

Xpert MTB/RIF Ultra[®]

REF GXMTB/RIF-ULTRA-10

REF GXMTB/RIF-ULTRA-50

Instrucciones de uso

IVD CE

Declaraciones sobre marcas comerciales, patentes y derechos de propiedad intelectual

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

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

© 2017–2023 Cepheid.

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

Las restantes marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

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

© 2017–2023 Cepheid.

Consulte el Apartado 21, Historial de revisiones para obtener una descripción de los cambios.

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

Para uso diagnóstico in vitro

1 Nombre patentado

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

2 Denominación común o habitual

Xpert MTB/RIF Ultra

3 Indicaciones

La prueba Xpert MTB/RIF Ultra, realizada en los GeneXpert[®] Instrument Systems, es una prueba de diagnóstico *in vitro* de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real, anidada y semicuantitativa para la detección del ADN del complejo de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) en muestras de esputo sin procesar o en sedimentos concentrados preparados a partir de esputo inducido o expectorado. En muestras en las que se detecta el complejo *Mycobacterium tuberculosis*, la prueba Xpert MTB/RIF Ultra también puede detectar las mutaciones del gen *rpoB* asociadas a la resistencia a rifampicina.

La prueba Xpert MTB/RIF Ultra está indicada para utilizarse con muestras de pacientes con sospecha clínica de tuberculosis (TB) que no hayan recibido tratamiento antituberculosis o que hayan recibido menos de 3 días de tratamiento en los 6 últimos meses. Esta prueba está concebida como una ayuda para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar cuando se usa junto con los resultados clínicos y otros hallazgos de laboratorio.

4 Resumen y explicación

Cerca de 1700 millones de personas están infectadas con MTB en todo el mundo.¹ En 2018, 10,0 millones de personas desarrollaron la enfermedad activa y 1,45 millones de personas fallecieron a causa de la enfermedad.² La vía de transmisión de la TB pulmonar es a través del aire, lo que la convierte en una enfermedad altamente transmisible. Dada la naturaleza infecciosa de la TB pulmonar, el diagnóstico rápido y preciso es un elemento importante del tratamiento y el control de la TB.

El tratamiento conlleva la administración prolongada de múltiples fármacos y suele ser muy efectivo. Sin embargo, las cepas de *M. tuberculosis* pueden volverse resistentes a uno o más de los fármacos, lo que hace que la cura sea mucho más difícil de conseguir. Cuatro fármacos de primera línea que se emplean habitualmente para tratar la tuberculosis son: isoniazida (INH), rifampicina (conocido también como rifampicina, RIF), etambutol (EMB) y pirazinamida (PZA). Tal como ha documentado la Organización Mundial de la Salud, la resistencia a RIF raramente se da por sí sola y normalmente indica resistencia a otros fármacos anti-TB.³ Se ve con mayor frecuencia en cepas multirresistentes (MDR-TB) (que se definen como resistentes simultáneamente a RIF y a INH) y se ha notificado con una frecuencia de más del 95 % en dichos aislados.^{4,5,6} La resistencia a RIF o a otros fármacos de primera línea suele indicar que es necesario realizar pruebas completas de sensibilidad, incluidas las pruebas para agentes de uso secundario.

La detección molecular de TB y mutaciones del gen *rpoB* asociadas a la resistencia a RIF reduce notablemente el tiempo al diagnóstico de la tuberculosis sensible a fármacos y multirresistente (MDR). Con la prueba Xpert MTB/RIF Ultra, esto puede conseguirse en menos de 80 minutos en muestras de esputo sin procesar 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 una sola consulta médica.

5 Principio del procedimiento

Los GeneXpert Instrument Systems 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 PCR en tiempo real y detección del pico de fusión. El sistema consta de un instrumento, un ordenador personal, un lector de códigos de barras y un software precargado para realizar pruebas en las muestras recogidas y ver los resultados. El sistema requiere el uso de cartuchos GeneXpert desechables de un solo uso para albergar los reactivos para la PCR y realizar el proceso de PCR. Como los cartuchos son autónomos, el riesgo de contaminación cruzada entre muestras es mínimo. Para obtener una descripción completa del sistema, consulte el *GeneXpert Dx System Operator Manual*, *GeneXpert Edge System User's Guide* o el *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

La prueba Xpert MTB/RIF Ultra incluye reactivos para la detección de MTB y resistencia a RIF, así como un control de procesamiento de muestras (sample processing control, SPC) para controlar el procesamiento adecuado de las bacterias diana y monitorizar la presencia de inhibidores en la reacción PCR y en la posterior detección del pico de fusión. El control de comprobación de la sonda (PCC) comprueba la rehidratación de los reactivos, el llenado del tubo de PCR en el cartucho, la integridad de las sondas y la estabilidad del colorante.

Los cebadores de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra amplifican una parte del gen *rpoB* que contiene la región «central» de 81 pares de bases y partes de las secuencias diana de los elementos de inserción *IS1081* y *IS6110* multicopia. El análisis de fusión con cuatro sondas de *rpoB* es capaz de distinguir entre la secuencia natural conservada y las mutaciones de la región central que están asociadas a resistencia a RIF. Las dos sondas de elementos de inserción refuerzan la detección del complejo *Mycobacterium tuberculosis* gracias a las secuencias diana de los elementos de inserción multicopia en la mayoría de las cepas TB.

6 Reactivos e instrumentos

6.1 Materiales suministrados

Los kits de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra contienen reactivos suficientes para procesar 10 muestras o 50 muestras. Los kits contienen lo siguiente:

Xpert MTB/RIF Ultra Cartuchos de con tubos de reacción integrados	10 por kit	50 por kit
<ul style="list-style-type: none"> ● Microesfera 1 y microesfera 2 (liofilizadas) ● Microesfera 3 (liofilizada) ● Reactivo 1 ● Reactivo 2 	2 de cada por cartucho 1 de cada por cartucho 4 ml por cartucho 4 ml por cartucho	2 de cada por cartucho 1 de cada por cartucho 4 ml por cartucho 4 ml por cartucho
Fascos de reactivo para muestras	10	50
<ul style="list-style-type: none"> ● Reactivo para muestras 	8 ml por frasco	8 ml por frasco
Pipetas de transferencia desechables	12 por kit	60 por kit
CD	1 por kit	1 por kit
<ul style="list-style-type: none"> ● Archivos de definición del ensayo (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 a la eficacia.

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

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.

6.2 Conservación y manipulación

- Almacene los cartuchos de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra a 2-28 °C.
- No abra la tapa del cartucho hasta el momento de realizar la prueba.
- No utilice los reactivos ni los cartuchos después de la fecha de caducidad indicada.

7 Materiales requeridos pero no suministrados

- GeneXpert Dx System, GeneXpert Infinity System o GeneXpert Edge System (el número de catálogo varía según la configuración): Instrumento GeneXpert, ordenador con software GeneXpert patentado versión 4.7b o posterior (GeneXpert Dx System), Xpertise™ 6.4b o posterior (GeneXpert Infinity System), software GeneXpert Edge versión 1.0 (GeneXpert Edge System), lector de códigos de barras y manual del operador
- 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 a prueba de filtraciones, estériles, con tapa de rosca, para recogida de muestras
- Guantes desechables
- Etiquetas o rotulador de etiquetas indeleble
- Pipetas estériles para procesamiento de muestras

8 Advertencias, precauciones y peligros químicos

8.1 Declaraciones de atención y precaución

- Trate todas las muestras biológicas, incluidos los cartuchos usados, como agentes capaces de transmitir agentes infecciosos. Con frecuencia es imposible saber qué muestras podrían ser infecciosas, por lo que todas las muestras biológicas deben tratarse tomando las precauciones habituales. Las directrices para la manipulación de las muestras están disponibles en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention)⁷ y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute)⁸ de Estados Unidos.
- Utilice guantes protectores desechables, bata de laboratorio y protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos. Lávese las manos concienzudamente 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 de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra por otros reactivos.
- No abra la tapa del cartucho de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra excepto cuando añada 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 coloque la etiqueta de ID de la muestra en la tapa del cartucho ni sobre la etiqueta del código de barras.
- No utilice cartuchos que parezcan mojados o que tengan el precinto de la tapa roto.
- No utilice un cartucho que tenga un tubo de reacción dañado.
- 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.

- Cada cartucho de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra se utiliza para procesar una sola prueba. No reutilice los cartuchos procesados.
- Para evitar la contaminación de las muestras o los reactivos, deben seguirse las buenas prácticas de laboratorio y cambiarse los guantes entre las manipulaciones de muestras de pacientes. Limpie periódicamente la superficie y las zonas de trabajo con lejía al 10 % y, a continuación, vuelva a limpiar la superficie con alcohol etílico o isopropílico al 70 % antes y después de procesar muestras.
- Las muestras biológicas, los dispositivos de transferencia y los cartuchos usados deben ser considerados capaces de transmitir agentes infecciosos, y requieren las precauciones habituales. Siga los procedimientos de eliminación de desechos de su centro para la eliminación adecuada de los cartuchos usados y los reactivos no utilizados. Estos materiales pueden presentar características propias de los residuos químicos peligrosos, que requieren procedimientos específicos de eliminación de carácter nacional o regional. Si las normativas nacionales o regionales no proporcionan instrucciones claras en cuanto a los procedimientos de eliminación adecuados, las muestras biológicas y los cartuchos usados deben desecharse de conformidad con las directrices de la OMS (Organización Mundial de la Salud) relativas a la manipulación y eliminación de desechos médicos.

