la ONU:   
- Palabra de advertencia: PELIGRO
- **Declaraciones de peligro del SGA de la ONU**
  - Líquido y vapores inflamables
  - Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves
  - Provoca lesiones oculares graves
  - Se sospecha que provoca defectos genéticos.
  - Se sospecha que perjudica la fertilidad o daña al feto.
  - Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas
- **Declaraciones de precaución del SGA de la ONU**
  - Prevención
    - Pedir instrucciones especiales antes del uso.
    - No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad.
    - Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta o superficies calientes. No fumar.
    - Mantener el recipiente herméticamente cerrado.
    - No respirar la niebla, los vapores ni el aerosol.
    - Lavarse concienzudamente tras la manipulación.
    - Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
    - Utilizar el equipo de protección individual obligatorio.
  - Respuesta
    - En caso de incendio: Utilizar los medios adecuados para apagarlo.
    - EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar.
    - Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.
    - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse.
    - Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas.
    - Se necesita un tratamiento específico (ver información adicional de medidas de primeros auxilios).
    - 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.
    - EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito.
    - EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico.
    - Consultar a un médico en caso de malestar.
  - Conservación/eliminación
    - Eliminar el contenido/el recipiente en conformidad con los reglamentos locales, regionales, nacionales e internacionales.

## G. Recogida, transporte y conservación de las muestras



Este ensayo permite procesar muestras de sedimento resuspendido o esputo fresco. Consulte la Tabla 1 para determinar el volumen adecuado de la muestra.

**Tabla 1. Volumen de muestra requerido**

| Tipo de muestra     | Volumen mínimo para una prueba | Volumen total mínimo para una prueba y su repetición |
|---------------------|--------------------------------|--|
| Sedimento de esputo | 0,5 ml                         | 1 ml   |
| Esputo fresco       | 1 ml                           | 2 ml   |

**Nota** Para recoger una muestra de esputo fresco, siga las instrucciones de este apartado. El paciente debe estar sentado o de pie.

### G.1 Conservación y transporte



Siempre que sea posible, transporte y conserve las muestras a una temperatura entre 2 °C y 8 °C antes de procesarlas. En caso necesario, las muestras pueden conservarse hasta ≤3 días a una temperatura máxima de 35 °C y a una temperatura entre 2 °C y 8 °C durante 4 a 10 días.

### G.2 Procedimiento de recogida de muestras

1. Indique al paciente que se enjuague la boca con agua dos veces.
2. Abra la tapa del recipiente de recogida de esputo.
3. Indique al paciente que inhale profundamente, tosa fuerte y expectore el material en el recipiente. Evite los derrames o que se acumule suciedad en el exterior del recipiente.
4. Tape bien el dispositivo de recogida y luego envíe el recipiente al área de procesamiento.

## H. Procedimientos del ensayo

### H.1 Preparación de los sedimentos del esputo

**Nota** Rechace las muestras con partículas de alimentos u otras partículas sólidas evidentes.

*Requisitos de volumen:* Los sedimentos de esputo preparados según el método de Kent y Kubica<sup>10</sup> y resuspendidos en 67 mM de tampón de fosfato/H<sub>2</sub>O pueden analizarse mediante el ensayo Xpert MTB/RIF. Después de la resuspensión, conserve al menos 0,5 ml del sedimento resuspendido para el ensayo Xpert MTB/RIF.

1. Etiquete cada cartucho Xpert MTB/RIF con la identificación de la muestra. Consulte la Figura 1.

**Nota** Escriba en los lados del cartucho o pegue una etiqueta de identificación. No ponga la etiqueta en la tapa del cartucho ni cubra el código de barras 2D existente en el cartucho.

2. Con una pipeta estéril, transfiera al menos 0,5 ml del gránulo resuspendido total a un tubo cónico con tapón de rosca para el ensayo Xpert MTB/RIF. También puede procesar toda la muestra en el tubo original.



**Nota** Almacene los sedimentos resuspendidos a una temperatura entre 2 °C y 8 °C, si no se procesan inmediatamente. No los conserve durante más de 12 horas.

3. Con una pipeta de transferencia, transfiera 1,5 ml de reactivo para muestras del ensayo Xpert MTB/RIF a los 0,5 ml de sedimento resuspendido.
4. Agite enérgicamente 10 a 20 veces o utilice un mezclador vórtex durante 10 segundos como mínimo.

**Nota** Cada movimiento adelante y atrás se cuenta como una vez.

5. Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente y luego agite la muestra enérgicamente 10 a 20 veces o utilice un mezclador vórtex durante 10 segundos como mínimo.
6. Incube la muestra a temperatura ambiente durante 5 minutos más.

## H.2 Preparación de la muestra de esputo expectorada

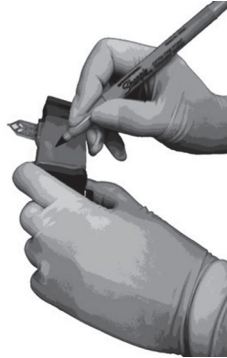
**Nota** Rechace las muestras con partículas de alimentos u otras partículas sólidas evidentes.

---

1. Etiquete cada cartucho Xpert MTB/RIF con la identificación de la muestra. Consulte la Figura 1.

**Nota** Escriba en los lados del cartucho o pegue una etiqueta de identificación. No ponga la etiqueta en la tapa del cartucho ni cubra el código de barras 2D existente en el cartucho.

---



**Figura 1. Anotación en el cartucho con un rotulador permanente**

2. En un recipiente hermético para recogida de esputos:
  - A. Abra con cuidado la tapa del recipiente de recogida de esputos.

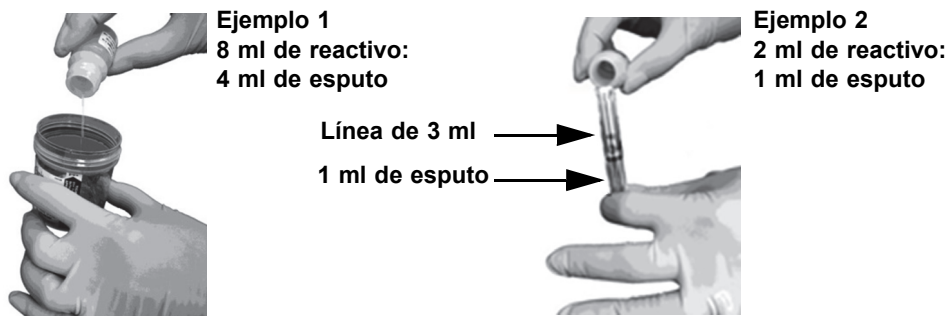


**Figura 2. Apertura del recipiente para muestras**

- B. Vierta aproximadamente 2 veces el volumen del reactivo para muestras en el esputo (dilución 2:1, reactivo:esputo).

**Nota** Deseche el reactivo de para muestras sobrante y el frasco en un recipiente para residuos químicos.

---



**Figura 3. Ejemplos de diluciones 2:1**

- C. Tape y cierre bien.
- D. Agite enérgicamente 10 a 20 veces o utilice un mezclador vórtex durante 10 segundos como mínimo.

**Nota** Cada movimiento adelante y atrás se cuenta como una vez.

---



3. Incube la muestra durante 10 minutos a temperatura ambiente, y luego agítela enérgicamente 10 a 20 veces o utilice un mezclador vórtex durante 10 segundos como mínimo.
4. Incube la muestra a temperatura ambiente durante 5 minutos más.

