

# Xpert<sup>®</sup> MRSA/SA Blood Culture

**REF** GXMRSA/SABC-CE-10

Instrucciones de uso

CE **IVD**

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

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

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2019–2023 Cepheid.

See Section 23, for a description of changes.

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

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

Las restantes marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

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

© 2019-2023 Cepheid.

Consulte el Apartado 23 , para obtener una descripción de los cambios.

# Xpert<sup>®</sup> MRSA/SA Blood Culture

---

*Solo para uso diagnóstico in vitro*

## 1 Nombre patentado

Xpert<sup>®</sup> MRSA/SA Blood Culture

## 2 Denominación común o habitual

Xpert MRSA/SA Blood Culture o Xpert MRSA/SA BC

## 3 Indicaciones

La prueba Cepheid Xpert MRSA/SA Blood Culture, realizada en los sistemas GeneXpert<sup>®</sup>, es una prueba cualitativa de diagnóstico *in vitro* diseñada para la detección rápida y simultánea de *Staphylococcus aureus* (SA) y *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) de pacientes de todas las edades con hemocultivos positivos. La prueba utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (polymerase chain reaction, PCR) en tiempo real automatizada para detectar el ADN del SARM/SA. La prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture está indicada para facilitar la detección y la identificación de SARM/SA en frascos de hemocultivos positivos. La prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture está indicada para utilizarse junto con otras pruebas de laboratorio, tales como cultivo, y con datos clínicos disponibles para el médico como ayuda en la detección de SARM/SA de hemocultivos positivos procedentes de pacientes. El subcultivo de hemocultivos positivos es necesario para recuperar los microorganismos con vistas a las pruebas de sensibilidad o a la tipificación epidemiológica. La prueba Cepheid Xpert MRSA/SA Blood Culture no está indicada para monitorizar el tratamiento de infecciones por SARM/SA.

## 4 Resumen y explicación

El *Staphylococcus aureus* (SA) es un patógeno humano causante de diversas enfermedades, como bacteriemia, endocarditis, osteomielitis, síndrome de choque tóxico, intoxicación alimentaria, ántrax y forúnculos. A principios de los años cincuenta del siglo pasado, la obtención y propagación de plásmidos productores de beta-lactamasas frustró la eficacia de la penicilina para el tratamiento de las infecciones por SA. En 1959 se introdujo la meticilina, una penicilina semisintética, y poco después se identificaron cepas de SA resistentes a la meticilina (SARM). Ahora se sabe que la resistencia se confiere al SA cuando este adquiere el complejo génico *mec*, que contiene el gen *mecA* y, potencialmente, otras variantes del *mecA*, como el *mecA*<sub>LGA251</sub>, denominado *mecC*. Actualmente, en Estados Unidos, el SARM es responsable de aproximadamente el 25 % de las infecciones asociadas a la atención sanitaria, y ocasiona un alto grado de morbimortalidad.

Se han documentado altas tasas de mortalidad atribuibles a las bacteriemias por SARM y SA sensible a la meticilina (SASM). En la actualidad, el método habitual de detección del SA, incluido el SARM de frascos de hemocultivos, es el cultivo *in vitro*. Un método rápido y sensible de análisis de SA, incluido el SARM, podría ser beneficioso para la salud pública.<sup>1,2,3,4,5,6</sup>

## 5 Principio del procedimiento

Los sistemas GeneXpert automatizan e integran la preparación de muestras, la purificación y amplificación de ácidos nucleicos y la detección de la secuencia diana en muestras simples o complejas mediante ensayos de PCR y ensayos de PCR con transcripción inversa (RT-PCR) en tiempo real. Los sistemas constan de un instrumento, un ordenador personal, y software precargado para realizar los ensayos y ver los resultados. Los sistemas requieren el uso de cartuchos desechables de un solo uso que contengan los reactivos para la PCR y alojen el proceso de la PCR. Como los cartuchos son autónomos,

el riesgo de contaminación cruzada entre muestras es mínimo. Para obtener una descripción completa del sistema, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)* o el *Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity (GeneXpert Infinity System Operator Manual)*.

La prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture incluye reactivos para la detección de SARM y SA, 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 SPC también garantiza que las condiciones (temperatura y tiempo) de la reacción PCR sean adecuadas para la reacción de amplificación y que los reactivos para la PCR funcionen correctamente. Un control interno adicional, el control de comprobación de la sonda (PCC) verifica la rehidratación de los reactivos, el llenado del tubo de PCR en el cartucho, la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes.

Los cebadores y las sondas de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture detectan secuencias patentadas de la proteína A estafilocócica (*spa*), el gen que confiere resistencia a la meticilina (*mecA*) y el cromosoma tipo cassette estafilocócico *mec* (*SCCmec*), que se inserta en el cromosoma del SA en el sitio *attB*. Las dianas se utilizan aisladamente o combinadas para identificar y diferenciar el SA y el SARM.

Para los SARM presentes en un frasco de hemocultivo en ausencia de otras especies bacterianas, el ensayo utiliza algoritmos basados en reglas en los que los valores de umbral del ciclo (Ct) de las tres dianas (*spa*, *mecA* y *SCCmec*) se comparan para determinar si las dianas proceden del mismo microorganismo SARM. Se considera que hay presente SARM cuando: 1) las tres dianas tienen valores de Ct dentro del intervalo válido y criterios de valoración por encima del valor mínimo establecido, 2) en ausencia de *SCCmec*, se cumplen las condiciones del algoritmo basado en reglas para los valores de Ct de *mecA* y *spa*, o 3) en ausencia de *spa*, se cumplen las condiciones del algoritmo basado en reglas para los valores de Ct de *mecA* y *SCCmec*.

## 6 Reactivos e instrumentos

### 6.1 Material suministrado

El kit de Xpert MRSA/SA Blood Culture contiene reactivos suficientes para procesar 10 muestras de pacientes o de control de calidad. V El kit contiene lo siguiente:

<b>Cartuchos de Xpert MRSA/SA Blood Culture con tubos de reacción integrados</b>	<b>10</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Microesfera 1, microesfera 2 y microesfera 3 (liofilizadas)</li> <li>● Reactivo 1</li> <li>● Reactivo 2 (hidróxido sódico)</li> </ul>	1 de cada por cartucho 3 ml por cartucho 3 ml por cartucho <b>10 x 2,0 ml</b>
<b>Reactivo de elución Xpert MRSA/SA Blood Culture (clorhidrato de guanidinio y tensioactivos)</b>	<b>12</b>
<b>Pipetas de transferencia desechables de volumen fijo (50 µl)</b> <b>CD</b>	<b>1 por kit</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Archivo de definición del ensayo (Assay Definition File, ADF)</li> <li>● Instrucciones para importar los ADF en el software GeneXpert</li> <li>● Instrucciones de uso (prospecto)</li> </ul>	

#### Nota

Las fichas de datos de seguridad (FDS) están disponibles en el apartado **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.

## 6.2 Conservación y manipulación

- Conserve los cartuchos y los reactivos de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture a una temperatura de entre 2 °C y 28 °C.
- No utilice los reactivos, las pipetas ni los cartuchos después de la fecha de caducidad indicada.
- No abra la tapa de la pipeta o del cartucho hasta el momento de realizar la prueba.

## 6.3 Materiales requeridos pero no suministrados

- Sistema GeneXpert Dx o sistema GeneXpert Infinity (el número de catálogo varía según la configuración): Instrumento GeneXpert, ordenador, lápiz lector de códigos de barras y manual del usuario
  - Para el sistema GeneXpert Dx: Versión 5.3 o superior del software GeneXpert Dx
  - Para los sistemas GeneXpert Infinity-80 e Infinity-48s: Versión 6.8 o superior del software Xpertise
- Impresora: Si se requiere una impresora, póngase en contacto con el servicio técnico de Cepheid para organizar la compra de una impresora recomendada.
- Agitadora vorticial
- Pipetas de transferencia estériles desechables (para transferir la muestra al cartucho)

## 6.4 Materiales disponibles pero no suministrados

Pueden utilizarse KWIK-STIK™ de Microbiologics n.º de catálogo 0158MRSA (SCC*mec* tipo II) y n.º de catálogo 0360MSSA (*Staphylococcus aureus* subespecie *aureus*) como controles positivos externos, y n.º de catálogo 0371MSSE (*Staphylococcus epidermidis* sensible a la meticilina) como control negativo externo.