8.2 Peligros químicos^{9,10}

Reactivo para muestras

- Contiene alcohol isopropílico
- Contiene hidróxido de sodio
- Palabra de advertencia: PELIGRO
- Pictogramas de peligro del SGA de la ONU: 

Declaraciones de peligro del SGA de la ONU

- Líquidos 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

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/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/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 provoque 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.

9 Recogida, transporte y conservación de muestras

Recogida de muestras

Siga el protocolo de su centro para la recogida de muestras.

Recoga el esputo o el esputo inducido por aerosol siguiendo los procedimientos habituales del centro. Analice el esputo sin procesar o el sedimento de esputo concentrado descontaminado. Consulte la tabla siguiente para determinar el volumen adecuado de la muestra.

Tabla 1. Volumen de muestra requerido

Tipo de muestra	Volumen mínimo para una prueba	Volumen máximo de la muestra	Relación muestra-reactivo para muestras
Sedimento de esputo	0,5 ml	2,5 ml	1:3 ^a
Esputo sin procesar	1 ml	4,0 ml	1:2

^a La relación muestra-reactivo para muestras 1:2 debería utilizarse con un volumen de la muestra de 0,7 ml o superior para una prueba.

Conservación y transporte

Sedimento de esputo: Conserve el sedimento resuspendido a una temperatura entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de siete días.

Esputo sin procesar: Siempre que sea posible, transporte y conserve el esputo a una temperatura entre 2 °C y 8 °C antes de procesarlo. En caso necesario, las muestras de esputo sin procesar pueden conservarse hasta tres días a una temperatura máxima de 35 °C y luego a una temperatura entre 2 °C y 8 °C durante siete días más.

10 Procedimiento del ensayo

10.1 Procedimiento para sedimentos de esputo concentrado descontaminado

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 Kubica¹¹ y resuspendidos en tampón de fosfato/H₂O 67 mM, pueden analizarse mediante la prueba Xpert MTB/RIF Ultra. Después de la resuspensión, conserve al menos 0,5 ml del sedimento resuspendido para la prueba Xpert MTB/RIF Ultra. Para todos los volúmenes inferiores a 0,7 ml, realice los pasos 1–6. Estos pasos requieren añadir 3 partes de reactivo para muestras a 1 parte de sedimento para generar el volumen adecuado (~2 ml) para el rendimiento óptimo del ensayo.

Si el volumen de la muestra es igual o superior a 0,7 ml, habrá que añadir 2 partes de reactivo para muestras a 1 parte de sedimento para generar el volumen adecuado para la prueba. En este ejemplo se añadió 1,4 ml de reactivo para muestras a 0,7 ml de sedimento. Estos volúmenes equivalen a una relación de 2 partes de reactivo para muestras a 1 parte de sedimento.

1. Deje que el cartucho alcance la temperatura ambiente. Etiquete cada cartucho de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra con la Id. de la muestra. Consulte la Figura 1.

Nota Escriba en el lado del cartucho o pegue una etiqueta de identificación. No ponga la etiqueta en la tapa del cartucho ni sobre el código de barras 2D del cartucho.

2. Mezcle el sedimento en un mezclador vórtex o use una pipeta para aspirar y expulsar el material el número suficiente de veces para garantizar que todos los organismos estén en suspensión.
3. Con una pipeta de transferencia, transfiera 0,5 ml del gránulo resuspendido total a un tubo cónico con tapón de rosca para la prueba Xpert MTB/RIF Ultra.

Nota Almacene los sedimentos resuspendidos a una temperatura entre 2 °C y 8 °C, si no se procesan inmediatamente. No realice el ensayo Xpert MTB/RIF Ultra en un sedimento resuspendido que haya estado refrigerado >7 días.

4. Con una pipeta de transferencia, transfiera 1,5 ml de reactivo para muestras del ensayo Xpert MTB/RIF Ultra a los 0,5 ml de sedimento resuspendido. Apriete la tapa bien.
5. 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.

6. 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.
7. Incube la muestra a temperatura ambiente durante 5 minutos más.

10.2 Procedimiento para el esputo sin procesar

Requisito de volumen: ≥ 1 ml de esputo sin procesar.

1. Deje que el cartucho alcance la temperatura ambiente. Etiquete cada cartucho de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra con la Id. de la muestra. Consulte la Figura 1.

Nota Escriba en el lado del cartucho o pegue una etiqueta de identificación. No ponga la etiqueta en la tapa del cartucho ni sobre el código de barras 2D del cartucho.



Figura 1. Anotación en el cartucho con un rotulador permanente

2. Después de recibir la muestra en un recipiente a prueba de filtraciones para recogida de esputos, abra con cuidado la tapa del recipiente para recogida de esputos y examine el contenido para asegurar que no haya partículas de alimentos u otras partículas sólidas.

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



Figura 2. Apertura del recipiente para muestras

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

Nota Deseche el reactivo de la muestra sobrante y el frasco en un recipiente para residuos químicos.



Figura 3. Ejemplo de dilución 2:1 (8 ml de reactivo:4 ml de esputo)



Figura 4. Ejemplo de dilución 2:1 (2 ml de reactivo:1 ml de esputo)

4. Tape y cierre bien. 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 la muestra a temperatura ambiente durante 10 minutos.
6. Agite la muestra enérgicamente 10 a 20 veces o utilice un mezclador vórtex durante 10 segundos como mínimo. Incube la muestra a temperatura ambiente durante 5 minutos más.

Nota Asegúrese de que la muestra esté totalmente licuada. Si la muestra no está licuada, repita este paso.

10.3 Preparación del cartucho

Si utiliza el sistema GeneXpert Dx System o GeneXpert Edge System, comience la prueba en las 4 horas siguientes a añadir la muestra al cartucho. Una vez añadida la muestra al cartucho, este debe permanecer a temperatura ambiente antes de iniciar la prueba en las cuatro horas siguientes. Si está utilizando un GeneXpert Infinity System, 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 4 horas en el instrumento.

Nota

1. Abra la tapa del cartucho y luego abra el recipiente de la muestra.
2. Con la pipeta de transferencia suministrada, aspire la muestra licuada hasta justo por encima de la línea de la pipeta. Consulte la Figura 5. No siga procesando la muestra si el volumen es insuficiente.



Figura 5. Aspiración hasta la línea de la pipeta

3. Transfiera la muestra a la cámara de muestras del cartucho del Xpert MTB/RIF Ultra. Dispense la muestra lentamente para reducir al mínimo el riesgo de formación de aerosoles. Consulte la Figura 6.



Figura 6. Dispensación de la muestra licuada descontaminada al interior de la cámara de muestras del cartucho

4. Cierre firmemente la tapa del cartucho. La muestra licuada restante puede conservarse hasta 4 horas a una temperatura entre 2 °C y 8 °C por si se necesita repetir la prueba.

11 Realización de la prueba

- Para el GeneXpert Dx System, consulte el Apartado 11.1.
- Para el GeneXpert Edge System, consulte el Apartado 11.2.
- Para el GeneXpert Infinity System, consulte el Apartado 11.3.

11.1 GeneXpert Dx System

11.1.1 Inicio de la prueba

Antes de comenzar la prueba, asegúrese de que:

- Importante**
- El sistema está ejecutando la versión correcta del software GeneXpert Dx que se muestra en la sección Materiales requeridos pero no suministrados.
 - Se haya importado al software el archivo de definición del ensayo correcto.

Este apartado describe los pasos básicos para realizar la prueba. Para obtener instrucciones detalladas, consulte el *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

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 GeneXpert Dx System y, a continuación, encienda el ordenador e inicie sesión. El software GeneXpert se iniciará automáticamente. Si no lo hace, haga doble clic en el icono de acceso rápido al software GeneXpert Dx en el escritorio de Windows®.
2. Inicie una sesión con su nombre de usuario y contraseña.
3. En la ventana del **sistema GeneXpert**, haga clic en **Crear prueba (Create Test)**. Aparece la pantalla **Crear prueba (Create Test)**. Se abre el cuadro de diálogo **Escanear código de barras de Id. del paciente (Scan Patient ID barcode)**.
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. Se abre el cuadro de diálogo **Escanear código de barras de Id. de la muestra (Scan Sample ID barcode)**.
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. Se abre el cuadro de diálogo **Escanear código de barras de cartucho (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Escanee el código de barras del cartucho. El software utiliza la información del código de barras para rellenar automáticamente los cuadros de los campos siguientes: Seleccionar ensayo (Select Assay), Id. del lote de reactivo (Reagent Lot ID), N° de serie del cartucho (Cartridge S/N) y Fecha de caducidad (Expiration Date).