### H.3 Preparación del cartucho

**Nota** Si utiliza el sistema GeneXpert Dx, comience la prueba en las 4 horas siguientes a añadir la muestra al cartucho. Si está utilizando un sistema GeneXpert Infinity, asegúrese de iniciar la prueba y poner el cartucho en la cinta transportadora en los 30 minutos siguientes a la adición de la muestra tratada con el reactivo para muestras al cartucho. El software Xpertise lleva un seguimiento de la vida útil restante, para que las pruebas se procesen antes de que transcurra el tiempo de caducidad de cuatro horas en el instrumento.

1. Abra la tapa del cartucho y luego abra el recipiente para muestras.
2. Con la pipeta de transferencia suministrada, aspire la muestra líquida hasta la línea de la pipeta. No siga procesando la muestra si el volumen es insuficiente. Consulte la Figura 4.



**Figura 4. Aspiración hasta la línea de la pipeta**

3. Transfiera la muestra a la cámara de muestras del cartucho del Xpert MTB/RIF. Dispense la muestra lentamente para reducir al mínimo el riesgo de formación de aerosoles. Consulte la Figura 5.



**Figura 5. Dispensación de la muestra licuada descontaminada al interior de la cámara de muestras del cartucho**

4. Cierre firmemente la tapa del cartucho.

#### **Importante**

Si utiliza el sistema GeneXpert Dx, asegúrese de cargar el cartucho en el instrumento e inicie la prueba en las 4 horas siguientes a la preparación del cartucho. Si está utilizando un sistema GeneXpert Infinity, asegúrese de iniciar la prueba y poner el cartucho en la cinta transportadora en los 30 minutos siguientes a la adición de la muestra tratada con el reactivo para muestras al cartucho. El software Xpertise lleva un seguimiento de la vida útil restante, para que las pruebas se procesen antes de que transcurra el tiempo de caducidad de cuatro horas en el instrumento.

#### H.4 Inicio de la prueba

**Importante** Compruebe que se ha importado al software el archivo de definición del ensayo (ADF) del Xpert MTB/RIF. 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*.

**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:
  - Si está utilizando el instrumento GeneXpert Dx, encienda primero el instrumento y, a continuación, encienda el ordenador. El software GeneXpert Dx se iniciará automáticamente o podría ser necesario hacer doble clic en el icono de acceso directo del software GeneXpert Dx en el escritorio de Windows®.

o

  - Si está utilizando el instrumento GeneXpert Infinity, ponga en marcha el instrumento. El software GeneXpert se ejecutará automáticamente o podría ser necesario hacer doble clic en el icono de acceso directo del software Xpertise en el escritorio de Windows.
2. Inicie sesión en el software del sistema del instrumento GeneXpert con su nombre de usuario y su contraseña.
3. En la ventana del sistema GeneXpert Dx, haga clic en **Crear prueba (Create Test)** (GeneXpert Dx) o en **Solicitudes (Orders)** y **Solicitar prueba (Order test)** (Infinity). Aparecerá la ventana Crear prueba (Create Test).
4. Escanee o escriba la Id. paciente (Patient ID). Si escribe la Id. paciente (Patient ID), asegúrese de escribirla correctamente. La Id. paciente (Patient ID) se asocia a los resultados de la prueba, y se muestra en la ventana Ver resultados (View Results) y en todos los informes.
5. Escanee o escriba la Id. muestra (Sample ID). Si escribe la Id. muestra (Sample ID), asegúrese de escribirla correctamente. La Id. muestra (Sample ID) se asocia a los resultados de la prueba, y se muestra en la ventana Ver resultados (View Results) y en todos los informes.
6. Escanee el código de barras del cartucho Xpert MTB/RIF. El software utiliza la información del código de barras para rellenar automáticamente los cuadros de los campos siguientes: Seleccionar ensayo (Select Assay), Id. del lote (Reagent Lot ID), N° de serie del cartucho (Cartridge SN) y Fecha de caducidad (Expiration Date).
7. Haga clic en **Iniciar prueba (Start Test)** (GeneXpert Dx) o en **Enviar (Submit)** (Infinity). En el cuadro de diálogo que aparece, introduzca su contraseña, si es necesario.
8. En el sistema GeneXpert Infinity, coloque el cartucho en la cinta transportadora. El cartucho se cargará automáticamente, se realizará la prueba y el cartucho usado se colocará en el recipiente de residuos.

o

Para el instrumento GeneXpert Dx:

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

### H.5 Eliminación de los cartuchos usados

1. Elimine los cartuchos usados en un recipiente para residuos biopeligrosos de laterales duros de acuerdo con las prácticas estándar de su institución. Consulte la Figura 6.



**Figura 6. Elimine los cartuchos usados correctamente**

2. No queme los cartuchos usados. Consulte la Figura 7.



**Figura 7. No queme los cartuchos usados**

3. No elimine los cartuchos usados en un vertedero ni en la basura. Consulte la Figura 8.



**Figura 8. No elimine los cartuchos usados en un vertedero**

## H.6 Visualización e impresión de los resultados

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

**Nota** Si los resultados se notifican mediante un LIS, confirme que los resultados del LIS coinciden con los resultados del sistema para el campo Id. paciente (Patient ID); si no coinciden, notifique solamente los resultados del sistema.

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

## I. Control de calidad

### CONTROL

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

**SPC:** confirma que la muestra se procesó correctamente. El SPC contiene esporas no infecciosas en forma de una torta de esporas secas que se incluye en cada cartucho para verificar el procesamiento adecuado de MTB. El SPC confirma que se ha producido la lisis de MTB si los microorganismos están presentes y verifica que el procesamiento de la muestra es adecuado. Además, este control detecta la inhibición asociada a la muestra del ensayo de PCR en tiempo real.

El SPC debe ser positivo en una muestra negativa, y puede ser negativo o positivo en una muestra positiva. El SPC se considera superado si cumple los criterios de aceptación validados. El resultado de la prueba será **NO VÁLIDO (INVALID)** si el SPC no se detecta en una prueba negativa.

**PCC:** Antes de iniciar la reacción PCR, el sistema del instrumento GeneXpert mide la señal de fluorescencia de las sondas para monitorizar la rehidratación de las microesferas, el llenado del tubo de reacción, la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes. El PCC se considera superado si cumple los criterios de aceptación validados.