## 7 Advertencias y precauciones

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- 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)<sup>8</sup> y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute) de Estados Unidos.<sup>8</sup>
- Las muestras biológicas, los dispositivos de transferencia y los cartuchos usados deben ser considerados capaces de transmitir agentes infecciosos que requieren las precauciones habituales. Siga los procedimientos de eliminación de desechos de su centro para la eliminación adecuada de los cartuchos usados y los reactivos no utilizados. Estos materiales pueden exhibir 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 utilizados deben desecharse de conformidad con las directrices de la OMS (Organización Mundial de la Salud) en cuanto a la manipulación y eliminación de desechos médicos. Consulte con el personal encargado de los residuos medioambientales del centro sobre cuál es la forma correcta de eliminar los cartuchos usados y los reactivos no utilizados.<sup>9</sup>
- Siga los procedimientos de seguridad de su centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- La prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture no proporciona resultados de pruebas de sensibilidad antimicrobiana. Las pruebas de sensibilidad requerirán el subcultivo adicional de todos los hemocultivos positivos.
- En un cultivo mixto que contenga SARM/SA y otros microorganismos (por ejemplo, bacilos gramnegativos, levaduras), los resultados pueden ser negativos falsos o variables según la concentración de SARM/SA presente, especialmente si dicha concentración está cerca del límite de detección (LD) del ensayo.
- No sustituya el reactivo de elución de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture por otros reactivos.
- No utilice un cartucho que se haya caído o agitado.

- No utilice cartuchos que tenga un tubo de reacción dañado.
- No utilice ningún reactivo que presente turbidez o un cambio de color.
- No utilice cartuchos nuevos que presenten fugas. Si se observa líquido fuera de un cartucho usado, puede haber un problema.
- Cada cartucho de prueba de un solo uso de Xpert MRSA/SA Blood Culture se utiliza para procesar una prueba. No vuelva a utilizar los cartuchos usados.
- En la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture se pueden utilizar los siguientes medios de hemocultivo:
  - Medio BACTEC™ PEDS PLUS™/F
  - Medio BACTEC™ Plus Aerobic/F
  - Medio BACTEC™ Plus Anaerobic/F
  - Medio BACTEC™ Standard Anaerobic/F
  - Medio BACTEC™ Standard/10 Aerobic/F
  - Frascos de cultivo BACTEC™ LYTIC/10 Anaerobic/F
  - Aerobio estándar bioMérieux BacT/ALERT® SA
  - Anaerobio estándar bioMérieux BacT/ALERT® SN
  - VersaTREK™ REDOX™ 1R (aerobio)
  - VersaTREK™ REDOX™ 2R (anaerobio)
- Con la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture no pueden utilizarse medios de hemocultivo que contengan carbón vegetal activado.
- La prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture solamente debe utilizarse para analizar frascos de hemocultivo que presenten proliferación microbiana y que se haya demostrado por tinción de Gram que contienen cocos grampositivos en racimos (CGPR) o cocos grampositivos en cadena (CGP).

## 8 Recogida, transporte y conservación de las muestras

**Nota** Los resultados de hemocultivos son fundamentales para la atención al paciente. Siga las directrices y políticas establecidas de su laboratorio/institución para comunicar los resultados positivos de los hemocultivos (verbalmente, por escrito o por vía electrónica) a los proveedores sanitarios.

- Cuando den positivo en proliferación, retire los frascos de hemocultivo de la incubación. Los hemocultivos positivos deben someterse a tinción de Gram siguiendo el procedimiento habitual del laboratorio.
- En el caso de los frascos de hemocultivos positivos que muestren cocos grampositivos en racimos (CGPR) o cocos grampositivos en cadena (CGP) mediante tinción de Gram, obtenga una alícuota de aproximadamente 1 ml de muestra de hemocultivo positivo y etiquétela con la ID de la muestra.
- Si la muestra se va a analizar en un plazo de 24 horas, refrigérela a 2-8 °C o consérvela a temperatura ambiente. Si la muestra se va a analizar después de 24 horas, refrigérela a 2-8 °C durante un máximo de tres días. Las muestras que se han conservado a temperatura ambiente durante más de 24 horas o refrigeradas a 2-8 °C durante más de tres días no deberán analizarse con la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture.

## 9 Peligros químicos<sup>10, 11</sup>

- Pictograma de peligro del SGA de la ONU: 
- Palabra de advertencia: ATENCIÓN
- **Declaraciones de peligro del SGA de la ONU**
  - Nocivo en caso de ingestión
  - Provoca irritación cutánea
  - Provoca irritación ocular grave
- **Declaraciones de precaución del SGA de la ONU**
  - **Prevención**
    - Lavarse concienzudamente tras la manipulación.
    - No comer, beber ni fumar cuando se utilice este producto.
    - Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección
  - **Respuesta**

- EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.
- Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
- Se necesita un tratamiento específico; consulte la información adicional de medidas de primeros auxilios.
- En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.
- EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
- Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico
- EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar.
- Enjuagarse la boca.
- **Conservación/eliminación**
  - Eliminar el contenido/el recipiente en conformidad con los reglamentos locales, regionales, nacionales e internacionales.

## 10 Procedimiento

### 10.1 Preparación del cartucho

#### Importante

Si está utilizando un instrumento GeneXpert Dx, inicie la prueba en las 3 horas siguientes a la adición de la muestra preparada 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 al cartucho. El software Xpertise lleva un seguimiento de la vida útil restante, que permite que las pruebas se inicien antes de que transcurra el tiempo de caducidad de tres horas en el instrumento.

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

1. Extraiga el cartucho y el reactivo de elución del envase.
2. Mezcle con cuidado a mano la muestra de hemocultivo. No agite en mezclador vortex.
3. Utilizando la pipeta de volumen fijo suministrada (50 µl), transfiera el contenido de la pipeta de volumen fijo que contiene la muestra de hemocultivo positivo al frasco de reactivo de elución siguiendo los pasos indicados a continuación:
  - a. Apriete firmemente el bulbo de la parte superior de la pipeta.
  - b. Mientras lo mantiene apretado, coloque la punta de la pipeta en la muestra.
  - c. Con la pipeta aún en la muestra, deje de apretar el bulbo para llenar la pipeta.
  - d. Coloque la punta de la pipeta sobre la boca del frasco de reactivo de elución.
  - e. Apriete firmemente el bulbo de la parte superior para vaciar el contenido de la pipeta en el frasco de reactivo de elución. Es normal que quede líquido sobrante en el bulbo de desbordamiento.

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

4. Cierre la tapa del reactivo de elución y agite este en una agitadora vorticial a alta velocidad durante 10 segundos.
5. Abra la tapa del cartucho. Con una pipeta de transferencia (no suministrada), transfiera todo el contenido del reactivo de elución a la cámara de muestras del cartucho de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture. Consulte la figura 1.
6. Cierre la tapa del cartucho e inicie la prueba.



Figura 1. Cartucho de la prueba MRSA/SA Blood Culture (vista superior)

## 10.2 Inicio de la prueba

### Importante

Si está utilizando un sistema *GeneXpert Dx*, antes de iniciar la prueba, asegúrese de que el sistema esté ejecutando el software *GeneXpert Dx* versión 4.7b o posterior, y de que se haya importado el archivo de definición del ensayo correcto al software.

### Importante

Si está utilizando un sistema *GeneXpert Infinity*, antes de iniciar la prueba, asegúrese de que el sistema esté ejecutando el software *Xpertise* versión 6.4b o posterior, y de que se haya importado el archivo de definición del ensayo correcto al software.

Este apartado describe los pasos básicos para realizar la prueba. Para ver instrucciones detalladas, consulte el *GeneXpert Dx System Operator Manual (Manual del operador del sistema GeneXpert Dx)* o el *GeneXpert Infinity System Operator Manual (Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity)*, según el modelo que se esté utilizando.

### Nota

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

#### 1. Encienda el instrumento GeneXpert:

- Si está utilizando el *instrumento GeneXpert Dx*, encienda primero el instrumento GeneXpert Dx y, a continuación, encienda el ordenador. 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®.
- o
- Si está utilizando el *instrumento GeneXpert Infinity*, ponga en marcha 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 software del sistema GeneXpert con su nombre de usuario y su contraseña.