Nota Si el código de barras del cartucho no se escanea, repita la prueba con un cartucho nuevo. Si ha escaneado el código de barras del cartucho en el software y el archivo de definición del ensayo no está disponible, aparece una pantalla que indica que el archivo de definición del ensayo no está cargado en el sistema. Si aparece esta pantalla, póngase en contacto con el servicio técnico de Cepheid.

7. Haga clic en **Iniciar prueba (Start Test)**. En el cuadro de diálogo que aparece, introduzca su contraseña, si es necesario.
8. Abra la puerta del módulo del instrumento que tiene la luz verde intermitente y cargue el cartucho.
9. Cierre la puerta. La prueba se inicia y la luz verde deja de parpadear.
Una vez finalizada la prueba, la luz se apaga.
10. Espere hasta que el sistema desbloquee la puerta del módulo antes de abrirla y retire el cartucho.
11. Elimine los cartuchos usados en los recipientes de residuos de muestras adecuados de acuerdo con las prácticas habituales de su centro.

11.1.2 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 visualizar e imprimir los resultados, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx*.

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.

11.2 GeneXpert Edge System

(Es posible que no esté disponible en todos los países)

11.2.1 Inicio de una nueva prueba

Se puede iniciar una prueba adicional después de que la primera esté en curso.

1. Toque el botón **INICIO (HOME)**.
La pantalla **Inicio (Home)** mostrará el módulo en uso como ligeramente gris y con la notación de que la recogida de datos está en curso.
2. Pulse el botón **EJECUTAR NUEVA PRUEBA (RUN NEW TEST)** y continúe con la nueva prueba siguiendo los pasos de la Inicio de la prueba.
3. Cuando la segunda prueba esté en curso, toque el botón **INICIO (HOME)**.
Aparecerá el estado de ambas pruebas. Cuando se haya completado una prueba, el texto del icono cambiará a **Recogida de datos finalizada (Data collection complete)** y mostrará una marca de verificación en el icono.
4. Toque el icono **Recogida de datos finalizada (Data collection complete)** para mostrar la pantalla **Retirar cartucho (Remove Cartridge)**. Siga las instrucciones de la pantalla para retirar el cartucho.

11.2.2 Visualización e impresión de los resultados

Este apartado describe los pasos básicos para ver e imprimir los resultados. Para obtener instrucciones detalladas sobre cómo visualizar e imprimir los resultados, consulte el *GeneXpert Edge System User's Guide*.

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. Toque el botón **VER PRUEBAS ANTERIORES (VIEW PREVIOUS TESTS)** en la pantalla **Inicio (Home)**.
2. En la pantalla **Seleccionar prueba (Select Test)**, seleccione la prueba tocando el nombre de la prueba o utilizando las flechas para seleccionarla.

11.3 GeneXpert Infinity System

11.3.1 Inicio de la prueba

Antes de comenzar la prueba, asegúrese de que:

Importante

- El sistema está ejecutando la versión correcta del software Xpertise que se muestra en la sección Materiales requeridos pero no suministrados.
- Se haya importado al software el archivo de definición del ensayo correcto.

Este apartado describe los pasos básicos para realizar la prueba. Para obtener instrucciones detalladas, consulte el *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

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. El software Xpertise se iniciará automáticamente. Si no lo hace, haga doble clic en el icono de acceso rápido al software Xpertise en el escritorio de Windows®.
2. Inicie sesión en el ordenador y, a continuación, inicie sesión en el software GeneXpert Xpertise con su nombre de usuario y su contraseña.

3. En el espacio de trabajo **inicial del software Xpertise**, haga clic en **Solicitudes (Orders)**. En el espacio de trabajo **Solicitudes (Orders)**, haga clic en **Solicitar prueba (Order Test)**. Se mostrará el espacio de trabajo **Solicitar prueba – Id. de paciente (Order Test – Patient ID)**.
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. Introduzca toda la información requerida por su centro y haga clic en el botón **CONTINUAR (CONTINUE)**. Aparece el espacio de trabajo **Solicitar prueba – Id. muestra (Order Test – Sample ID)**.
6. 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.
7. Haga clic en el botón **CONTINUAR (CONTINUE)**. Se mostrará el espacio de trabajo **Order Test – Assay (Solicitar prueba – Ensayo)**.
8. Escanee el código de barras del cartucho. El software utiliza la información del código de barras para rellenar automáticamente los cuadros de los campos siguientes: Seleccionar ensayo (Select Assay), Id. del lote de reactivo (Reagent Lot ID), N° de serie del cartucho (Cartridge S/N) y Fecha de caducidad (Expiration Date).

Nota

Si el código de barras del cartucho no se escanea, repita la prueba con un cartucho nuevo. Si ha escaneado el código de barras del cartucho en el software y el archivo de definición del ensayo no está disponible, aparece una pantalla que indica que el archivo de definición del ensayo no está cargado en el sistema. Si aparece esta pantalla, póngase en contacto con el servicio técnico de Cepheid.

Una vez escaneado el cartucho, aparece el espacio de trabajo **Solicitar prueba - Información de la prueba (Order Test - Test Information)**.

9. Verifique que la información sea correcta y haga clic en **Enviar (Submit)**. En el cuadro de diálogo que aparece, introduzca su contraseña, si es necesario.
10. Coloque el cartucho en la cinta transportadora. El cartucho se carga automáticamente, se realiza la prueba y el cartucho usado se coloca en el recipiente de residuos.

11.3.2 Visualización e impresión de los resultados

Este apartado describe los pasos básicos para ver e imprimir los resultados. Para obtener instrucciones detalladas sobre cómo visualizar e imprimir los resultados, consulte el *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. En el espacio de trabajo **inicial del software Xpertise**, pulse el icono **RESULTADOS (RESULTS)**. Aparece el menú Resultados (Results).
2. En el menú Resultados (Results), pulse el botón **VER RESULTADOS (VIEW RESULTS)**. Aparece el espacio de trabajo **Ver resultados (View Results)** con los resultados de la prueba.
3. Haga clic en el botón **INFORME (REPORT)** para ver o generar un archivo de informe en formato PDF.

12 Control de calidad

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

Control de procesamiento de muestras (SPC)

Asegura que la muestra se procesó correctamente. El SPC contiene 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.

Control de comprobación de la sonda (PCC)

Antes de iniciar la reacción PCR, la prueba Xpert MTB/RIF Ultra mide la señal de fluorescencia de las sondas para comprobar la rehidratación de las microesferas, el llenado del tubo de reacción, la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes. El PCC se considera superado si cumple los criterios de aceptación asignados.

13 Interpretación de los resultados

El sistema GeneXpert genera los resultados a partir de las señales fluorescentes medidas y los algoritmos de cálculo incorporados. Los resultados pueden verse en la ventana **View Results** (Ver resultados). Consulte la Figura 7, Figura 8, Figura 9, Figura 10, Figura 11 y Figura 12 para ver ejemplos específicos, y consulte la Tabla 3 para obtener una lista de todos los resultados posibles.

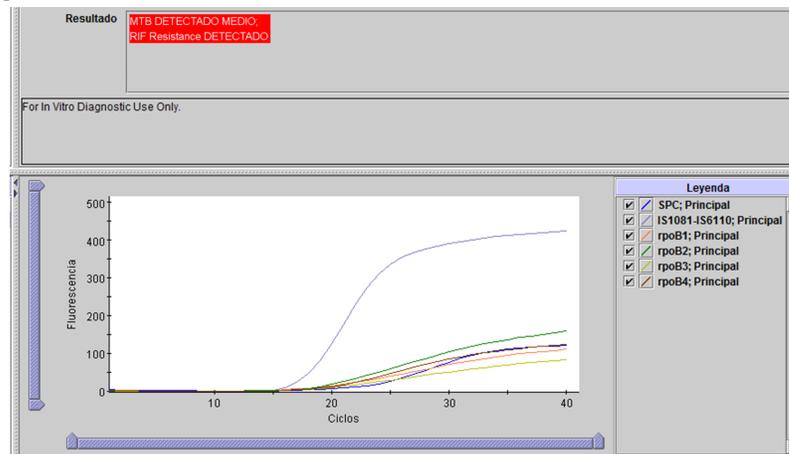


Figura 7. MTB DETECTADO MEDIO; Resistencia a RIF DETECTADA (MTB DETECTED MEDIUM; Rif Resistance DETECTED) (Vista de usuario detallada del GeneXpert Dx)