## J. Interpretación de los resultados

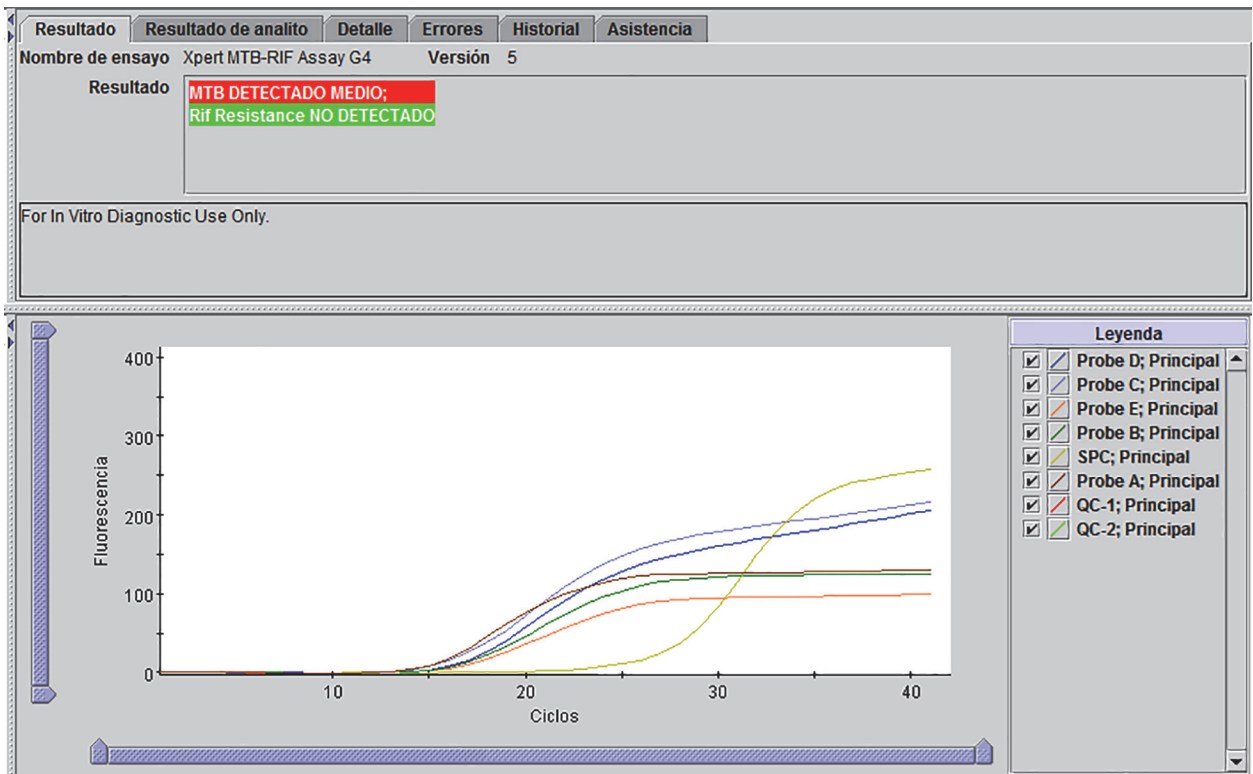
El sistema del instrumento GeneXpert genera los resultados a partir de las señales fluorescentes medidas y los algoritmos de cálculo integrados. Los resultados pueden verse en la ventana Ver resultados (View Results). Consulte la Figura 9, la Figura 10 y la Figura 11 para ver ejemplos específicos, y consulte la Tabla 2 para la lista de todos los resultados posibles.

**Tabla 2. Resultados e interpretaciones del ensayo Xpert MTB/RIF**

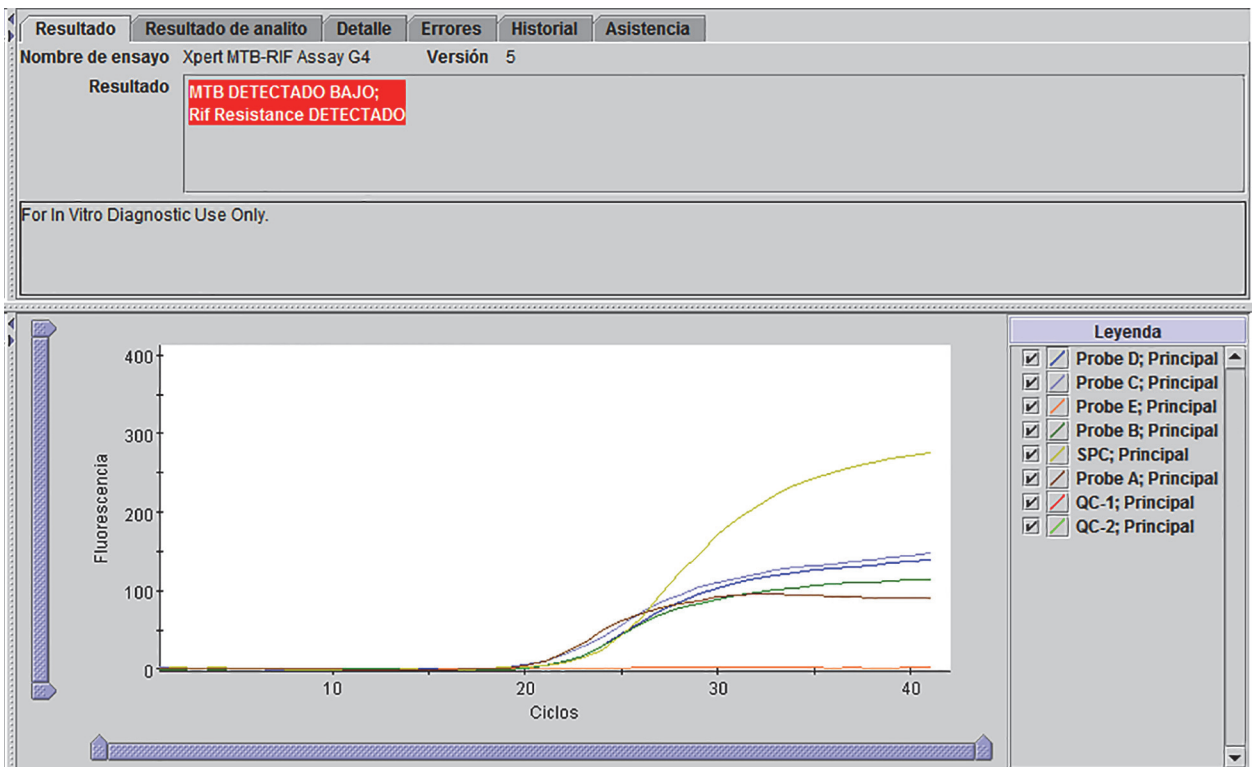
| Resultado   | Interpretación  |
|---|---|
| <b>MTB DETECTADO MEDIO; Rif Resistance NO DETECTADO (MTB DETECTED MEDIUM; Rif Resistance NOT DETECTED)</b><br>Consulte la Figura 9. | La muestra contiene la secuencia diana de MTB: <ul style="list-style-type: none"> <li>• No se ha detectado ninguna mutación en el gen rpoB.</li> <li>• SPC: NA (no aplicable). No se requiere una señal SPC porque la amplificación de MTB puede competir con este control.</li> <li>• Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS). Todos los resultados de la comprobación de la sonda son aceptables.</li> </ul>  |
| <b>MTB DETECTADO BAJO; Rif Resistance DETECTADO (MTB DETECTED LOW; Rif Resistance DETECTED)</b><br>Consulte la Figura 10.           | La muestra contiene la secuencia diana de MTB: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Se ha detectado una mutación del gen rpoB que está dentro del ajuste válido de Ct delta.</li> <li>• SPC: NA (N/A) (no aplicable). No se requiere una señal SPC porque la amplificación de MTB puede competir con este control.</li> <li>• Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS). Todos los resultados de la comprobación de la sonda son aceptables.</li> </ul> |
| <b>MTB DETECTADO; Resistencia a Rif INDETERMINADA (MTB DETECTED; Rif Resistance INDETERMINATE)</b>                                  | La muestra contiene la secuencia diana de MTB: <ul style="list-style-type: none"> <li>• No se pudo determinar la resistencia a RIF debido a una detección insuficiente de la señal.</li> <li>• SPC: NA (no aplicable). No se requiere una señal SPC porque la amplificación de MTB puede competir con este control.</li> <li>• Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS). Todos los resultados de la comprobación de la sonda son aceptables.</li> </ul>    |