#### 3. En la ventana del sistema GeneXpert, haga clic en **Crear prueba (Create Test)** (GeneXpert Dx) o en **Solicitudes (Orders)** y **Solicitar prueba (Order test)** (Infinity). Se abre la ventana **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 (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, aparecerá 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)** (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

En el instrumento *GeneXpert Dx*:

- a) Abra la puerta del módulo del instrumento que tiene la luz verde intermitente y cargue el cartucho.
- b) Cierre la puerta. La prueba se inicia y la luz verde deja de parpadear. Una vez finalizada la prueba, la luz se apaga.
- c) Espere hasta que el sistema desbloquee la puerta del módulo antes de abrirla. A continuación, extraiga el cartucho.
- d) Elimine los cartuchos usados en los recipientes de residuos de muestras adecuados de acuerdo con las prácticas habituales de su centro.

## 10.3 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 GeneXpert Infinity*.

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

# 11 Control de calidad

## 11.1 Controles de calidad integrados

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

- **Control de procesamiento de muestras (SPC):** El SPC está pensado para indicar si la muestra se procesó en las condiciones de funcionamiento especificadas. El SPC contiene esporas de *Bacillus globigii* en forma de una microesfera de esporas secas que se incluye en cada cartucho para verificar el procesamiento adecuado de la muestra con la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture. El SPC comprueba que se ha producido la lisis del SA, 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 de las reacciones de PCR en tiempo real y actúa como control positivo interno. La señal del SPC debe ser positiva en una muestra negativa, y puede ser negativa o positiva en una muestra positiva. El SPC se considera superado si cumple los criterios de aceptación validados. La prueba arrojará un resultado de No válido (Invalid) si no se detecta el SPC en una muestra negativa.
- **Control de comprobación de la sonda (PCC):** antes de iniciar la reacción de PCR, el sistema GeneXpert mide la señal de fluorescencia de las sondas para comprobar la rehidratación de las microesferas, el llenado del tubo de reacción, la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes. La comprobación de la sonda se considera superada si cumple los criterios de aceptación asignados.

## 11.2 Controles externos

Los controles externos deben utilizarse de acuerdo con los requisitos de las organizaciones de acreditación locales, estatales/provinciales y nacionales, según corresponda.

Pueden utilizarse KWIK-STIK (Microbiologics, n.º de catálogo 0158MRSA [SCC*mec* tipo II] y n.º de catálogo 0360MSSA como controles positivos, y n.º de catálogo 0371MSSE como control negativo) para la formación de usuarios y como CC externos del sistema del instrumento GeneXpert. Siga el procedimiento de Microbiologics para controles externos, que se describe a continuación:

1. Abra la bolsa rasgándola por la muesca y retire el KWIK-STIK.
2. Comprima la parte inferior de la ampolla del tapón para que salga el líquido hidratante.
3. Sujete verticalmente y dé golpecitos para facilitar el flujo del líquido a través del cilindro hasta el fondo de la unidad que contiene el gránulo.
4. Para facilitar la disolución del gránulo de células liofilizado, aplaste el gránulo y mézclelo en líquido utilizando una acción de compresión. Toque los lados del KWIK-STIK para confirmar que el gránulo ya no es palpable.
5. Abra el KWIK-STIK para liberar el hisopo y rompa el hisopo en el tubo que contiene el reactivo de elución (tapa de rosca).
6. Cierre la tapa del tubo del reactivo de elución y agite en el mezclador vortex a alta velocidad durante 10 segundos.
7. Continúe realizando los pasos posteriores del análisis empezando en el paso 5 del apartado 10.1, Preparación del cartucho.
8. Si el CC externo no funciona según lo previsto, repita la prueba del control externo o póngase en contacto con Cepheid para recibir asistencia.

## 12 Interpretación de los resultados

Los sistemas GeneXpert generan los resultados a partir de las señales fluorescentes medidas y los algoritmos de cálculo utilizados por el software de los sistemas GeneXpert. Los resultados pueden verse en la ventana View Results (Ver resultados). Consulte la tabla 1 y la figura 2, la figura 3, la figura 4 y la figura 5.

Para los SARM presentes en un frasco de hemocultivo en ausencia de otras especies bacterianas, el ensayo utiliza algoritmos basados en reglas en los que los valores de umbral del ciclo (Ct) de las tres dianas (*spa*, *mecA* y *SCCmec*) se comparan para determinar si las dianas proceden del mismo microorganismo SARM.

Tabla 1. Resultados e interpretación del Xpert MRSA/SA Blood Culture

Resultado	Interpretación
<b>SARM POSITIVO; SA POSITIVO (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)</b> (Figura 2)	<p>SARM POSITIVO; SA POSITIVO (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE): Si se da alguna de las condiciones siguientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>están presentes todas las dianas de SARM (<i>spa</i>, <i>mecA</i> y <i>SCCmec</i>), o</li> <li><i>SCCmec</i> ausente, se cumplen las condiciones del algoritmo basado en reglas para los valores de Ct de <i>mecA</i> y <i>spa</i>, o</li> <li><i>spa</i> ausente, se cumplen las condiciones del algoritmo basado en reglas para los valores de Ct de <i>mecA</i> y <i>SCCmec</i>.</li> <li>SPC—N/A (NA) (no aplicable); la señal del SPC no es parte de la interpretación de los resultados en este caso, ya que la amplificación de SARM podría competir con este control.</li> <li>Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.</li> </ul>
<b>MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)</b> (Figura 3)	<p>MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE): Si se da alguna de las condiciones siguientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li><i>spa</i> está presente y <i>mecA</i> no está presente, o</li> <li><i>spa</i> ausente, no se cumplen las condiciones del algoritmo basado en reglas para los valores de Ct de <i>mecA</i> y <i>SCCmec</i>, o</li> <li><i>SCCmec</i> ausente, no se cumplen las condiciones del algoritmo basado en reglas para los valores de Ct de <i>mecA</i> y <i>spa</i>.</li> <li>SPC—N/A (NA) (no aplicable); la señal del SPC no es parte de la interpretación de los resultados en este caso, ya que la amplificación de SA podría competir con este control.</li> <li>Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.</li> </ul>
<b>MRSA NEGATIVO; SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)</b> (Figura 4)	<ul style="list-style-type: none"> <li>MRSA NEGATIVO; SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE): La diana de SA (<i>spa</i>) no está presente y si se da alguna de las condiciones siguientes:             <ul style="list-style-type: none"> <li><i>mecA</i> no está presente, o</li> <li><i>SCCmec</i> no está presente, o</li> <li>Tanto <i>mecA</i> como <i>SCCmec</i> presentes, no se cumplen las condiciones del algoritmo basado en reglas para los valores de Ct de <i>mecA</i> y <i>SCCmec</i>.</li> </ul> </li> <li>SPC—SUPERADO (PASS); el SPC tiene un valor Ct dentro del rango válido y un criterio de valoración por encima del valor mínimo configurado. O, si alguno de los analitos diana es positivo, el SPC se ignora.</li> <li>Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.</li> </ul>
<b>NO VÁLIDO (INVALID)</b> (Figura 5)	<ul style="list-style-type: none"> <li>No puede determinarse la presencia o ausencia de las secuencias diana de SARM/SA, repita la prueba con una muestra nueva. El SPC no satisface los criterios de aceptación, la muestra no se procesó correctamente o la PCR se ha inhibido.</li> <li>NO VÁLIDO (INVALID); no puede determinarse la presencia o ausencia de ADN del <i>Staphylococcus aureus</i>.</li> <li>SPC—NO SUPERADO (SPC—FAIL); el resultado de la diana del SPC es negativo, el Ct del SPC no está dentro del rango válido y el criterio de valoración está por debajo del valor mínimo configurado.</li> <li>Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.</li> </ul>