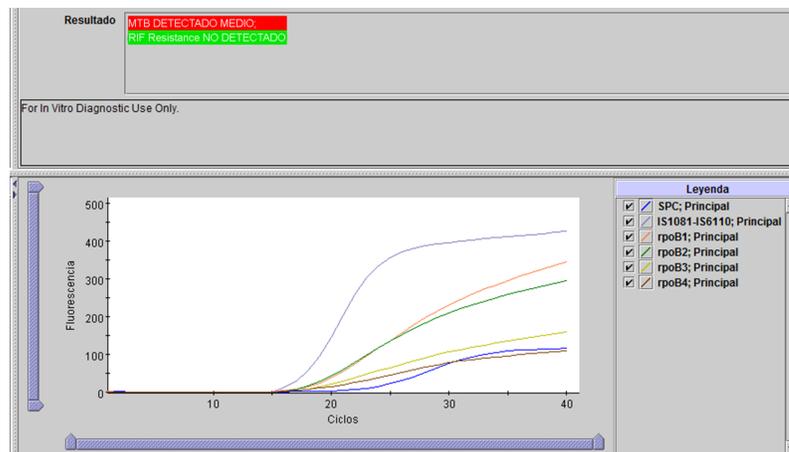


Figura 8. MTB DETECTADO MEDIO; Resistencia a RIF NO DETECTADA (MTB DETECTED MEDIUM; Rif Resistance NOT DETECTED) (Vista de usuario detallada del GeneXpert Dx)

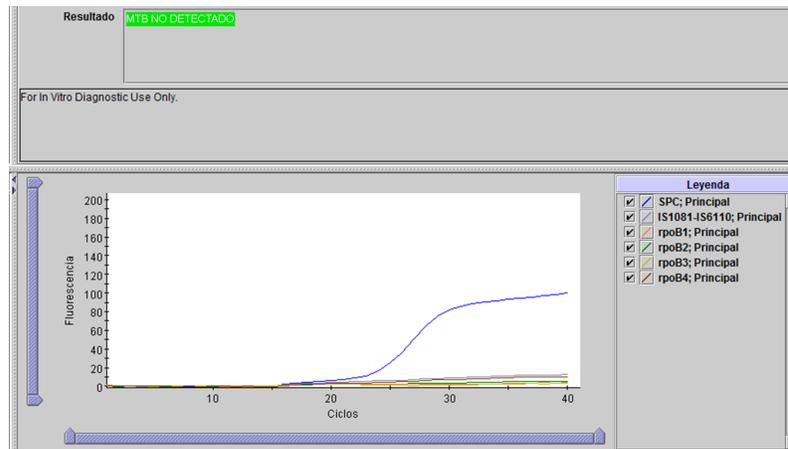


Figura 9. MTB NO DETECTADO (MTB NOT DETECTED) (Vista de usuario detallada del GeneXpert Dx)

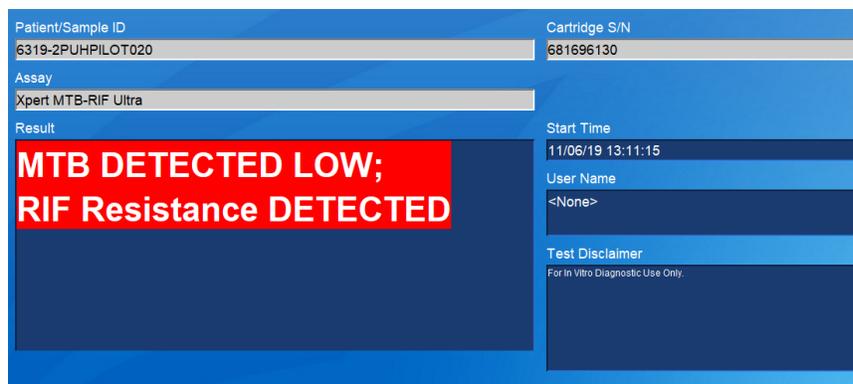


Figura 10. MTB DETECTADO BAJO; Resistencia a RIF DETECTADA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance DETECTED) (GeneXpert Edge)

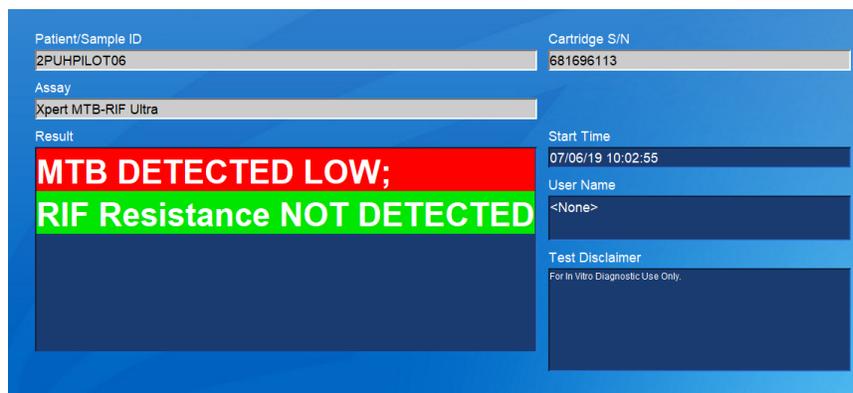


Figura 11. MTB DETECTADO BAJO; Resistencia a RIF NO DETECTADA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance NOT DETECTED) (GeneXpert Edge)

Patient/Sample ID 2PUHPILOT05	Cartridge S/N 681696136
Assay Xpert MTB-RIF Ultra	
Result MTB NOT DETECTED	Start Time 24/05/19 10:39:43
	User Name <None>
	Test Disclaimer For In Vitro Diagnostic Use Only.

Figura 12. MTB NO DETECTADO (MTB NOT DETECTED) (GeneXpert Edge)

Tabla 2. Xpert MTB/RIF Ultra Resultados e interpretación de la prueba

Resultado	Interpretación
MTB DETECTADO ALTO; Resistencia a RIF DETECTADA (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance DETECTED)	<p>La muestra contiene la diana de MTB:</p> <ul style="list-style-type: none"> Se ha detectado una mutación en la secuencia diana del gen <i>rpoB</i>. SPC: N/A (NA) (no aplicable). No se requiere una señal de SPC porque la amplificación de MTB puede competir con este control. Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS). Todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
MTB DETECTADO MEDIO; Resistencia a RIF DETECTADA (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance DETECTED)	
MTB DETECTADO BAJO; Resistencia a RIF DETECTADA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance DETECTED)	
MTB DETECTADO MUY BAJO; Resistencia a RIF DETECTADA (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance DETECTED)	
MTB DETECTADO ALTO; Resistencia a RIF NO DETECTADA (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance NOT DETECTED)	<p>La muestra contiene la diana de MTB:</p> <ul style="list-style-type: none"> No se ha detectado ninguna mutación en la secuencia diana del gen <i>rpoB</i>. SPC: N/A (NA) (no aplicable). No se requiere una señal de SPC porque la amplificación de MTB puede competir con este control. Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS). Todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
MTB DETECTADO MEDIO; Resistencia a RIF NO DETECTADA (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance NOT DETECTED)	

Resultado	Interpretación
MTB DETECTADO BAJO; Resistencia a RIF NO DETECTADA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance NOT DETECTED)	
MTB DETECTADO MUY BAJO; Resistencia a RIF NO DETECTADA (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance NOT DETECTED)	
MTB DETECTADO ALTO; Resistencia a RIF INDETERMINADA (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance INDETERMINATE)	<p>La muestra contiene la diana de MTB:</p> <ul style="list-style-type: none"> No se pudo determinar la resistencia a RIF debido a picos de fusión no válidos. SPC: N/A (NA) (no aplicable). No se requiere una señal de SPC porque la amplificación de MTB puede competir con este control. Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS). Todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
MTB DETECTADO MEDIO; Resistencia a RIF INDETERMINADA (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance INDETERMINATE)	
MTB DETECTADO BAJO; Resistencia a RIF INDETERMINADA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance INDETERMINATE)	
MTB DETECTADO MUY BAJO; Resistencia a RIF INDETERMINADA (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance INDETERMINATE)	
Traza de MTB DETECTADA; Resistencia a RIF INDETERMINADA (MTB Trace DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)	
MTB NO DETECTADO (MTB NOT DETECTED)	

Resultado	Interpretación
NO VÁLIDO (INVALID)	<p>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 el apartado Procedimiento de repetición de la prueba de este documento.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTB INVALID (MTB NO VÁLIDO): No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN del MTB. • SPC: NO SUPERADO (FAIL). El resultado de la diana de MTB es negativo y el Ct del SPC no está dentro del rango válido. • Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS). Todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
ERROR	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de MTB. Repita la prueba. Consulte el apartado Procedimiento de repetición de la prueba de este documento.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTB: SIN RESULTADO (NO RESULT) • SPC: SIN RESULTADO (NO RESULT) • Comprobación de la sonda: NO SUPERADO (FAIL). Todos o uno de los resultados de la comprobación de la sonda no superaron la prueba. <p>Nota Si la comprobación de sondas se superó, el error se debe a un fallo en los componentes del sistema.</p>
SIN RESULTADO (NO RESULT)	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de MTB. Repita la prueba. Consulte el apartado Procedimiento de repetición de la prueba de este documento. SIN RESULTADO (NO RESULT) 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"> • MTB: SIN RESULTADO (NO RESULT) • SPC: SIN RESULTADO (NO RESULT) • Comprobación de la sonda: N/A (NA) (no aplicable)