Tabla 2. Resultados e interpretaciones del ensayo Xpert MTB/RIF

| Resultado  | Interpretación  |
|--|---|
| <b>MTB no detectado<br/>(MTB Not Detected)</b><br>Consulte la Figura 11. | No se ha detectado la secuencia diana de MTB en la muestra: <ul style="list-style-type: none"> <li>• SPC: SUPERADO (PASS). El SPC cumplió los criterios de aceptación.</li> <li>• Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS). Todos los resultados de la comprobación de la sonda son aceptables.</li> </ul>   |
| <b>NO VÁLIDO<br/>(INVALID)</b>   | No puede determinarse la presencia o ausencia de MTB. El SPC no satisface los criterios de aceptación, la muestra no se procesó correctamente o la PCR se ha inhibido. Repita la prueba. Consulte la Apartado J.2, Procedimiento de repetición de la prueba. <ul style="list-style-type: none"> <li>• MTB NO VÁLIDO (INVALID): No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN del MTB.</li> <li>• SPC: NO SUPERADO (FAIL). El resultado de la diana de MTB es negativo, y el Ct del SPC no está dentro del intervalo válido.</li> <li>• Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS). Todos los resultados de la comprobación de la sonda son aceptables.</li> </ul> |
| <b>ERROR</b>   | No puede determinarse la presencia o ausencia de MTB. Repita la prueba. Consulte la Apartado J.2, Procedimiento de repetición de la prueba. <ul style="list-style-type: none"> <li>• MTB: SIN RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>• SPC: SIN RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>• Comprobación de la sonda: NO SUPERADO (FAIL). Todos o uno de los resultados de la comprobación de la sonda no superaron la prueba.</li> </ul> Nota: Si la comprobación de la sonda se superó, el error se debe a un fallo en los componentes del sistema.  |
| <b>SIN RESULTADO<br/>(NO RESULT)</b>                                     | No puede determinarse la presencia o ausencia de MTB. Repita la prueba. Consulte la Apartado J.2, Procedimiento de repetición de la prueba. SIN RESULTADO (NO RESULT) indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, si el operador detuvo una prueba en curso. <ul style="list-style-type: none"> <li>• MTB: SIN RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>• SPC: SIN RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>• Comprobación de la sonda: NA (no aplicable)</li> </ul>  |



**Figura 9. MTB DETECTADO MEDIO; Rif Resistance NO DETECTADO (Vista de usuario detallada del GeneXpert Dx)**



**Figura 10. MTB DETECTADO BAJO; Rif Resistance DETECTADO (Vista de usuario detallada del GeneXpert Dx)**

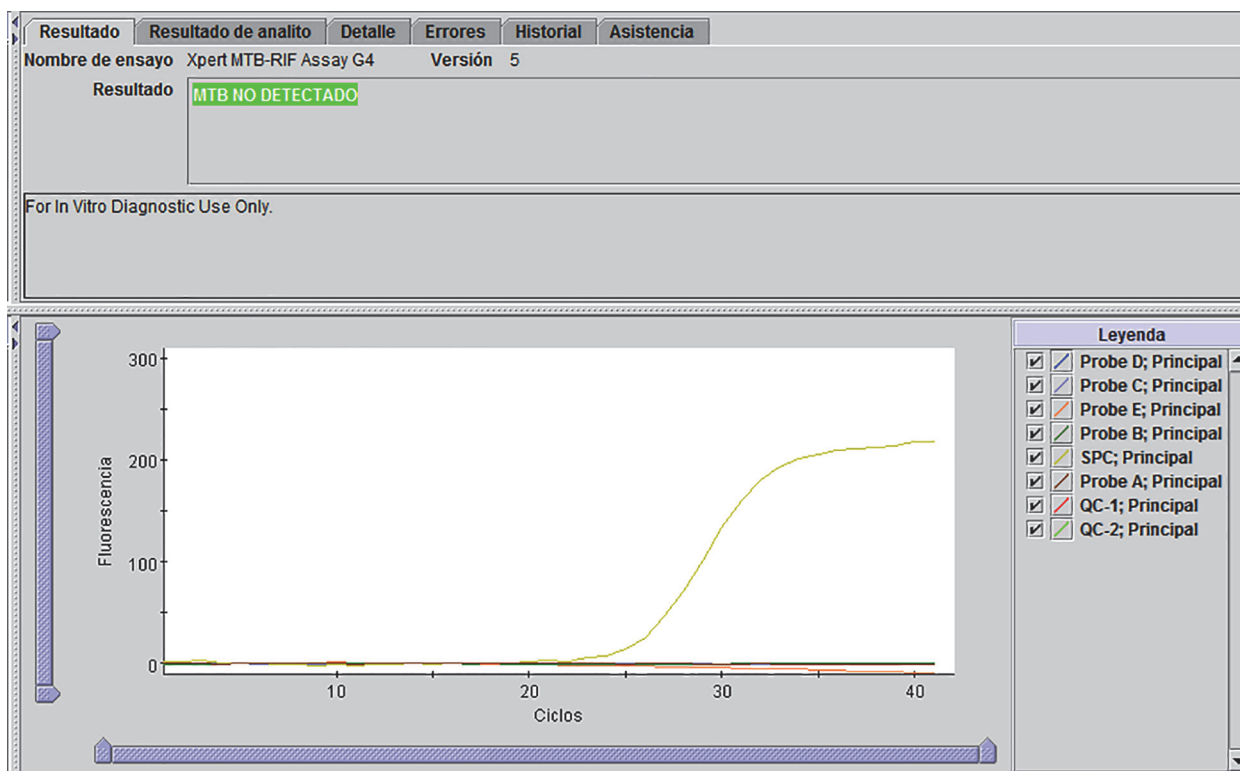


Figura 11. MTB NO DETECTADO (Vista de usuario detallada del GeneXpert Dx)

### J.1 Motivos para repetir el ensayo

Repita la prueba usando un nuevo cartucho si se produce uno de los siguientes resultados:

- Un resultado **NO VÁLIDO (INVALID)** indica que el control SPC falló. La muestra no se procesó correctamente o la PCR se inhibió.
- Un resultado de **ERROR** indica que el PCC falló y el ensayo se interrumpió posiblemente debido a que el tubo de reacción no se llenó bien, a que se detectó un problema de integridad de la sonda de reactivo, a que se excedieron los límites máximos de presión o a que un módulo del GeneXpert falló.
- **SIN RESULTADO (NO RESULT)** indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, si el operador detuvo una prueba en curso.

### J.2 Procedimiento de repetición de la prueba

Si sobra esputo fresco o sedimento reconstituido, utilice siempre reactivo para muestras nuevo para descontaminar y licuar el esputo antes de realizar el ensayo. Consulte el Apartado H.1, Preparación de los sedimentos del esputo o el Apartado H.2, Preparación de la muestra de esputo expectorada.

Si sobra suficiente muestra tratada con reactivo para muestras y aún no han pasado 4 horas desde la adición inicial de dicho reactivo a la muestra, puede utilizar la muestra sobrante para preparar y procesar un nuevo cartucho. Al repetir la prueba, utilice siempre un cartucho nuevo. Consulte la Apartado H.3, Preparación del cartucho.