Resultado	Interpretación
<b>ERROR</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>No puede determinarse la presencia o ausencia de SARM/SA, repita la prueba con una muestra nueva. Los errores pueden deberse a que un tubo de reacción no se llenó bien, a un problema con la integridad de las sondas, o a que se excedieron los límites máximos de presión.</li> <li>SARM—SIN RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>SA—SIN RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>SPC — SIN RESULTADO (SPC — NO RESULT)</li> <li>Comprobación de la sonda—NO SUPERADO (Probe Check—FAIL)*; uno o más de los resultados de la comprobación de la sonda no superan la comprobación.</li> <li>* Si la comprobación de la sonda se superó, el error se debe a un fallo de un componente del sistema o a que se excedió el límite de presión máxima.</li> </ul>
<b>SIN RESULTADO (NO RESULT)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>No puede determinarse la presencia o ausencia de secuencias de ADN diana de SARM/SA; repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del apartado siguiente. No se obtuvieron suficientes datos para producir un resultado de la prueba. Por ejemplo, esto puede ocurrir si el usuario paró una prueba que estaba en curso.</li> <li>SARM—SIN RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>SA—SIN RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>SPC — SIN RESULTADO (SPC — NO RESULT)</li> <li>Comprobación de la sonda—N/A (no aplicable) (Probe Check—NA [not applicable])</li> </ul>