Tabla 3. Xpert MTB/RIF Ultra: Todos los resultados posibles

Resultados de TB	Resultados de RIF
MTB DETECTADO ALTO (MTB DETECTED HIGH)	Resistencia a RIF DETECTADA (RIF Resistance DETECTED)
MTB DETECTADO ALTO (MTB DETECTED HIGH)	Resistencia a RIF NO DETECTADA (RIF Resistance NOT DETECTED)
MTB DETECTADO ALTO (MTB DETECTED HIGH)	Resistencia a RIF INDETERMINADA (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB DETECTADO MEDIO (MTB DETECTED MEDIUM)	Resistencia a RIF DETECTADA (RIF Resistance DETECTED)
MTB DETECTADO MEDIO (MTB DETECTED MEDIUM)	Resistencia a RIF NO DETECTADA (RIF Resistance NOT DETECTED)
MTB DETECTADO MEDIO (MTB DETECTED MEDIUM)	Resistencia a RIF INDETERMINADA (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB DETECTADO BAJO (MTB DETECTED LOW)	Resistencia a RIF DETECTADA (RIF Resistance DETECTED)
MTB DETECTADO BAJO (MTB DETECTED LOW)	Resistencia a RIF NO DETECTADA (RIF Resistance NOT DETECTED)
MTB DETECTADO BAJO (MTB DETECTED LOW)	Resistencia a RIF INDETERMINADA (RIF Resistance INDETERMINATE)

Resultados de TB	Resultados de RIF
MTB DETECTADO MUY BAJO (MTB DETECTED VERY LOW)	Resistencia a RIF DETECTADA (RIF Resistance DETECTED)
MTB DETECTADO MUY BAJO (MTB DETECTED VERY LOW)	Resistencia a RIF NO DETECTADA (RIF Resistance NOT DETECTED)
MTB DETECTADO MUY BAJO (MTB DETECTED VERY LOW)	Resistencia a RIF INDETERMINADA (RIF Resistance INDETERMINATE)
Traza de MTB ^a DETECTADO	Resistencia a RIF INDETERMINADA (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB NO DETECTADO (MTB NOT DETECTED)	
NO VÁLIDO (INVALID)	
ERROR	
SIN RESULTADO (NO RESULT)	

^a Un resultado de Traza significa que se han detectado niveles bajos de MTB pero no se ha detectado resistencia a RIF. Esto sucede debido a la mayor sensibilidad de la detección de TB usando las dianas IS6110 e IS1081 multicopia en lugar de la detección de resistencia a RIF con el gen rpoB de una sola copia. Por lo tanto, no puede determinarse un resultado resistente o sensible a RIF en una muestra Traza (Trace). La muestra Traza (Trace) siempre es de **Resistencia a RIF INDETERMINADA (RIF Resistance INDETERMINATE)**.

13.1 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 está inhibida.
- 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.

13.2 Procedimiento de repetición de la prueba

Si sobra esputo fresco o sedimento reconstituido, utilice siempre reactivo de la muestra nuevo para descontaminar y licuar el esputo o sedimento antes de realizar el ensayo. Consulte el Apartado 10 o el Procedimiento para el esputo sin procesar.

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 e inicie la prueba inmediatamente. Consulte la Apartado 10.3.

14 Limitaciones

Debido a que la detección de MTB depende del número de microorganismos presentes en la muestra, la fiabilidad de los resultados dependerá de la recogida, manipulación y conservación correctas de las muestras. Se pueden obtener resultados de la prueba erróneos como consecuencia de una recogida, manipulación o conservación incorrectas de las muestras, un error técnico, la confusión de las muestras o una concentración insuficiente del material de partida. Para evitar resultados erróneos es necesario seguir estrictamente las instrucciones de uso.

Para las personas con resultados **Traza de MTB DETECTADA (MTB Trace DETECTED)** puede ser necesario obtener información clínica adicional y tener en cuenta el contexto clínico para las decisiones de tratamiento de la TB en algunos entornos.

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 rifampina.

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

La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra no se ha evaluado en pacientes de menos de dieciocho años de edad.

La prueba Xpert MTB/RIF Ultra no proporciona confirmación de la sensibilidad a la rifampicina, ya que es posible que existan mecanismos de resistencia a rifampicina distintos a los detectados por este dispositivo, que podrían asociarse a una falta de respuesta clínica al tratamiento.

Deberán plantearse pruebas de sensibilidad a fármacos adicionales en muestras en las que se haya detectado ADN del complejo MTB y mutaciones del gen *rpoB* asociadas a la resistencia a rifampicina mediante la prueba Xpert MTB/RIF Ultra.

La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra depende de la competencia del usuario y del seguimiento correcto de los procedimientos del ensayo. Los errores de procedimiento del ensayo podrían provocar resultados positivos falsos o negativos falsos. Todos los usuarios del dispositivo deben contar con la formación debida en relación con el dispositivo.

15 Eficacia clínica

15.1 Diseño del estudio clínico

Se evaluó la eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra para la detección de ADN del complejo MTB y para la detección de mutaciones asociadas a la resistencia a RIF en muestras de esputo en comparación con los resultados de cultivo (medios sólidos o líquidos) y pruebas de sensibilidad a fármacos (DST), respectivamente. Este estudio multicéntrico utilizó muestras prospectivas y archivadas de esputo directo (sin procesar) o sedimento concentrado recogidas de sujetos de 18 años o más. Los sujetos incluyeron casos con sospecha de TB pulmonar que no habían recibido tratamiento para la TB o habían recibido menos de 3 días de tratamiento en los 6 meses anteriores al inicio del estudio (casos sospechosos de TB), así como sujetos que habían recibido anteriormente tratamiento para la TB con sospecha de TB resistente a varios fármacos (casos sospechosos de TB MDR). El estudio se realizó en todo el mundo (Bielorrusia, Brasil, China, Georgia, Alemania, India, Italia, Kenia, Perú, Sudáfrica, Uganda, Vietnam y Estados Unidos). La sensibilidad y la especificidad de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra para la detección de MTB se evaluaron utilizando datos únicamente de los casos sospechosos de TB; mientras que los datos de los casos sospechosos de MDR TB se combinaron para evaluar la eficacia en la detección de la resistencia a RIF.

Las muestras se obtuvieron de sujetos del estudio, 61 % varones (n=1111), 35 % mujeres (n=648); en el 4 % (n=76) de los sujetos se desconocía el sexo. Provenían de diversas zonas geográficas: el 12 % (n=217) era de Estados Unidos (California, Nueva York y Florida) y el 88 % (n=1618) era de otros países (Bielorrusia, Brasil, China, Georgia, Alemania, India, Italia, Sudáfrica, Kenia, Perú, Vietnam y Uganda). De las 1835 muestras, 1228 se recogieron prospectivamente y 607 procedían de bancos de muestras archivadas congeladas.

15.2 Eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra frente al cultivo MTB

Se recogieron hasta tres muestras de esputo de cada sujeto del estudio para utilizarlas en el ensayo clínico. En el caso de las muestras prospectivas, la primera muestra de esputo se analizó mediante la prueba Xpert MTB/RIF Ultra y las dos segundas muestras se utilizaron para el cultivo TB. En el caso de las muestras archivadas, se dispuso de los resultados del cultivo mediante el método de procedimiento diagnóstico habitual y la prueba Xpert MTB/RIF Ultra se realizó utilizando la primera muestra con volumen suficiente. Si el resultado del ensayo fue no determinado [esto es, **ERROR, NO VÁLIDO (INVALID)** o **SIN RESULTADO (NO RESULT)**], la muestra se volvió a analizar si había suficiente volumen. En general, el 1,0 % de las muestras analizadas de sujetos elegibles (19/1854; IC del 95 %: 0,7, 1,6) tuvo resultados no determinados. El estado del frotis de bacilos acidorresistentes (BAAR) para un sujeto se determinó mediante tinción fluorescente de auramina-O (AO) o tinción de Ziehl-Neelsen (ZN) de la muestra con el correspondiente resultado de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra. El estado del cultivo MTB de todos los sujetos se definió en base al resultado del cultivo MTB de todas las muestras recogidas en un período de siete días para ese sujeto.

La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra para la detección de MTB en comparación con el cultivo de MTB, estratificada por el estado del frotis BAAR, se muestra en la tabla siguiente. La sensibilidad en muestras de frotis positivas y negativas fue del 99,5 % (426/428), IC del 95 %: 98,3, 99,9 y 73,3 % (200/273), IC del 95 %: 67,7, 78,2, respectivamente. La especificidad general de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra independientemente del frotis BAAR fue del 95,5 % (1222/1280), IC del 95 %: 94,2, 96,5. Consulte la tabla siguiente.