### Nota

Si se utiliza un instrumento Infinity, la repetición de la prueba debe iniciarse en módulos que estén designados como módulos STAT reservados.

## K. Limitaciones

El rendimiento del ensayo Xpert MTB/RIF se ha validado únicamente con los procedimientos indicados en este prospecto. Las modificaciones de estos procedimientos pueden afectar al rendimiento de la prueba. Los resultados del ensayo Xpert MTB/RIF se deben interpretar junto con otros datos clínicos y de laboratorio a disposición del médico.

Debido a que la detección de MTB depende del número de microorganismos presentes en la muestra, los resultados fiables dependerán de la recogida, manipulación y conservación correctas de las muestras. Se pueden obtener resultados erróneos como consecuencia de una recogida incorrecta de la muestra, un seguimiento inadecuado del procedimiento de recogida de muestras, una manipulación o conservación inadecuadas, un error técnico, una confusión con las muestras o una concentración insuficiente del material de partida. El estricto cumplimiento de las instrucciones de este prospecto es necesario para evitar resultados erróneos.

Un resultado positivo de la prueba no indica necesariamente la presencia de microorganismos viables. Sin embargo, permite presuponer la presencia de MTB y la resistencia a RIF.

Los resultados de la prueba pueden verse afectados por un tratamiento antibiótico concurrente o anterior. Por lo tanto, el éxito o el fracaso terapéutico no se pueden evaluar con esta prueba debido a que el ADN puede persistir tras el tratamiento antimicrobiano.

Las mutaciones o polimorfismos en las regiones de unión de los cebadores o de las sondas pueden afectar a la detección de cepas nuevas o desconocidas de MDR-MTB o resistentes a rifampina, y producir un resultado negativo falso.

Los resultados semicuantitativos **MTB DETECTADO BAJO (MTB DETECTED LOW)** o **MTB DETECTADO MUY BAJO (MTB DETECTED VERY LOW)** con **Resistencia a RIF DETECTADA (RIF Resistance DETECTED)** pueden requerir confirmación de los resultados de resistencia a rifampicina por DST u otro método, en particular cuando existe un bajo nivel de sospecha clínica de MTB-TB.

## L. Eficacia diagnóstica

Este apartado contiene una lista de las características de rendimiento y las limitaciones del ensayo Xpert MTB/RIF.

### L.1 Pruebas de rendimiento – Clínicas

Las características de rendimiento del ensayo Xpert MTB/RIF para la detección de TB y de resistencia a rifampicina se evaluaron en cinco centros en Asia, Europa, África y América del Sur.<sup>11</sup>

El estudio se realizó de acuerdo con el protocolo de la Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND, Fundación para la obtención de medios de diagnóstico innovadores) *Estudio de evaluación del Xpert MTB: Evaluación del ensayo FIND/Cepheid Xpert MTB para la detección de TB pulmonar en esputo de adultos sintomáticos*.

Los sujetos incluyeron personas con síntomas de TB pulmonar y riesgo de resistencia a varios fármacos. Para seleccionar a los sujetos, se obtuvieron tres muestras de esputo para analizarlas con el ensayo Xpert MTB/RIF y las pruebas de referencia.

El rendimiento del ensayo Xpert MTB/RIF se comparó con:

- Microscopía de frotis ZN<sup>12</sup>
- Cultivo líquido (Becton Dickinson BACTEC™ 960 MGIT™) y sólido (Löwenstein-Jenson)<sup>13</sup>
- Pruebas de sensibilidad a fármacos (DST, drug susceptibility testing) en medio L-J usando el método de las proporciones o en MGIT, con una cobertura mínima de cuatro fármacos de uso primario<sup>14</sup>
- Pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT, nucleic acid amplification test) estándar (prueba directa de Mycobacterium TB amplificada de Gen-Probe y prueba de MTB AMPLICOR® de Roche), en el caso de que se realicen

Las muestras incluyeron muestras de esputo recogidas para pruebas sistemáticas de pacientes con sospecha de infección por tuberculosis y riesgo de TB resistente a varios fármacos.

### L.2 Resultados generales

Se analizó el MTB y la resistencia a RIF en un total de 1448 muestras de esputo con el ensayo Xpert MTB/RIF, y se utilizó baciloscopia y cultivo bacteriano. En tres de los centros participantes, las muestras se evaluaron también con la prueba AMPLICOR MTB (UCT, Sudáfrica e India) o con la prueba directa de Mycobacterium TB amplificada (Azerbaián). De los 1448 participantes, 563 tuvieron baciloscopia y cultivo positivos para TB (S+C+), 170 tuvieron baciloscopia negativa y cultivo positivo para TB (S-C+), y se excluyó la TB en 618. Los 97 pacientes restantes fueron tratados para TB en función de los síntomas clínicos y mejoraron con el tratamiento para la TB, pero no se realizaron pruebas de baciloscopia ni cultivos; estos pacientes no se incluyen en los análisis de datos presentados en las tablas.



### L.3 Resultados de detección de MTB

En general, cuando se consideraron los resultados combinados de tres muestras de esputo por paciente, el ensayo Xpert MTB/RIF demostró una sensibilidad entre muestras positivas en los cultivos del 97,3 % (713/733). En los pacientes S+C+, la sensibilidad del ensayo Xpert MTB/RIF fue del 99,5 % (560/563); en los pacientes S-C+, la sensibilidad fue del 90,0 % (153/170). La especificidad del ensayo Xpert MTB/RIF en pacientes sin TB fue del 97,9 % (605/618). Consulte la Tabla 3.

**Tabla 3. Rendimiento del ensayo Xpert MTB/RIF en muestras de esputo<sup>a,b</sup>**

| Centro      | Sensibilidad S+C+                      | Sensibilidad S-C+                      | Especificidad                          |
|-------------|--|--|--|
| Perú        | 100 %<br>(199/199)<br>[98,1 %-100 %]   | 83,3 %<br>(10/12)<br>[55,2 %-95,3 %]   | 100 %<br>(102/102)<br>[96,4 %-100 %]   |
| Azerbaiyán  | 100 %<br>(76/76)<br>[95,2 %-100 %]     | 92,3 %<br>(60/65)<br>[83,2 %-96,7 %]   | 95,8 %<br>(69/72)<br>[88,5 %-98,6 %]   |
| Sudáfrica 1 | 99,0 %<br>(95/96)<br>[94,3 %-99,8 %]   | 90,4 %<br>(47/52)<br>[79,4 %-95,8 %]   | 98,4 %<br>(186/189)<br>[95,4 %-99,5 %] |
| Sudáfrica 2 | 100 %<br>(30/30)<br>[88,6 %-100 %]     | 86,7 %<br>(13/15)<br>[62,1 %-96,3 %]   | 97,3 %<br>(213/219)<br>[94,2 %-98,7 %] |
| India       | 98,8 %<br>(160/162)<br>[95,6 %-99,7 %] | 88,5 %<br>(23/26)<br>[71,0 %-96,0 %]   | 97,2 %<br>(35/36)<br>[85,8 %-99,5 %]   |
| Total       | 99,5 %<br>(560/563)<br>[98,4 %-99,8 %] | 90,0 %<br>(153/170)<br>[84,6 %-93,7 %] | 97,9 %<br>(605/618)<br>[96,4 %-98,8 %] |

a. Representa resultados de 3 pruebas Xpert, 3 baciloscopias y 4 cultivos.

b. S=baciloscopia; C=cultivo

Cuando se consideró solamente una muestra de esputo directo, la sensibilidad del ensayo Xpert MTB/RIF fue del 97,8 % (545/557) en pacientes S+C+ y del 73,1 % (122/167) en pacientes S-C+. La especificidad fue del 99,0 % (605/611) en pacientes sin TB.