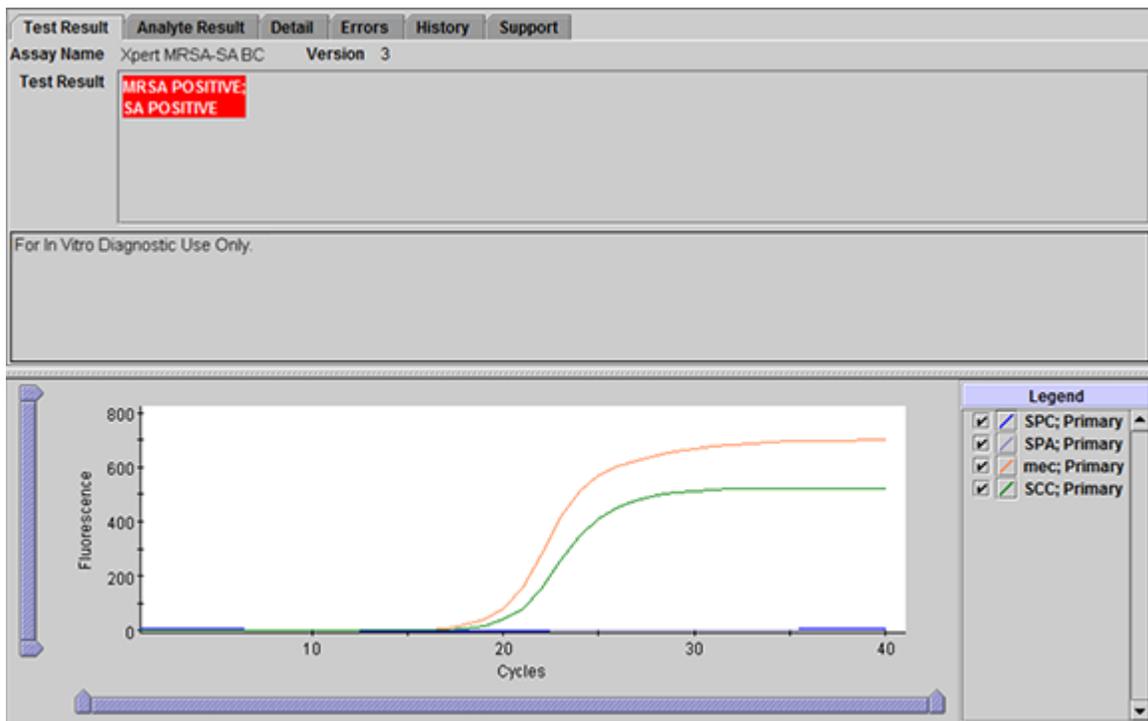


Figura 2. Ejemplo de un resultado MRSA positivo

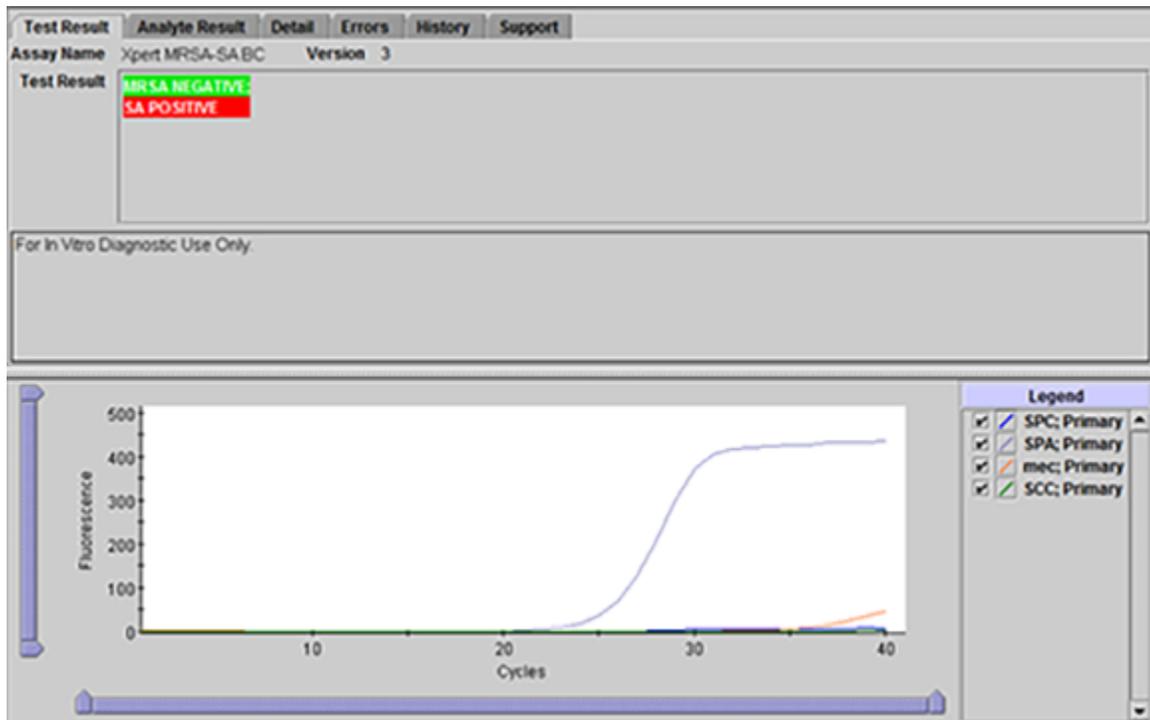


Figura 3. Ejemplo de un resultado SA positivo

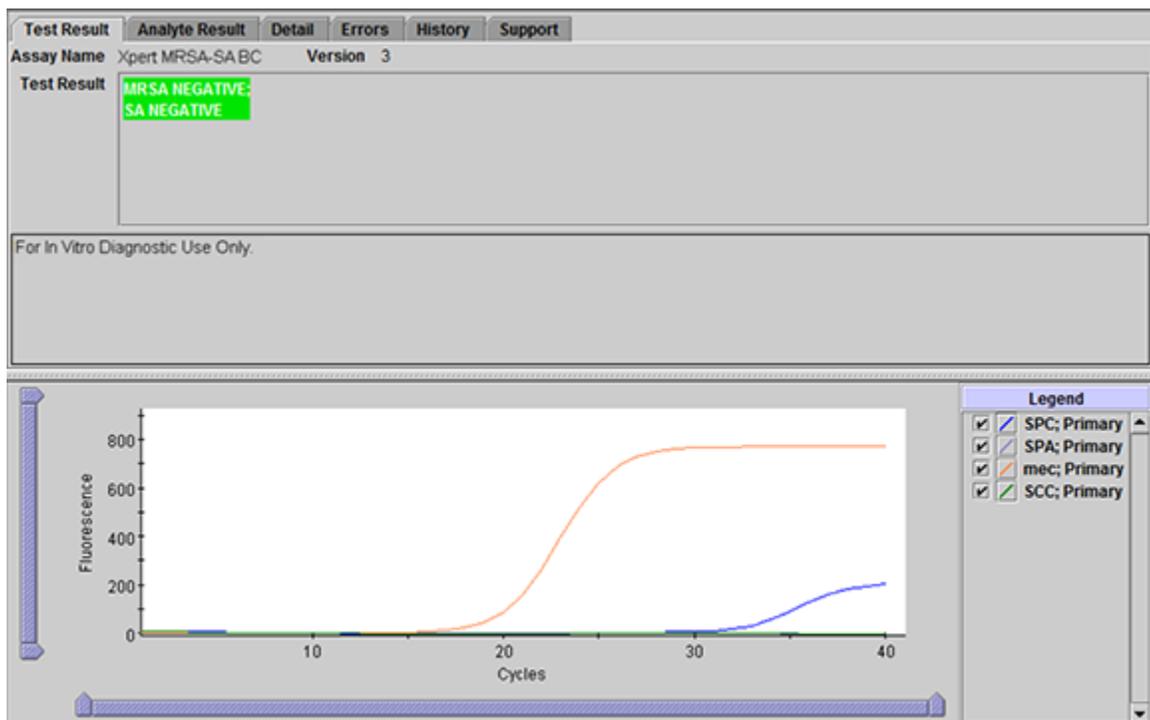


Figura 4. Ejemplo de un resultado negativo

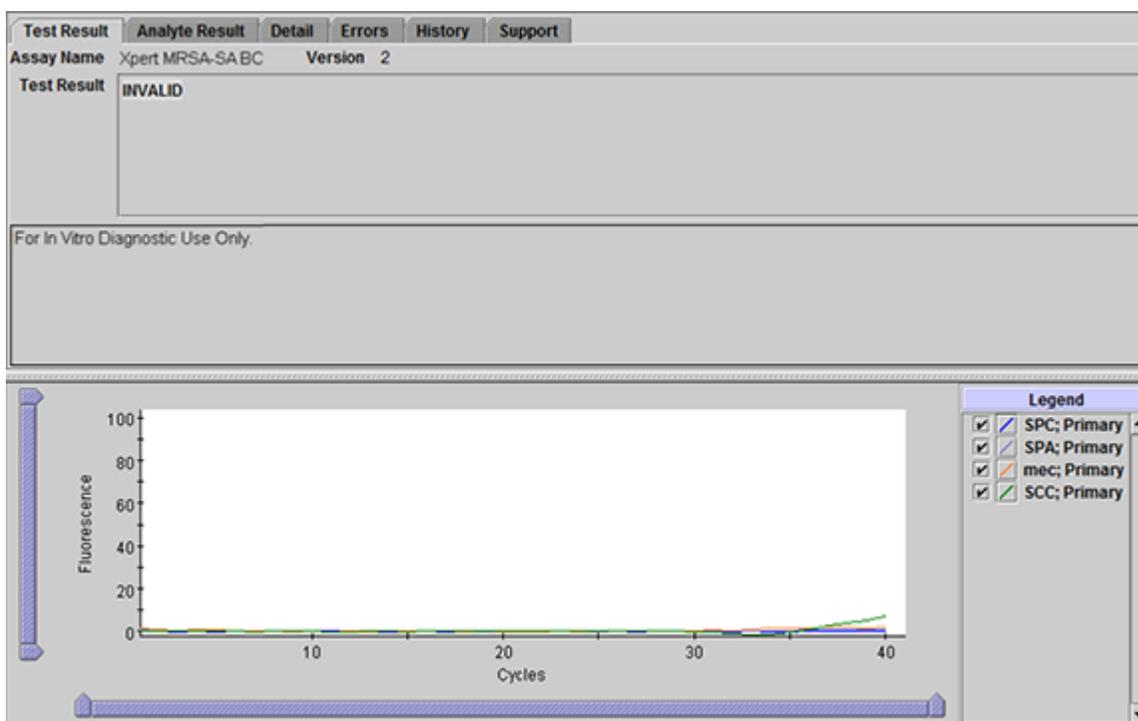


Figura 5. Ejemplo de un resultado no válido

## 12.1 Razones para repetir la prueba

La muestra deberá volverse a analizar si el primer análisis arroja alguno de los resultados siguientes.

- Un resultado **NO VÁLIDO (INVALID)** indica que el control SPC no superó la comprobación. La muestra no se procesó correctamente o la PCR está inhibida.
- Un resultado de **ERROR** indica que el control de comprobación de la sonda no superó la comprobación y que el ensayo se interrumpió, debido posiblemente a que el tubo de reacción no se llenó correctamente, a que se detectó un problema de integridad de la sonda de reactivo o a que se excedieron los límites máximos de presión.
- **SIN RESULTADO (NO RESULT)** indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, si el operador detuvo una prueba en curso.
- Si un QC externo deja de actuar según lo esperado, repita la prueba con el control externo o póngase en contacto con Cepheid para recibir asistencia.

## 12.2 Procedimiento de repetición de la prueba

Repita la prueba con un cartucho nuevo (no vuelva a utilizar el cartucho) y un frasco de reactivo de elución nuevo.

Cuando se esté utilizando un instrumento GeneXpert Dx, inicie la prueba en las 3 horas siguientes a la adición de la muestra preparada al cartucho. Cuando se esté utilizando un sistema GeneXpert Infinity, asegúrese de iniciar la prueba y de poner el cartucho en la cinta transportadora en los 30 minutos siguientes a la adición de la muestra al cartucho. El software Xpertise lleva un seguimiento de la vida útil restante, que permite que las pruebas se inicien antes de que transcurra el tiempo de caducidad de tres horas en el instrumento.

1. Extraiga el cartucho y el reactivo de elución del envase.
2. Mezcle con cuidado a mano la muestra de hemocultivo. No agite en mezclador vortex.
3. Utilizando la pipeta de volumen fijo suministrada (50 µl), transfiera el contenido de la pipeta de volumen fijo que contiene la muestra de hemocultivo positivo al frasco de reactivo de elución siguiendo los pasos indicados a continuación:
  - a. Apriete firmemente el bulbo de la parte superior de la pipeta.
  - b. Mientras lo mantiene apretado, coloque la punta de la pipeta en la muestra.
  - c. Con la pipeta aún en la muestra, deje de apretar el bulbo para llenar la pipeta.

- d. Coloque la punta de la pipeta sobre la boca del frasco de reactivo de elución.
- e. Apriete firmemente el bulbo de la parte superior para vaciar el contenido de la pipeta en el frasco de reactivo de elución. Es normal que quede líquido sobrante en el bulbo de desbordamiento.
4. Cierre la tapa del reactivo de elución y agite este en una agitadora vorticial a alta velocidad durante 10 segundos.
5. Abra la tapa del cartucho. Con una pipeta de transferencia (no suministrada), transfiera todo el contenido del frasco de reactivo de elución a la cámara de muestras del cartucho de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture. Consulte la figura 1.
6. Cierre la tapa del cartucho e inicie la prueba.