Tabla 4. Eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra frente al cultivo MTB

		Frotis/Cultivo				Total
		Positivo			Negativo	
		Frotis BAAR +	Frotis BAAR -	Cultivo general +	Cultivo general -	
Xpert MTB/ RIF Ultra	MTB DETECTADO (MTB DETECTED)	426	200	630 ^a	58	688
	MTB NO DETECTADO (MTB NOT DETECTED)	2	73	75	1222	1297
	Total	428	273	705	1280	1985

Eficacia diagnóstica en frotis positivos: Sensibilidad: 99,5 % (426/428), IC del 95 %: 98,3, 99,9
Eficacia diagnóstica en frotis negativos: Sensibilidad: 73,3 % (200/273), IC del 95 %: 67,7, 78,2
Eficacia diagnóstica general: Sensibilidad: 89,4 % (630/705), IC del 95 %: 86,9, 91,4
Especificidad: 95,5 % (1222/1280), IC del 95 %: 94,2, 96,5

^a No se dispuso de los resultados del frotis para 4 muestras de cultivo positivas.

La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra para la detección de MTB en comparación con el cultivo de MTB, estratificada por centros de EE. UU. frente a centros de fuera de EE. UU., se muestra en la tabla siguiente. Entre las 1985 muestras, había 1768 muestras de centros no estadounidenses y 217 de centros estadounidenses.

Tabla 5. Prueba Xpert MTB/RIF Ultra frente a cultivo de MTB por centros de EE. UU. frente a centros de fuera de EE. UU.

	Fuera de EE. UU.		EE. UU.	
	N	Porcentaje (IC del 95 %)	N	Porcentaje (IC del 95 %)
Sensibilidad del frotis positiva	380/382	99,5 % (98,1, 99,9)	46/46	100,0 % (92,3, 100)
Sensibilidad del frotis negativa	180/245	73,5 % (67,6, 78,6)	20/28	71,4 % (52,9, 84,7)
Sensibilidad general	564/631 ^a	89,4 % (86,7, 91,6)	66/74	89,2 % (80,1, 94,4)
Especificidad general	1080/1137	95,0 % (93,6, 96,1)	142/143	99,3 % (96,1, 99,9)

^a No se dispuso de los resultados del frotis para 4 muestras de cultivo positivas.

15.3 Eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra frente al cultivo por tipo de frotis

La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra para la detección de MTB se determinó en relación con el cultivo de MTB en muestras en las que se realizó el frotis BAAR mediante los métodos AO y ZN. Los resultados se muestran en la tabla siguiente. Entre las 1985 muestras, había 1810 muestras con frotis AO y 175 con frotis ZN.

Tabla 6. Eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra frente al cultivo de MTB mediante los métodos de tinción de auramina O (AO) y Ziehl-Neelsen (ZN)

	Método de auramina O		Método de Ziehl-Neelsen	
	N	Porcentaje (IC del 95 %)	N	Porcentaje (IC del 95 %)
Sensibilidad del frotis positiva	386/388	99,5 % (98,1, 99,9)	40/40	100 % (91,2, 100)
Sensibilidad del frotis negativa	153/219	69,9 % (63,5, 75,6)	47/54	87,0 % (75,6, 93,6)
Sensibilidad general	543/611 ^a	88,9% (86,1, 91,1)	87/94	92,6 % (85,4, 96,3)
Especificidad general	1145/1199	95,5 % (94,2, 96,5)	77/81	95,1 % (88,0, 98,1)

^a No se dispuso de los resultados del frotis para 4 muestras de cultivo positivas.

15.4 Eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra frente al cultivo por tipo de muestra

La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra para la detección de MTB se determinó en relación con el cultivo de MTB en muestras de esputo sin procesar y de sedimento de esputo concentrado. Los resultados se muestran en la tabla siguiente. Entre las 1985 muestras, había 1543 muestras de esputo sin procesar y 442 muestras de sedimento de esputo concentrado.

Tabla 7. Prueba Xpert MTB/RIF Ultra frente al cultivo por tipo de muestra

	Esputo directo		Sedimentos de esputo	
	N	% (95% IC del)	N	% (95% IC del)
Sensibilidad del frotis positiva	323/324	99,7 % (98,3, 99,9)	103/104	99,0 % (94,8, 99,8)
Sensibilidad del frotis negativa	168/229	73,4 % (67,3, 78,7)	32/44	72,7 % (58,2, 83,7)
Sensibilidad general	495/557 ^a	88,9% (86,0, 91,2)	135/148	91,2 % (85,6, 94,8)
Especificidad general	937/986	95,0 % (93,5, 96,2)	285/294	96,9 % (94,3, 98,4)

^a No se dispuso de los resultados del frotis para 4 muestras de cultivo positivas.

15.5 Eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra frente a las pruebas de sensibilidad a fármacos para RIF

La farmacosenibilidad (DST) a la rifampicina se determinó analizando aislados de cultivos de MTB positivos mediante el método de proporciones de agar con medios Middlebrook o Lowenstein-Jensen, la placa CIM de Mycobacterium tuberculosis Sensititre de Thermo Scientific™ o el ensayo BD BACTEC™ MGIT™ 960 SIRE. La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra para la detección de mutaciones asociadas a la resistencia a RIF se determinó en relación con los resultados de las DST de los aislados de cultivos de MTB.

La prueba Xpert MTB/RIF Ultra notifica los resultados de detección de mutaciones asociadas a resistencia a RIF únicamente cuando el dispositivo detecta la secuencia del gen *rpoB* del complejo MTB. La eficacia diagnóstica en cuanto a la sensibilidad/resistencia a RIF se indica en la tabla siguiente. Las muestras con DST no realizadas, **MTB NO DETECTADO (MTB NOT DETECTED)** y **MTB DETECTADO; Resistencia a RIF INDETERMINADA (MTB DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)** se excluyeron del análisis. Sesenta y tres (63) de las 67 muestras con resultados RIF indeterminados fueron **Traza MTB DETECTADA; Resistencia a RIF INDETERMINADA (MTB Trace DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)**.

Tabla 8. Eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra frente a las DST

Prueba de sensibilidad a fármacos				
		Resistente a RIF	Sensible a RIF	Total
Xpert MTB/ RIF Ultra	MTB DETECTADO; Resistencia a RIF DETECTADA (MTB DETECTED; RIF Resistance DETECTED)	128	12 ^a	140
	MTB DETECTADO, Resistencia a RIF NO DETECTADA (MTB DETECTED, RIF Resistance NOT DETECTED)	5 ^b	314	319
	Total	133	326	459
		Sensibilidad: 96,2 % (128/133), IC del 95 %: 91.5, 98.4 Especificidad: 96,3 % (314/326), IC del 95 %: 93.7, 97.9		

^a Resultados de secuenciación discrepantes: 11 de 12 resistentes a RIF, 1 de 12 no disponible.

^b Resultados de secuenciación discrepantes: 4 de 5 sensibles a RIF, 1 de 5 no disponible.

15.6 Eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra frente al ensayo Xpert MTB/RIF

Se analizaron 1594 muestras mediante la prueba Xpert MTB/RIF Ultra y el ensayo Xpert MTB/RIF. El porcentaje de concordancia general entre los ensayos fue 96,5 % [(1538/1594), IC del 95 %: 95,5, 97,3]. Los porcentajes de concordancia positivo y negativo fueron del 99,2 % [(491/495) IC del 95 %: 97,9, 99,7] y del 95,3 % [(1047/1099) IC del 95 %: 93,8, 96,4], respectivamente.

15.7 Reproducibilidad

La reproducibilidad de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra se evaluó en tres centros con un grupo de muestras formado por cepas de MTB sensibles y resistentes a la rifampicina. Las muestras positivas para MTB se prepararon en una matriz de esputo simulada a concentraciones bajas (~1X LD) y moderadas (2-3X LD). También se incluyó un miembro negativo

del grupo de muestras, que consistía en la matriz de esputo simulada. El grupo de cinco muestras se analizó en seis días diferentes por dos usuarios distintos, dos veces al día, en tres centros (240 pruebas en cada centro = 2 usuarios x 6 días x 2 réplicas x 2 ciclos por día). Para el estudio se utilizaron tres lotes del kit de reactivos de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra. El porcentaje de concordancia para cada miembro del grupo de muestras se presenta por centro en la Tabla 9.

Tabla 9. Resumen de datos de reproducibilidad: Concordancia por centro del estudio/instrumento

Muestra	Centro 1 (GeneXpert Dx)	Centro 2 (GeneXpert Dx)	Centro 3 (Infinity-90)	% de concordancia total por muestra
Negativo	98 % (47/48)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	99,3 % (143/144)
Positivo bajo para MTB, Resistente a RIF	96 % (46/48)	96 % (46/48)	98 % (47/48)	96,5 % (139/144)
Positivo moderado para MTB, Resistente a RIF	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Positivo bajo para MTB, Sensible a RIF	100 % (48/48)	100 % (48/48)	98 % (47/48)	99,3 % (143/144)
Positivo moderado para MTB, Sensible a RIF	100 % (47/47)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (143/143)

La reproducibilidad de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra también se evaluó en términos de la señal de fluorescencia expresada en valores de umbral del ciclo (Ct) para cada diana detectada. La media, la desviación estándar (SD) y el coeficiente de variación (CV) de los componentes entre centros, entre días, entre usuarios y entre análisis para cada miembro del grupo de muestras se presentan en la tabla 10. Un análisis se define como el análisis de las cuatro muestras de cada miembro del grupo de muestras analizado por un técnico en un centro y en un día determinados.