### L.4 Resistencia a RIF

En general, cuando se consideraron los resultados combinados de tres muestras de esputo por paciente, el ensayo Xpert MTB/RIF demostró una sensibilidad para detectar la resistencia a RIF en pacientes con resistencia fenotípica a RIF del 96,1 % (195/203). La especificidad del ensayo Xpert MTB/RIF en pacientes con sensibilidad fenotípica a RIF fue del 98,6 % (502/509). Consulte la Tabla 4.

Tabla 4. Rendimiento del ensayo Xpert MTB/RIF en muestras de esputo<sup>a</sup>

| Centro      | Sensibilidad en casos resistentes a RIF | Especificidad en casos sensibles a RIF |
|-------------|---|--|
| Perú        | 100 %<br>(16/16)<br>[80,6 %-100 %]      | 98,4 %<br>(190/193)<br>[95,5 %-99,5 %] |
| Azerbaiyán  | 95,5 %<br>(42/44)<br>[84,9 %-98,7 %]    | 98,9 %<br>(90/91)<br>[94,0 %-99,8 %]   |
| Sudáfrica 1 | 93,8 %<br>(15/16)<br>[71,7 %-98,9 %]    | 100 %<br>(126/126)<br>[97,0 %-100 %]   |
| Sudáfrica 2 | 100 %<br>(3/3)<br>[43,8 %-100 %]        | 100 %<br>(38/38)<br>[90,8 %-100 %]     |
| India       | 96,0 %<br>(119/124)<br>[90,9 %-98,3 %]  | 95,1 %<br>(58/61)<br>[86,5 %-98,3 %]   |
| Total       | 96,1 %<br>(195/203)<br>[92,4 %-98,0 %]  | 98,6 %<br>(502/509)<br>[97,2 %-99,3 %] |

a. Representa resultados de 3 pruebas Xpert, 3 baciloscopias y 4 cultivos.

Cuando se consideró una sola muestra de esputo directo, la sensibilidad del ensayo Xpert MTB/RIF para la detección de la resistencia a RIF fue del 97,2 % (141/145) en pacientes resistentes a RIF. La especificidad en casos sensibles a RIF fue del 98,3 % (412/419). Consulte la Tabla 5.

Tabla 5. Rendimiento del ensayo Xpert MTB/RIF en muestras de esputo<sup>a</sup>

| Centro      | Sensibilidad en casos resistentes a RIF | Especificidad en casos sensibles a RIF |
|-------------|---|--|
| Perú        | 100 %<br>(16/16)<br>[80,6 %-100 %]      | 98,4 %<br>(180/183)<br>[95,3 %-99,4 %] |
| Azerbaiyán  | 97,4 %<br>(38/39)<br>[86,8 %-99,5 %]    | 98,7 %<br>(74/75)<br>[92,8 %-99,8 %]   |
| Sudáfrica 1 | 90,9 %<br>(10/11)<br>[62,3 %-98,4 %]    | 98,1 %<br>(102/104)<br>[93,3 %-99,5 %] |
| Sudáfrica 2 | 100 %<br>(1/1)<br>[20,7 %-100 %]        | 100 %<br>(23/23)<br>[85,7 %-100 %]     |
| India       | 97,4 %<br>(76/78)<br>[91,1 %-99,3 %]    | 97,1 %<br>(33/34)<br>[85,1 %-99,5 %]   |
| Total       | 97,2 %<br>(141/145)<br>[93,1 %-98,9 %]  | 98,3 %<br>(412/419)<br>[96,6 %-99,2 %] |

a. Representa los resultados de 1 prueba Xpert directa, 3 frotis y 4 cultivos.

Los resultados del ensayo Xpert MTB/RIF con muestras de los centros en los que también se realizó una prueba NAAT se muestra en la Tabla 6. El resultado de la prueba NAAT se muestra con fines comparativos.

**Tabla 6. Comparación del rendimiento del ensayo Xpert MTB/RIF y de una prueba NAAT alternativa en muestras de esputo**

| Estadística       | Análisis <sup>a</sup> | Azerbaiyán                           | Sudáfrica 1                            | India                                  | Total                                  |
|-------------------|-----------------------|--------------------------------------|--|--|--|
| Sensibilidad S-C+ | Xpert(3)              | 100 %<br>(76/76)<br>[95,2 %-100 %]   | 99,0 %<br>(95/96)<br>[94,3 %-99,8 %]   | 98,8 %<br>(160/162)<br>[95,6 %-99,7 %] | 99,1 %<br>(331/334)<br>[97,4 %-99,8 %] |
|                   | Xpert(1)              | 97,3 %<br>(73/75)<br>[90,8 %-99,3 %] | 96,8 %<br>(92/95)<br>[91,1 %-98,9 %]   | 98,8 %<br>(159/161)<br>[95,6 %-99,7 %] | 97,9 %<br>(324/331)<br>[95,7 %-99,2 %] |
|                   | NAAT                  | 100 %<br>(76/76)<br>[95,2 %-100 %]   | 93,7 %<br>(89/95)<br>[86,9 %-97,1 %]   | 94,2 %<br>(147/156)<br>[89,4 %-96,9 %] | 95,4 %<br>(312/327)<br>[92,3 %-97,4 %] |
| Sensibilidad S-C- | Xpert(3)              | 92,3 %<br>(60/65)<br>[83,2 %-96,7 %] | 90,4 %<br>(47/52)<br>[79,4 %-95,8 %]   | 88,5 %<br>(23/26)<br>[71,0 %-96,0 %]   | 90,9 %<br>(130/143)<br>[85,0 %-95,1 %] |
|                   | Xpert(1)              | 68,8 %<br>(44/64)<br>[56,6 %-78,8 %] | 86,3 %<br>(44/51)<br>[74,3 %-93,2 %]   | 69,2 %<br>(18/26)<br>[50,0 %-83,5 %]   | 75,2 %<br>(106/141)<br>[67,2 %-82,1 %] |
|                   | NAAT                  | 66,2 %<br>(43/65)<br>[54,0 %-76,5 %] | 45,7 %<br>(16/35)<br>[30,5 %-61,8 %]   | 72,0 %<br>(18/25)<br>[52,4 %-85,7 %]   | 61,6 %<br>(77/125)<br>[52,5 %-70,2 %]  |
| Especificidad     | Xpert(3)              | 95,8 %<br>(69/72)<br>[88,5 %-98,6 %] | 98,4 %<br>(186/189)<br>[95,4 %-99,5 %] | 97,2 %<br>(35/36)<br>[85,8 %-99,5 %]   | 97,6 %<br>(290/297)<br>[95,2 %-99,1 %] |
|                   | Xpert(1)              | 97,2 %<br>(69/71)<br>[90,3 %-99,2 %] | 99,5 %<br>(185/186)<br>[97,0 %-99,9 %] | 100 %<br>(35/35)<br>[90,1 %-100 %]     | 99,0 %<br>(289/292)<br>[97,0 %-99,8 %] |
|                   | NAAT                  | 95,8 %<br>(69/72)<br>[88,5 %-98,6 %] | 100 %<br>(187/187)<br>[98,0 %-100 %]   | 100 %<br>(36/36)<br>[90,4 %-100 %]     | 99,0 %<br>(292/295)<br>[97,1 %-99,8 %] |

a. Xpert(3) = resultados de 3 pruebas Xpert, 3 frotis, y 4 cultivos; Xpert(1) = resultados de 1 prueba Xpert directa, 3 frotis y 4 cultivos; NAAT = ProbeTec (Azerbaiyán) y AMPLICOR (Sudáfrica e India); NAAT «en el límite» tratado como negativo.