## 13 Limitaciones

- El rendimiento de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture se validó únicamente con los procedimientos descritos en este prospecto. Las modificaciones de estos procedimientos pueden afectar a la eficacia de la prueba. Los resultados de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture deben interpretarse junto con otros datos de laboratorio y clínicos de los que disponga el médico.
- No se ha determinado el rendimiento de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture cuando se utilizan tipos de frascos de hemocultivo distintos a BD BACTEC PEDS PLUS/F, BACTEC Plus Aerobic/F, BD BACTEC Plus Anaerobic/F, BD BACTEC Standard Anaerobic/F, BD BACTEC Standard/ 10 Aerobic/F, BD BACTEC LYTIC/10 Anaerobic/F, BacT/ALERT SA (aerobio estándar), BacT/ALERT SN (anaerobio estándar), VersaTREK REDOX 1 (aerobio) y VersaTREK REDOX 2 (anaerobio).
- Con la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture no pueden utilizarse medios de hemocultivo que contengan carbón vegetal activado (p. ej., BacT/ALERT FAN aerobic).
- Los análisis realizados con la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture deben utilizarse como complemento de otros métodos disponibles.
- Las mutaciones o polimorfismos en las regiones de unión de sondas o cebadores pueden afectar a la detección de variantes de SARM nuevas o desconocidas, y producir un resultado falso negativo.
- Pueden obtenerse resultados erróneos de la prueba debido a la recogida incorrecta de la muestra, a no seguirse los procedimientos recomendados para la recogida, manipulación y conservación de las muestras, a un error técnico, a la confusión de la muestra o a que el número de microorganismos en la muestra sea demasiado bajo para detectarse mediante la prueba. El estricto cumplimiento de las instrucciones de este prospecto es necesario para evitar resultados erróneos.
- En ocasiones, los resultados de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture pueden ser NO VÁLIDO (INVALID), ERROR o SIN RESULTADO (NO RESULT) y obligar a repetir la prueba, lo que puede producir un retraso en la obtención de los resultados finales.
- Las concentraciones de dianas inferiores al LD del ensayo pueden detectarse, pero los resultados pueden no ser reproducibles.
- La prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture puede generar resultados SARM falsos negativos cuando se analiza SA con resistencia de bajo nivel a la oxacilina (borderline oxacillin resistant SA, BORSA). El mecanismo de resistencia a la oxacilina en cepas de BORSA puede deberse a otros factores (p. ej., a un aumento de la producción de  $\beta$ -lactamasa), en vez de a la presencia del gen *mecA*. Las cepas de BORSA con concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) de oxacilina de 4 a 8  $\mu\text{g/ml}$  se consideran de resistencia de bajo nivel (borderline), pero la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture las puede notificar como SARM negativas.
- La prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture puede generar resultados SARM falsos negativos cuando se analice SA modificado (MOD-SA). El mecanismo de resistencia a la oxacilina en cepas de MOD-SA se debe a otros factores (p. ej., a cambios en la afinidad de las proteínas de unión de penicilina por la oxacilina), en vez de a la presencia del gen *mecA*. Las cepas de MOD-SA con CIM de oxacilina de 4 a 8  $\mu\text{g/ml}$  se consideran de resistencia de bajo nivel (borderline), pero la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture las notifica como SARM negativas.
- La prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture generará un resultado negativo falso en SARM cuando se analice una cepa que contenga un homólogo de *mecA* conocido como *mecC*, tal como SA LGA251.
- La prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture puede generar resultados SARM falsos positivos cuando se analice una muestra que contenga estafilococos coagulasa negativos resistentes a la meticilina (SCNRM) y *Staphylococcus aureus* sensible a la meticilina.
- La prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture puede generar resultados SARM negativos falsos cuando se analice una muestra de hemocultivo que contenga varias cepas.
- Un resultado positivo de la prueba no indica necesariamente la presencia de microorganismos viables. Sin embargo, presupone la presencia de SARM o SA.

## 14 Valores esperados

En el estudio clínico de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture se incluyó un total de 792 muestras de hemocultivos de ocho centros de todo Estados Unidos. El número y el porcentaje de muestras positivas según el método del cultivo de referencia, calculados por grupo de edad, se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Prevalencia observada de SARM y SA por cultivo

Grupo de edad	N total	SARM por cultivo		SA por cultivo	
		Número de positivos	Prevalencia observada	Número de positivos	Prevalencia observada
0-20 años	22	2	9,1 %	7	31,8 %
21-30 años	43	8	18,6 %	10	23,3 %
31-40 años	65	8	16,9 %	25	38,5 %
41-50 años	124	22	17,7 %	45	36,3 %
51-60 años	154	23	14,9 %	48	31,8 %
61-70 años	165	15	19,1 %	46	27,9 %
>70 años	219	24	11,0 %	54	24,7 %
Total	792	105	13,3 %	236	29,8 %

## 15 Eficacia diagnóstica

El archivo de definición del ensayo actualizado con algoritmos basados en reglas y la comercialización de un nuevo software GeneXpert compatible con esta actualización han sido validados mediante la repetición de los análisis de los datos de rendimiento clínico originales y un subconjunto de los datos de rendimiento analítico originales, incluidos LD, inclusividad, exclusividad, sustancias potencialmente interferentes, reproducibilidad y precisión. La repetición de los análisis mostró que los dispositivos eran esencialmente equivalentes.

### 15.1 Eficacia clínica

La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture se determinó en un estudio prospectivo multicéntrico realizado en ocho centros de EE. UU. mediante la comparación de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture con cultivo.

Los sujetos incluyeron individuos cuya atención médica ordinaria exigía pruebas de hemocultivos. Si la muestra de hemocultivo daba positivo en proliferación microbiana y la tinción de Gram mostraba cocos grampositivos (en cadena o en racimos), la muestra se consideraba apta para su inclusión en el estudio clínico y se obtenían alícuotas del material de cultivo sobrante para el análisis con la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture. Los procedimientos de cultivo y tinción de Gram y el tratamiento de los pacientes continuaron en el centro siguiendo la práctica habitual.

Las pruebas de sensibilidad se realizaron de acuerdo con los documentos M2-A11 y M100-S22 del CLSI.<sup>12,13</sup> Los resultados de difusión en disco de cefoxitina se utilizaron como sustitutos para la detección de la resistencia a la meticilina/oxacilina.

El rendimiento de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture se calculó como porcentaje de acuerdo con los resultados del cultivo de referencia.

### 15.2 Resultados generales

Se analizó un total de 792 muestras para la detección de SARM y SA mediante la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture y cultivo.

Cuando se comparó con el método del cultivo de referencia, la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture identificó el 98,1% de las muestras positivas para SARM y el 99,6% de las muestras negativas para SARM.

Cuando se comparó con el método del cultivo de referencia, la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture identificó el 99,6% de las muestras positivas para SA y 99,5% de las muestras negativas para SA.

El rendimiento de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture se resume en la tabla 3.

Tabla 3. Rendimiento de la prueba Xpert MRSA/SA BC frente al cultivo de referencia

		Cultivo			
		SARM+	SA+/SARM-	Neg/Sin crecimiento	Total
Xpert	SARM+	103	2	1	106
	SA+/SARM-	2	128	2	132
	SA-	0	1	553	554
	Total	105	131	556	792
Rendimiento del Xpert	SARM				
	PCP: 98,1% (103/104/105 IC del 95 %: 93,3-99,8 )				
	PCN: 99,6% (684/687, IC del 95 %: 98,7-99,9)				
	SA				
	PCP <sup>a</sup> : 99,6% (235/236, IC del 95 % 97,7-99,9)				
	PCN <sup>b</sup> : 99,5% (553/556, IC del 95 % <sup>c</sup> : 98,4-99,9)				

<sup>a</sup> Concordancia porcentual positiva

<sup>b</sup> Concordancia porcentual negativa

<sup>c</sup> Intervalo de confianza

El 96,1 % (764/795) de los procesamientos de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture realizados con muestras aptas pudieron llevarse a cabo satisfactoriamente en el primer intento. Los 31 procesamientos restantes dieron resultados indeterminados en el primer intento . NO VÁLIDO (INVALID), 22: ERROR y 8: SIN RESULTADO [NO RESULT]). Treinta de los 31 casos indeterminados se volvieron a analizar; una muestra no se volvió a analizar. Veintiocho de los 30 casos indeterminados que se volvieron a analizar arrojaron resultados válidos al repetir el ensayo. La tasa global de éxito del ensayo fue del 99,6 % (792/795).

## 16 Eficacia analítica

### 16.1 Límite de detección

Se realizaron estudios con el fin de determinar estimaciones puntuales y los intervalos de confianza del 95 % bilaterales para el límite de detección (LD) analítico en células de SA y células de SA resistente a la meticilina (SARM) diluidas en una matriz de hemocultivo negativo simulado que puede ser detectado por la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture. La matriz consistía en sangre total sin SA y células de SESM (*Staphylococcus epidermidis* susceptible a la meticilina) añadidas a medio de hemocultivo a una concentración de 106 UFC/ml. El límite de detección se define como el número mínimo de unidades formadoras de colonias (UFC) por muestra que pueden distinguirse de forma reproducible de las muestras negativas con una confianza del 95 % o la concentración más baja a la que 19 de 20 réplicas son positivas.

Para el SARM, se evaluaron 20 réplicas a cada concentración de SARM analizada (UFC/prueba) en 10 aislados individuales que representaban los tipos I, II, III, IVa, IVd, V, VI, VII y VIII de SCCmec. Cuando se caracterizaron mediante electroforesis en gel de campo pulsado (pulsed-field gel electrophoresis, PFGE), estuvieron representadas las cepas USA100, la más común adquirida en el ámbito sanitario, y USA400, una de las más comunes adquiridas en el ámbito comunitario.