16 Eficacia diagnóstica analítica

Tabla 10. Resumen de los datos de reproducibilidad

Muestra	N	Ct medio	Varianza												
			Entre centros		Entre lotes		Entre días		Entre operadores		Intraciclo/ ensayo		Total		
			DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	
Negativo	SPCCt	144	25,7	0,00	0,0	0,30	1,1	0,00	0,0	0,70	2,8	1,40	5,5	1,60	6,3
Positivo bajo para MTB, resistente a RIF	ICCCt	144	20,0	0,00	0,0	0,20	1,1	0,00	0,0	0,40	2,0	0,90	4,6	1,00	5,1
	rpo1C	141	31,0	0,00	0,0	0,50	1,6	0,00	0,0	0,60	2,0	2,20	7,2	2,40	7,7
	rpo2C	141	29,8	0,20	0,7	0,40	1,4	0,00	0,0	0,80	2,5	2,10	7,1	2,30	7,7
	rpo3C	139	33,8	0,20	0,6	0,60	1,9	0,00	0,0	0,70	2,0	2,00	5,9	0,20	6,5
	rpo4C	141	30,4	0,80	2,5	0,50	1,7	0,00	0,0	0,80	2,5	2,50	8,4	2,80	9,2
Positivo moderado para MTB, resistente a RIF	ICCCt	144	18,4	0,30	1,4	0,00	0,0	0,10	0,5	0,10	0,3	0,70	3,7	0,80	4,1
	rpo1C	143	28,3	0,40	1,5	0,00	0,0	0,50	1,8	0,00	0,0	1,80	6,4	1,90	6,8
	rpo2C	144	27,2	0,50	1,8	0,00	0,0	0,50	1,8	0,00	0,0	1,80	6,7	1,90	7,1
	rpo3C	143	31,1	0,10	0,4	0,00	0,0	0,50	1,6	0,00	0,0	1,70	5,6	1,80	5,8 %
	rpo4C	144	27,2	0,80	3,1	0,00	0,0	0,70	2,4	0,00	0,0	2,20	8,0 %	2,40	8,9

Muestra	N	Ct medio	Varianza												
			Entre centros		Entre lotes		Entre días		Entre operadores		Intraciclo/ ensayo		Total		
			DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	
Positivo bajo para MTB, sensible a RIF	ICCT	143	23,7	0,00	0,0	0,20	0,6	0,40	1,6	0,00	0,0	1,70	7,4	1,80	7,6
	rpo1C	130	30,2	0,10	0,3	0,00	0,0	0,90	3,0 %	0,00	0,0	2,60	8,4	2,70	9,0
	rpo2C	130	29,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,80	2,6	0,00	0,0	2,40	8,1 %	2,50	8,5
	rpo3C	130	31,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,80	2,6	0,20	0,7	2,30	7,4	2,50	7,8 %
	rpo4C	120	36,1	0,30	0,9	0,40	1,1	0,00	0,0	0,50	1,4	2,10	5,7	2,20	6,1
Positivo moderado para MTB, sensible a RIF	ICCT	143	21,8	0,10	0,6	0,00	0,0	0,20	1,1	0,00	0,0	1,20	5,4	1,20	5,5
	rpo1C	142	27,6	0,20	0,7	0,00	0,0	0,30	1,2	0,00	0,0	2,00	7,2	2,00	7,3
	rpo2C	141	26,7	0,00	0,0	0,40	1,4	0,00	0,0	0,10	0,2	1,60	5,9	1,60	6,1
	rpo3C	141	28,9	0,00	0,0	0,30	1,1	0,00	0,0	0,50	1,7	1,70	5,7	1,70	6,0
	rpo4C	140	33,9	0,70	2,0	0,60	1,7	0,00	0,0	0,00	0,0	2,00	5,9	2,20	6,5

16.1 Sustancias interferentes

Se realizó un estudio en una matriz artificial de esputo para evaluar los efectos de posibles sustancias interferentes con la prueba Xpert MTB/RIF Ultra. Se evaluó un total de 32 sustancias potencialmente interferentes. Las sustancias endógenas potencialmente interferentes podían incluir, entre otras, sangre, pus (leucocitos), células de las vías respiratorias, mucina, ADN humano y ácido gástrico del estómago. Otras sustancias potencialmente interferentes podrían ser anestésicos, antibióticos, antibacterianos, antituberculosos, antivirales, broncodilatadores, broncodilatadores inhalados, vacunas antigripales intranasales con virus vivo, colutorios germicidas, reactivos para el procesamiento de muestras, medicamentos con *Pneumocystis jiroveci*, medicamentos antialérgicos homeopáticos, corticosteroides nasales, geles nasales, aerosoles nasales, anestésicos orales, expectorantes orales, tampones neutralizantes y tabaco. Estas sustancias se indican en la Tabla 11 junto con los principios activos y las concentraciones analizadas. Se incluyeron muestras positivas y negativas en este estudio. Las muestras positivas se analizaron a cerca de 3 veces el límite de detección analítico utilizando células BCG en 8 réplicas. Las muestras negativas, constituidas por la sustancia sin la cepa de MTB, se analizaron por sustancia en 8 réplicas para determinar el efecto del control de procesamiento de muestras (SPC) sobre el rendimiento.

No se observó ningún efecto inhibitor con ninguna de las 32 sustancias potencialmente interferentes analizadas (Tabla 11).

Tabla 11. Sustancias interferentes

Sustancia	Descripción/principio activo	Concentración analizada
Sangre	Sangre (humana)	5 % (v/v)
Colutorio germicida	Gluconato de clorhexidina (0,12 %), solución al 20 %	20 % (v/v)
Reactivos de procesamiento de muestras	Cloruro de cetilpiridinio, 1 % en NaCl al 2 %	0,5 % (v/v) en NaCl al 1 %
Reactivos de procesamiento de muestras	Cloruro de cetilpiridinio, 1 % en NALC al 2 %	0,5 % (v/v) en NALC al 1 %
Reactivos de procesamiento de muestras	Cloruro de cetilpiridinio, 1 % en NALC al 2 % más citrato 25 mM	0,5 % (v/v) en NALC al 1 % más citrato 12,5 mM
Ácido gástrico	Solución de pH 3 a 4 en agua, neutralizada con bicarbonato de sodio	100 % (v/v)
ADN/células humanas	HELA 229	10 ⁶ células/ml
Antimicótico; antibiótico	Suspensión oral de nistatina, 20 %	20 % (v/v)

Sustancia	Descripción/principio activo	Concentración analizada
Leucocitos (humanos)	Matriz de leucocitos/pus (30 % de capa leucocitaria, 30 % de plasma, 40 % de PBS)	100 % (v/v)
Anestésicos (intubación endotraqueal)	Lidocaína HCl al 4 %	30 % (v/v)
Soluciones nebulizadoras	NaCl al 5 % (p/v)	5 % (p/v)
Mucina	Mucina al 5 % (p/v)	5 % (p/v)
Antibacteriano sistémico	Levofloxacino 25 mg/ml	5 mg/ml (p/v)
Corticosteroides nasales	Fluticasona 500 mcg/nebulización	5 µg/ml (p/v)
Broncodilatadores inhalados	Sulfato de albuterol 2,5 mg/3 ml	75 µg/ml (p/v)
Anestésicos orales	Orajel (benzocaína al 20 %)	5 % (p/v)
Antivirales	Aciclovir, IV 50 mg/ml	50 µg/ml (p/v)
Antibiótico en forma de pomada nasal	Neosporina (bacitracina 400 U, neomicina 3,5 mg, polimixina B 5000 U)	5 % (p/v)
Tabaco	Nicogel (extracto de tabaco al 40 %)	0,5 % (p/v)
Antituberculosos	Estreptomina 1 mg/ml	25 µg/ml (p/v)
Antituberculosos	Etambutol 1 mg/ml	50 µg/ml (p/v)
Antituberculosos	Isoniacida 1 mg/ml	50 µg/ml (p/v)
Expectorantes orales	Guaifenesina (400 mg/comprimido)	5 mg/ml (p/v)
Antituberculosos	Pirazinamida 10 mg/ml	10 µg/ml (p/v)
Gel nasal (homeopático)	Gel Zicam	50 % (p/v)
Aerosol nasal	Fenilefrina 0,5 %	1 % (p/v)
Antituberculosos	Rifampicina 1 mg/ml	25 µg/ml (p/v)
Medicamento antialérgico (homeopático)	Aceite de árbol del té (<5% Cineole, >35 % terpineno-4-ol)	0,5 % (p/v)
Vacuna antigripal intranasal con virus vivo	Vacuna antigripal con virus vivo FluMist	5 % (p/v)
Medicamento para <i>Pneumocystis jiroveci</i>	Pentamidina	300 ng/ml (p/v)
Broncodilatador	Epinefrina (formulación inyectable)	1 mg/ml (p/v)
Antituberculosos	Amoxicilina	25 µg/ml (p/v)

16.2 Sensibilidad analítica (límite de detección)

Se realizaron estudios para determinar la sensibilidad analítica o el límite de detección (LD) de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra, utilizando la cepa H37Rv de *Mycobacterium tuberculosis* y el BCG (bacilo de Calmette-Guerin) de *Mycobacterium bovis* diluidos en esputo humano y en sedimento de esputo humano. Un resultado positivo para MTB se basa en la detección de las dianas IS1081/IS6110.