De los ciclos del ensayo Xpert MTB/RIF realizados con este estudio, el 96,5 % (4327/4484) dio resultados satisfactorios en el primer intento. Los 157 restantes dieron resultados indeterminados en el primer intento. Ciento ocho de las 157 muestras dieron resultados válidos en la repetición de la prueba. El índice de éxito general del ensayo fue del 98,9 % (4435/4484).

## L.5 Sustancias interferentes

Se realizó un estudio para valorar los posibles efectos inhibidores de sustancias que podrían estar presentes en el esputo procesado con el ensayo Xpert MTB/RIF. Se incluyeron, entre otras, las siguientes sustancias: sangre, pus, células de mamífero y hemoglobina. Estas sustancias se analizaron a una concentración final de la muestra del 5 % (sangre, pus, células de mamífero) o del 0,2 % (hemoglobina) para determinar un efecto, si fuera el caso, en el rendimiento del Xpert MTB/RIF. Cada sustancia se añadió a una muestra que contenía unas 5 veces el límite de detección (LD) de células BCG diana y se analizó por duplicado.

No se observó ningún efecto inhibidor con ninguna de las sustancias interferentes antes mencionadas.

### L.6 Sensibilidad analítica

Se llevaron a cabo estudios adicionales para determinar el intervalo de confianza del 95 % para el límite de detección (LD) analítico de este ensayo. El límite de detección se define como el número mínimo de unidades formadoras de colonias (UFC) por muestra que puede distinguirse de forma reproducible de las muestras negativas con una confianza del 95 %. El límite de detección analítico se determinó analizando 20 réplicas de distintas concentraciones de células de *M. tuberculosis* añadidas a muestras clínicas de esputo negativas. En las condiciones del estudio, los resultados indican que el límite de detección estimado para *M. tuberculosis* es de 131 UFC/ml, con un intervalo de confianza del 95 % de 106,2 UFC a 176,4 UFC. La estimación y los niveles de confianza se determinaron mediante regresiones logísticas de los datos (número de positivos por número de pruebas de cada concentración) obtenidos con las diferentes concentraciones.

Los intervalos de confianza se determinaron mediante estimaciones de probabilidad máxima de los parámetros del modelo logístico, utilizando la matriz grande de varianza-covarianza de las muestras.

### L.7 Especificidad analítica (exclusividad)

Se analizaron cultivos de 18 cepas de micobacterias no causantes de tuberculosis (MNT) con el ensayo Xpert MTB/RIF. Dos o más réplicas de cada aislado se inocularon en muestras de esputo negativas y se analizaron a una concentración de 10<sup>6</sup> UFC/ml. Consulte la Tabla 7.

**Tabla 7. Cepas MNT analizadas para determinar la especificidad**

| Cepas MNT analizadas (10 <sup>6</sup> UFC/ml) |                                      |    |                                       |
|---|--------------------------------------|----|---------------------------------------|
| 1   | <i>M. avium</i> , SmT Mc2, 2500      | 10 | <i>M. genevenses</i> , #51233         |
| 2   | <i>M. avium</i> , SmD Mc2, 2501      | 11 | <i>M. xenopi</i> , #2278              |
| 3   | <i>M. intracellulare</i> , #35790    | 12 | <i>M. szulgai</i> , Cap E9-1997       |
| 4   | <i>M. intracellulare</i> , #35771    | 13 | <i>M. celatum</i> , #51131            |
| 5   | <i>M. kansasii</i> , #12478          | 14 | <i>M. marinum</i> , Cap E10           |
| 6   | <i>M. scrofulaceum</i> , Cap E5-1985 | 15 | <i>M. simiae</i> , #25275             |
| 7   | <i>M. malmoense</i> , #29571         | 16 | <i>M. asiaticum</i> , E1-1985         |
| 8   | <i>M. fortuitum</i> , #35754         | 17 | <i>M. thermoresistable</i> , e22-1985 |
| 9   | <i>M. chelonae</i> , #35749          | 18 | <i>M. flavescens</i> , PoH 193D       |

En las condiciones del estudio, todos los aislados de MNT dieron resultados negativos para MTB.

Además, para determinar si las MNT en concentraciones elevadas interferirían con la detección de niveles bajos de TB, las cepas de la Tabla 7 se mezclaron con la cepa TB H37Rv en esputo hasta obtener una concentración final de 10<sup>6</sup> UFC/ml de MNT y 200 UFC/ml de H37Rv.

Las cepas de MNT analizadas para determinar su capacidad para interferir con el TB detectado incluyeron:

- *M. avium*, SmT Mc2, 2500
- *M. avium*, SmD Mc2, 2501
- *M. intracellulare*, #35790
- *M. intracellulare*, #35771
- *M. kansasii*, #12478
- *M. malmoense*, #29571

Cinco de las seis cepas no interfirieron en la detección de 200 UFC/ml de *M. tuberculosis*; por tanto, las señales fueron las mismas que cuando se analizó la cepa H37Rv por sí sola. La sexta cepa de *M. malmoense* produjo una interferencia débil a 10<sup>6</sup> UFC/ml, pero ninguna a 10<sup>5</sup> UFC/ml o menos. Por lo tanto, no hay interferencia en la detección de *M. tuberculosis* incluso con 10<sup>5</sup> UFC/ml de NTM.

Se analizaron microorganismos no micobacterianos (n = 59), que representan una amplia gama de patógenos, contaminantes comunes y microflora normalmente presentes en los esputos o en la boca, a una concentración de 10<sup>6</sup> copias de ADN por volumen de reacción final. Todos los microorganismos fueron identificados correctamente como MTB-negativos con el ensayo Xpert MTB/RIF. Se incluyeron controles positivos y negativos en el estudio. La especificidad fue del 100 %.

**L.8 Especies/cepas analizadas para determinar la especificidad**

La Tabla 8 muestra las especies/cepas analizadas para determinar la especificidad.