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

Las estimaciones puntuales y los intervalos de confianza se determinaron mediante regresión probit utilizando datos (a saber, el número de resultados positivos por número de réplicas de cada nivel) que abarcaban un intervalo de cargas de UFC/prueba. Los intervalos de confianza se determinaron utilizando estimaciones de máxima verosimilitud de los parámetros del modelo probit, utilizando la matriz de varianzas y covarianzas de muestras de gran tamaño. Las estimaciones puntuales del LD y los intervalos de confianza superior e inferior del 95 % para cada SA y cada tipo SCCmec de SARM analizados se resumen en la tabla 4 y la tabla 5.

Tabla 4. LD e intervalos de confianza del 95 %: SA

Cepa de SA	ID de la PFGE	LD confirmado (UFC/prueba) [al menos 19/20 positivos]	Estimación de LD (análisis de regresión probit) (UFC/prueba)		
			IC del 95 % inferior	LD estimado	IC del 95 % superior
102-04 <sup>a</sup>	USA1200	100 (19/20)	60,4	74,5	101,6
29213 <sup>b</sup>	desconocido	150 (19/20)	120,1	138,2	172,7
N129 <sup>a</sup>	USA900	300 (19/20)	224,2	255,2	314,8

<sup>a</sup> Fuente de la cepa: American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA EE. UU.

<sup>b</sup> Fuente de la cepa: Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, GA, EE. UU.

Tabla 5. LD e intervalos de confianza del 95 %: SARM

ID de cepa de SARM	ID de la PFGE	LD confirmado (UFC/prueba) [al menos 19/20 positivos]	Estimación de LD (análisis de regresión probit) (UFC/prueba)		
			IC del 95 % inferior	LD estimado	IC del 95 % superior
Tipo I (64/4176) <sup>a</sup>	USA500	350 (19/20)	332,3	366,8	433,5
Tipo II (N315) <sup>b</sup>	USA100 <sup>c</sup>	175 (19/20)	113,7	137,0	178,1
Tipo III (11373) <sup>b</sup>	desconocido	225 (19/20)	191,9	222,6	273,9
Tipo IVa (MW2) <sup>b</sup>	USA400 <sup>c</sup>	350 (19/20)	313,1	356,1	427,0
Tipo V (ST59) <sup>d</sup>	USA1000 <sup>c</sup>	250 (19/20)	218,2	243,1	282,3
Tipo VI (HDE288) <sup>ef</sup>	USA800 <sup>c</sup>	250 (19/20)	222,2	246,0	385,0
Tipo VII (JCSC6082) <sup>a</sup>	desconocido	300 (19/20)	264,1	288,0	347,1
Tipo VIII (WA MRSA-16) <sup>d</sup>	desconocido	400 (19/20)	48,7	386,7	499,1
Tipo II (BK2464) <sup>b</sup>	USA100 <sup>g</sup>	125 (19/20)	94,3	116,1	162,0
Tipo IVd (BK2529) <sup>bf</sup>	USA500 <sup>g</sup>	200 (19/20)	120,8	148,8	202,5

<sup>a</sup> Teruyo Ito, Departamento de Bacteriología, Facultad de Medicina de la Universidad de Juntendo, Tokio, Japón

<sup>b</sup> Barry Kreiswirth, Director del Instituto de Investigación de Salud Pública (PHRI), Newark, NJ, EE. UU.

<sup>c</sup> K. Bonnstetter et al., J Clin Micro 2007, p. 141-146; L. McDougal et al., J Clin Micro 2003, p. 5113-5120

<sup>d</sup> Geoffrey Coombs, Departamento de Microbiología y Enfermedades Infecciosas, Royal Perth Hospital, Perth, Australia Occidental

<sup>e</sup> Herminia de Lencastre, Laboratorio de Genética Molecular, Instituto de Tecnología Química y Biológica (ITQB), Universidad Nova de Lisboa, Oeiras, Portugal

<sup>f</sup> Aislados heterogéneos resistentes a la oxacilina

<sup>g</sup> Barry Kreiswirth, comunicación personal

Los resultados de este estudio indican que la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture producirá un resultado SA positivo el 95 % de las veces en una alícuota de hemocultivo positivo (50 µl) que contenga 300 UFC y un resultado SARM positivo el 95 % de las veces en una alícuota de hemocultivo positivo (50 µl) que contenga 400 UFC.

## 16.2 Estudio de inclusividad analítica (reactividad)

Se utilizó la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture para analizar doscientas cincuenta (250) cepas de SA (47 de SASM y 203 de SARM) de diversas fuentes. Las selecciones se llevaron a cabo para que representaran las estirpes primarias con énfasis en los complejos clonales específicos dentro de los cuales se observa predominantemente el SARM. Se incluyeron estirpes que contenían SARM y SASM, y otras que contenían solamente SASM. Cuando se caracterizaron mediante electroforesis en gel de campo pulsado (pulsed-field gel electrophoresis, PFGE), también se incluyeron muchos tipos USA, incluida la cepa USA100, la más común adquirida en el ámbito sanitario, y las cepas USA300 y USA400, las más frecuentes de las adquiridas en el ámbito comunitario.<sup>14</sup> También se analizaron cepas que representaban las variantes de «cassette vacío» y cepas heterogéneas, como la de SA con resistencia de bajo nivel a la oxacilina (borderline oxacillin resistant *S. aureus*, BORSA) (p. ej., valores de CIM de oxacilina de 4 a 8 µg/ml).

Todas las cepas se analizaron por triplicado usando 10 µl de suspensión celular en fase estacionaria diluida 1 millón de veces. Se determinaron las unidades formadoras de colonias por ensayo (UFC/prueba) mediante recuentos de placas por triplicado. La prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture notificó correctamente todos los resultados, excepto en el caso de una muestra. La prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay identificó incorrectamente una (1) cepa de SA (LGA251) como SASM en vez de SARM. La cepa LGA251 contiene un nuevo gen *mecA* que representa un *mecC* homólogo del *mecA* divergente (esto es, el *mecA*<sub>LGA251</sub>), situado en un nuevo elemento *mec* del cromosoma estafilocócico, denominado SCC *mec* tipo XI. Los cebadores y las sondas de *mecA* de la prueba MRSA/SA Blood Culture no detectarán el gen *mecC* de esta cepa, debido a mutaciones en las regiones de unión de los cebadores y las sondas. El gen *mecC* tiene importantes diferencias en homología cuando se compara con el gen *mecA* de otras cepas no variantes de SARM.

## 16.3 Especificidad analítica (exclusividad)

Se recogieron y cuantificaron 101 microorganismos/cepas, y se analizaron con la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture. De las 101 cepas analizadas, 91 cultivos se obtuvieron de la American Type Culture Collection (ATCC); 1 se obtuvo de la Colección de cultivos de la Universidad de Gotemburgo, Suecia (CCUG); 1 se obtuvo de Teruyo Ito, Universidad de Juntendo, Tokio, Japón; 1 cepa de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa (KPC) se obtuvo de la National Collection of Type Cultures (NCTC), Reino Unido; y 7 se obtuvieron de la Network on Antimicrobial Resistance in SA (NARSA). Estas cepas representan especies filogenéticamente relacionadas con SA o especies que pueden encontrarse en entornos hospitalarios.

Los microorganismos analizados se identificaron como grampositivos (74), gramnegativos (24) o levaduras (3). Estos microorganismos incluyeron *Staphylococcus* coagulasa negativos sensibles a la meticilina, SCNSM (27) y *Staphylococcus* coagulasa negativos resistentes a la meticilina, SCNRM (12). Los microorganismos se clasificaron además como aerobios (94) o anaerobios (7).

Se analizaron tres o más réplicas de cada aislado a 1,7-3,2 unidades McFarland. En las condiciones del estudio, todos los aislados se notificaron como **MRSA NEGATIVO; SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)**; ninguno de los aislados fue detectado por la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture. La especificidad analítica fue del 100 %.

## 16.4 Estudio de sustancias interferentes

Las sustancias que podrían estar presentes en hemocultivos e interferir con la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture se analizaron en el estudio de sustancias interferentes. Las sustancias potencialmente interferentes evaluadas incluyeron, entre otras, sangre completa anticoagulada con ACD, EDTA, heparina y citrato sódico, plasma humano, tres frascos de medios de hemocultivo (Becton Dickinson BACTEC Plus Aerobic/F, BioMérieux BacT/ALERT SA (estándar aerobio) y TREK Diagnostics VersaTREK REDOX1 (aerobio), bilirrubina,  $\gamma$ -globulina, hemoglobina, triglicéridos y polianetol sulfonato de sodio (SPS).