También se llevaron a cabo estudios para determinar la sensibilidad analítica o el límite de detección de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra para la detección de la resistencia a RIF, utilizando una cepa clínica bien caracterizada de *Mycobacterium tuberculosis* resistente a rifampicina (TDR125) con la mutación D516V en la región “central” de 81 pares de bases del gen *rpoB*, diluida en esputo humano y en sedimento de esputo humano.

El LD es la concentración más baja notificada en UFC/ml que puede distinguirse de forma reproducible de las muestras negativas con una confianza del 95 %. Se evaluaron al menos 20 réplicas de dos cepas a 5 a 8 concentraciones durante 3 días y se determinó el LD mediante análisis probit. Los LD notificados se resumen en la siguiente tabla.

Tabla 12. Datos del análisis probit y LD notificado en UFC/ml

Especie de micobacteria	Tipo de muestra	LD notificado
<i>M. bovis</i> (BCG)	Esputo	30
	Sedimento de esputo	21
<i>M. tuberculosis</i> (H37Rv)	Esputo	12
	Sedimento de esputo	25

Tabla 13. Datos del análisis probit y LD notificado de la resistencia a RIF en UFC/ml

Especie de micobacteria	Tipo de muestra	LD notificado
<i>M. tuberculosis</i> (TDR125)	Esputo	1093
	Sedimento de esputo	4000

16.3 Especificidad analítica (exclusividad)

Se analizaron cultivos de 30 cepas de micobacterias no causantes de tuberculosis (MNT) con la prueba Xpert MTB/RIF Ultra. Se añadieron tres réplicas de cada aislado al tampón y se analizaron a una concentración de $\geq 10^7$ UFC/ml. Consulte la Tabla 14.

Tabla 14. Cepas de MNT analizadas para determinar la especificidad

<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>avium</i>	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>
<i>Mycobacterium celatum</i>	<i>Mycobacterium simiae</i>
<i>Mycobacterium chelonae</i>	<i>Mycobacterium szulgai</i>
<i>Mycobacterium gordonae</i>	<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>
<i>Mycobacterium haemophilum</i>	<i>Mycobacterium triviale</i>
<i>Mycobacterium abscessus</i>	<i>Mycobacterium vaccae</i>
<i>Mycobacterium asiaticum</i>	<i>Mycobacterium xenopi</i>
<i>Mycobacterium flavescens</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
<i>Mycobacterium fortuitum</i> subsp. <i>fortuitum</i>	<i>Mycobacterium interjectum</i>
<i>Mycobacterium gastrii</i>	<i>Mycobacterium peregrinum</i>
<i>Mycobacterium genavense</i>	<i>Mycobacterium mucogenicum</i>
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Mycobacterium goodii</i>
<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Mycobacterium shimoidei</i>
<i>Mycobacterium malmoense</i>	<i>Mycobacterium phlei</i>
<i>Mycobacterium marinum</i>	<i>Mycobacterium terrae</i>

En las condiciones del estudio, todos los aislados de MNT se notificaron como **MTB NO DETECTADO (MTB NOT DETECTED)**. Se incluyeron controles positivos y negativos en el estudio. La especificidad fue del 100 %.

Además, para determinar si las MNT en concentraciones elevadas interferirían con la detección de niveles bajos (3X LD) de TB, seis cepas representativas de las cepas indicadas en la Tabla 14 se mezclaron con la cepa H37Rv de TB y con *M. bovis* en esputo hasta obtener una concentración final de 10⁶ UFC/ml de MNT, 36 UFC/ml de *M. tuberculosis* H37Rv y 90 UFC/ml de *M. bovis*, respectivamente.

Las cepas de MNT analizadas para determinar su capacidad para interferir con el TB (H37Rv) detectado incluyeron:

- *M. abscessus*, ATCC 19977
- *M. avium*, aislados clínicos de National Jewish Hospital
- *M. celatum*, aislados clínicos de National Jewish Hospital
- *M. kansasii*, ATCC 12478
- *M. gordonae*, ATCC 14470
- *M. intracellulare*, aislados clínicos de National Jewish Hospital

Las cepas de MNT analizadas no interfirieron con la detección de 36 UFC/ml de *M. tuberculosis* (H37Rv) ni de 90 UFC/ml de *M. bovis*; por tanto, las señales fueron las mismas que cuando se analizó la cepa H37Rv por sí sola.

16.4 Especies/cepas analizadas para determinar la especificidad

Para determinar los falsos positivos con la prueba Xpert MTB/RIF Ultra, se analizaron los siguientes microorganismos, que incluyen bacterias gramnegativas, bacterias grampositivas, hongos y levaduras. Se añadieron réplicas de cada aislado al tampón y se analizaron a una concentración de $\geq 10^7$ UFC/ml (cepas de bacterias y hongos) o de $\geq 10^6$ copias/ml (ADN genómico para bacterias y hongos) y de $\geq 10^5$ DICT₅₀/ml (cepas de virus).

Tabla 15. Especies y cepas

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Virus respiratorio sincitial tipo B</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Rinovirus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Nocardia asteroides</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Virus paragripal tipo 1</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Coronavirus</i>	<i>Virus paragripal tipo 2</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Virus paragripal tipo 3</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Virus sincitial respiratorio tipo A</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Metaneumovirus humano (hMPV) 16 tipo A1</i>		

En las condiciones del estudio, todos los microorganismos analizados se notificaron como **MTB NO DETECTADO (MTB NOT DETECTED)**. Se incluyeron controles positivos y negativos en el estudio. La especificidad fue del 100 %.

16.5 Inclusividad analítica

Se analizaron 37 cepas del complejo MTB integradas por 16 cepas sensibles a rifampina con una región central del gen *rpoB* natural y 21 cepas resistentes a rifampina, con la prueba Xpert MTB/RIF Ultra. Se analizaron muestras de ADN de un total de 37 cepas de MTB en el GeneXpert, usando un protocolo de la prueba Xpert MTB/RIF Ultra 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. Doce de las cepas procedían de la colección de la OMS/TDR y 6, de la colección del laboratorio de Rutgers University. En conjunto, estas cepas representan aislados de 8 países

y contenían 21 aislados resistentes a RIF con mutaciones únicas, dobles y una triple en la región central del gen *rpoB*. Las muestras se analizaron añadiendo 100 µl de la muestra de ADN a la cámara de lisado del cartucho. Las reacciones negativas usaron tampón como la muestra. El ensayo identificó correctamente las 16 cepas naturales e identificó correctamente la resistencia a rifampina en 18 de las 21 cepas resistentes a rifampina con mutaciones en la región central del gen *rpoB*. Se obtuvieron resultados de rifampina indeterminada para 3 cepas mutantes. *M. caprae* y *M. pinnipedii* no se evaluaron como parte de este estudio.

16.6 Inactivación analítica de micobacterias en muestras de esputo

La capacidad de desinfección del reactivo para muestras Xpert MTB/RIF Ultra se determinó usando un método cuantitativo normalizado de cultivo de células causantes de tuberculosis.¹² Se inocularon muestras de esputo con una alta concentración de células viables de *M. bovis*, se mezclaron 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.

17 Bibliografía

1. WHO report 2018. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274453/9789241565646-eng.pdf?ua=1>.
2. WHO Global TB Report 2019. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329368/9789241565714-eng.pdf>.
3. Anti-tuberculosis resistance in the world: fourth global report. WHO/HTM/TB/2008.394.
4. Morris SL, Bai GH, 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.
5. Rattan A, Kalia A, Ahmad N. 1998. Multidrug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis*: Molecular Perspectives, *Emerging Infectious Diseases*, Vol.4 No.2, <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no2/rattan.htm>.
6. Francis J. Curry National Tuberculosis Center and California Department of Public Health, 2008: Drug-Resistant Tuberculosis, A Survival Guide for Clinicians, Second Edition.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 1993. Richmond JY and McKinney RW (eds). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Documento M29 (consultar la última edición).
9. REGLAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 16 de diciembre de 2008 sobre la clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas que modifica y anula la Lista de Declaraciones de Precaución, Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE (que modifica la normativa (CE) N.º 1907/2006).
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazardous Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpart Z).
11. Kent PT, Kubica GP. 1985. Public Health Mycobacteriology—*A Guide for Level III Laboratory*, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546.
12. 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.

18 Oficinas centrales de Cepheid

Sede central corporativa

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Sede central europea

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

19 Asistencia técnica

Antes de ponerse en contacto con nosotros

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

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

Estados Unidos

Teléfono: + 1 888 838 3222
Correo electrónico: techsupport@cepheid.com

Francia

Teléfono: + 33 563 825 319
Correo electrónico: support@cepheideurope.com

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

20 Tabla de símbolos

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



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden



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



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



21 Historial de revisiones

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