**Tabla 8. Especies/cepas analizadas para determinar la especificidad**

|   |                                      |                                     |
|---|--------------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Acinetobacter baumannii</i>                  | <i>Haemophilus influenzae</i>        | <i>Salmonella typhi</i>             |
| <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>              | <i>Haemophilus parahaemolyticus</i>  | <i>Serratia marcescens</i>          |
| <i>Actinomyces meyeri</i>                       | <i>Haemophilus parainfluenzae</i>    | <i>Shigella boydii</i>              |
| <i>Bacillus cereus</i>                          | <i>Klebsiella pneumoniae</i>         | <i>Shigella flexneri</i>            |
| <i>Bacillus subtilis</i>                        | <i>Legionella pneumophila</i>        | <i>Staphylococcus aureus</i>        |
| <i>Bordetella parapertussis</i>                 | <i>Leuconostoc mesenteroides</i>     | <i>Staphylococcus capitis</i>       |
| <i>Campylobacter jejuni</i>                     | <i>Listeria grayi</i>                | <i>Staphylococcus epidermidis</i>   |
| <i>Candida albicans</i>                         | <i>Moraxella catarrhalis</i>         | <i>Staphylococcus haemolyticus</i>  |
| <i>Citrobacter freundii</i>                     | <i>Morganella morganii</i>           | <i>Staphylococcus hominis</i>       |
| <i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>     | <i>Mycoplasma pneumoniae</i>         | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> |
| <i>Corynebacterium xerosis</i>                  | <i>Neisseria gonorrhoeae</i>         | <i>Streptococcus equi</i>           |
| <i>Cryptococcus neoformans</i>                  | <i>Neisseria lactamica</i>           | <i>Streptococcus pyogenes</i>       |
| <i>Enterobacter aerogenes</i>                   | <i>Neisseria meningitidis</i>        | <i>Streptococcus agalactiae</i>     |
| <i>Enterobacter cloacae</i>                     | <i>Neisseria mucosa</i>              | <i>Streptococcus constellatus</i>   |
| <i>Enterococcus avium</i>                       | <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> | <i>Streptococcus mitis</i>          |
| <i>Enterococcus faecalis</i>                    | <i>Porphyromonas gingivalis</i>      | <i>Streptococcus mutans</i>         |
| <i>Enterococcus faecium</i>                     | <i>Prevotella melaninogenica</i>     | <i>Streptococcus pneumoniae</i>     |
| <i>Escherichia coli</i> (tipo de cepa 2)        | <i>Propionibacterium acnes</i>       | <i>Streptococcus uberis</i>         |
| <i>Escherichia coli</i> O157H7 (tipo de cepa 1) | <i>Proteus mirabilis</i>             | <i>Veillonella parvula</i>          |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i>                  | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>        |                                     |

**L.9 Inclusividad analítica**

Se analizaron muestras de ADN de un total de 79 cepas de MTB con el GX, usando un protocolo de Xpert MTB/RIF modificado para las pruebas de ADN. Los componentes finales de la reacción y las condiciones del ciclo de la PCR no se modificaron respecto a los del protocolo diseñado para las pruebas de muestras de pacientes. Setenta de las cepas procedían de la colección del Programa sobre Investigación en Enfermedades Tropicales (TDR) de la OMS, y 9 de la colección del laboratorio de la Universidad de Medicina y Odontología de Nueva Jersey (UMDNJ). En conjunto, estas cepas representan aislados de 31 países y contenían 37 aislados resistentes a RIF compuestos de 13 mutaciones únicas de regiones centrales del gen *rpoB*. Estas incluyen todas las mutaciones únicas del gen *rpoB* que hay en la base de datos TDR. Las reacciones negativas usaron agua como la muestra.

La mezcla final de reacción contenía 90 copias del genoma de los aislados en un volumen total de 100 µl.

La Tabla 9 muestra que el Xpert MTB/RIF detectó correctamente todas las cepas de MTB e identificó correctamente los aislados resistentes a RIF.

Tabla 9. Detección de cepas de MTB y aislados resistentes a RIF

|            |       |                   | Resultado de GeneXpert |                  |                   |
|------------|-------|-------------------|------------------------|------------------|-------------------|
|            |       |                   | Positivo para MTB      |                  | Negativo para MTB |
|            |       |                   | RIF detectada          | RIF no detectada |                   |
| Referencia | MTB + | Resistencia a RIF | 37                     | 0                | 0                 |
|            |       | Sensible a RIF    | 0                      | 42               | 0                 |
|            | MTB – |                   | 0                      | 0                | 52                |

#### L.10 Inactivación analítica de micobacterias en muestras de esputo

La capacidad de desinfección del reactivo para muestras Xpert MTB/RIF se determinó usando un método cuantitativo normalizado de cultivo de células causantes de tuberculosis.<sup>15</sup> Se mezclaron muestras de esputo con una alta concentración de células viables de *M. bovis* con el reactivo para muestras en una proporción de 2:1 y se incubaron durante 15 minutos. Tras la incubación, la mezcla de reactivo para muestras/esputo se neutralizó mediante dilución y filtración, y luego se realizó un cultivo con ella. La viabilidad de los microorganismos de *M. bovis* en el esputo tratado se redujo en al menos 6 logs en relación con el control no tratado.

Cada laboratorio debe determinar la efectividad de las propiedades de desinfección del reactivo para muestras empleando sus propios métodos normalizados y debe seguir la normativa recomendada sobre seguridad biológica.

#### M. Bibliografía

1. WHO report 2008. [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/2008](http://www.who.int/tb/publications/global_report/2008)
2. Anti-tuberculosis resistance in the world: fourth global report. WHO/HTM/TB/2008.394
3. Morris SL, Bai G, Suffys P, Portillo-Gomez L, Fairchok M, Rouse D. *Molecular mechanisms of multidrug resistance in clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis*. J Infect Dis 1995; 171:954-60.
4. Ashok Rattan, Awdhesh Kalia, and Nishat Ahmad. *Multidrug-Resistant Mycobacterium tuberculosis: Molecular Perspectives*, Emerging Infectious Diseases, Vol.4 No.2, <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no2/rattan.htm>
5. Francis J. Curry National Tuberculosis Center and California Department of Public Health, 2008: *Drug-Resistant Tuberculosis, A Survival Guide for Clinicians*, Second Edition.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
8. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpart Z).
10. Kent PT, Kubica GP 1985. Public Health Mycobacteriology—*A Guide for Level III Laboratory*, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546.
11. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, et al. *Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampin Resistance*. N Engl J Med 2010;363:1005-15.
12. Laboratory Services in Tuberculosis Control: Part II, Microscopy WHO/TB/98.258; p 1-61.
13. Laboratory Services in Tuberculosis control: Part III Culture. WHO/TB/98.258. p 1- 74.
14. NCCLS, Susceptibility testing of Mycobacteria, Nocardia, and other Aerobic Actinomycetes: Approved Standard. NCCLS document M24-A (ISBN 1- 56238-500-3). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 – 1898, USA. 2003.
15. Banada, P. et al. Containment of Bioaerosol Infection Risk by the Xpert MTB/RIF Assay and Its Applicability to Point-of-Care Settings. Journal of Clinical Microbiology. 2010. 48:10. 3551-3557.

## N. Oficinas centrales de Cepheid

### Oficinas centrales corporativas

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
Estados Unidos  
Teléfono: + 1 408 541 4191  
Fax: + 1 408 541 4192  
www.cepheid.com

### Oficinas centrales europeas

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

## O. Asistencia técnica

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

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

### Información de contacto

Estados Unidos

Teléfono: + 1 888 838 3222

Correo electrónico: techsupport@cepheid.com





















Francia

Teléfono: + 33 563 825 319

Correo electrónico: support@cepheideurope.com

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

## P. 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                                      |
|    | Consultar las instrucciones de uso                  |
|    | Precaución  |
|    | Fabricante  |
|    | País de fabricación                                 |
|    | Contiene una cantidad suficiente para <n> pruebas   |
|   | Control   |
|  | Fecha de caducidad                                  |
|  | Límites de temperatura                              |
|  | Riesgos biológicos                                  |
|  | Líquidos inflamables                                |
|  | Corrosión cutánea                                   |
|  | Toxicidad para la reproducción y los órganos        |
|  | Atención  |
|  | 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