La bilirrubina, la  $\gamma$ -globulina, la hemoglobina y los triglicéridos se analizaron a concentraciones aproximadamente un log superiores a los niveles de referencia. El SPS se analizó a una concentración 10 veces superior a la encontrada en los medios de hemocultivo. Se analizaron muestras negativas (n=8) en cada sustancia para determinar el efecto en el rendimiento del control de procesamiento de muestras (CPM). Las muestras positivas (n=8) se analizaron por sustancia con dos aislados clínicos de cada uno de los siguientes: SASM (29213 y 102-04) y SARM (SCC*mec* tipos II y III) enriquecidos cerca del LD analítico determinado para cada aislado. Todos los resultados se compararon con controles de tampones positivos y negativos. Todas las muestras negativas se notificaron correctamente como **MRSA NEGATIVO; SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)** con la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture.

Ninguna de las sustancias potencialmente interferentes inhibió de forma estadísticamente significativa el rendimiento del SPC en muestras negativas (valor p = >0.05). Todas las muestras SASM positivas se notificaron correctamente como **MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)** con la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture. Todas las muestras SARM positivas se notificaron correctamente como **MRSA POSITIVO; SA POSITIVO (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)** con la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture.

**POSITIVE; SA POSITIVE)** con la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture. Ninguna de las sustancias potencialmente interferentes dio como resultado una diferencia de Ct de  $\geq 1$  ciclo respecto a los controles de tampón, y no se notificaron resultados negativos falsos.

## 16.5 Estudio de contaminación por arrastre

Se llevó a cabo un estudio para demostrar que los cartuchos GeneXpert autónomos de un solo uso previenen la contaminación por arrastre en muestras negativas procesadas después de muestras positivas muy altas en el mismo módulo GeneXpert. Este estudio consistía en una muestra negativa procesada en el mismo módulo GeneXpert inmediatamente después de una muestra positiva muy alta ( $6 \times 10^7$  células de SARM o SARM) en el mismo módulo del sistema GeneXpert Dx. Esto se repitió 40 veces entre 2 módulos GeneXpert. Se llevaron a cabo un total de 84 análisis por cepa (40 muestras positivas por sistema por cepa y 44 muestras negativas por sistema por cepa). No hubo ningún indicio de contaminación por arrastre. Las 40 muestras positivas de SARM se notificaron correctamente como **SARM POSITIVO; SA POSITIVO (MRSA POSITIVO; SA POSITIVO)**. Las 40 muestras positivas de SARM se notificaron correctamente como **MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO (MRSA NEGATIVO; SA POSITIVO)**. Las 88 muestras negativas se notificaron correctamente como **MRSA NEGATIVO; SA NEGATIVO (MRSA NEGATIVO; SA NEGATIVO)**.

## 16.6 Validación de los frascos de hemocultivo

El rendimiento de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture se evaluó con otros siete tipos de medios de hemocultivo. Se evaluaron los siguientes tipos de frasco, tanto para SARM como para SARM. Consulte la tabla 6.

**Tabla 6. Frascos de hemocultivo**

BD BACTEC™ PEDS PLUS™/F
BD BACTEC™ Plus Anaerobic/F
BD BACTEC™ Standard Anaerobic/F
BD BACTEC™ Standard/10 Aerobic/F
BD BACTEC™ LYTIC/10 Anaerobic/F
BacT/ALERT® SN anaerobio estándar
VersaTREK™ REDOX™ 2 (anaerobio)

Se crearon muestras de hemocultivos positivos para cada tipo de frasco añadiendo sangre completa humana negativa y una cepa de SARM y una cepa de SARM individualmente a una concentración bacteriana final de 10 UFC/ml por frasco. Los frascos de hemocultivo se incubaron hasta que dieron positivo en proliferación. Una vez que el frasco alcanzó la positividad, se analizó una alícuota de cada muestra a 1500 UFC/prueba en réplicas de seis para cada tipo de frasco. Todas las réplicas positivas arrojaron el resultado positivo esperado para los analitos diana presentes en la muestra.

Se crearon muestras de hemocultivos negativos para cada tipo de frasco añadiendo sangre completa negativa e incubando durante 24 horas antes del análisis con la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture. Todas las réplicas negativas arrojaron el resultado negativo esperado.

## 17 Reproducibilidad

La reproducibilidad de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture se evaluó en tres centros utilizando muestras que consistían en material cultivado añadido a una matriz simulada. Las muestras se prepararon a concentraciones que representaban niveles negativos altos (por debajo del LD), positivos bajos (~1X LD) y positivos moderados (~2-3X LD) de SARM y SARM. Se utilizaron dos cepas diferentes de SARM. En el grupo también se incluyeron miembros negativos, que consistían en *Staphylococcus epidermidis* añadido a una matriz simulada. Se analizó un grupo de 11 muestras en cinco días diferentes por dos operadores diferentes tres veces al día en tres centros (11 muestras x 2 operadores x 5 días x 3 réplicas por día x 3 centros). En el estudio se incluyó un lote de reactivos de Xpert MRSA/SA BC.

Las pruebas Xpert MRSA/SA Blood Culture se realizaron de acuerdo con el procedimiento de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture. El porcentaje de concordancia para cada miembro del grupo de muestras se presenta en la tabla 7.

**Tabla 7. Resumen de datos de reproducibilidad: Concordancia por centro del estudio/instrumento**

Muestra	Centro 1/GX Dx	Centro 2 Inf-80	Centro 3/Inf-48	% de concordancia total
Neg alto en SARM-1 (por debajo del LD)	56,7 % (17/30)	60,0% (18/30)	66,7 % (20/30)	61,1 % (55/90)
Pos bajo en SARM-1 (~1X LD)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Pos mod en SARM-1 (~2-3X LD)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (29/29)	100,0 % (89/89) <sup>a</sup>
Neg alto en SARM-2 (por debajo del LD)	43,3 % (13/30)	53,3 % (16/30)	70,0 % (21/30)	55,6 % (50/90)
Pos bajo en SARM-2 (~1X LD)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Pos mod en SARM-2 (~2-3X LD)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Neg alto en SASM (por debajo del LD)	60,0% (18/30)	48,3 % (14/29)	70,0 % (21/30)	59,6 % (53/89) <sup>b</sup>
Pos bajo en SASM (~1X LD)	96,7% (29/30)	100,0 % (30/30)	96,7% (29/30)	97,8 % (88/90)
Pos mod en SASM (~2-3X LD)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Negativo-1	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Negativo-2	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)

<sup>a</sup> Una muestra resultó indeterminada en el análisis inicial y en la repetición de la prueba.

<sup>b</sup> Una muestra no se analizó por error.

La reproducibilidad de la prueba Xpert MRSA/SA Blood Culture 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 (DE) y el coeficiente de variación (CV) entre centros, entre lotes, entre días y entre análisis para cada miembro del grupo de muestras se presentan en la tabla 8.

**Tabla 8. Resumen de los datos de reproducibilidad**

Diana	Muestra	Conc	Con- cuerdan N	Concor (%)	Ct medio	Entre instrumentos		Entre días		Entre análisis <sup>a</sup>		Intraciclos		Total	
						DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
spa	SARM-1	neg alto	55/90	61,1	35,6	0,18	0,5	0,21	0,6	0,00	0,0	0,95	2,7	0,99	2,8
	SARM-1	pos bajo	90/90	100,0	32,8	0,27	0,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,62	1,9	0,67	2,1
	SARM-1	pos mod	89/89	100,0	31,2	0,11	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,58	1,9	0,59	1,9
	SARM-2	neg alto	50/90	55,6	35,3	0,15	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,99	2,8	1,00	2,8
	SARM-2	pos bajo	90/90	100,0	32,3	0,11	0,4	0,00	0,0	0,13	0,4	0,63	1,9	0,65	2,0

Diana	Muestra	Conc	Concuerdan N	Concor (%)	Ct medio	Entre instrumentos		Entre días		Entre análisis <sup>a</sup>		Intraciclos		Total		
						DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	
	SARM-2	pos mod	90/90	100,0	30,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,55	1,8	0,55	1,8	
	SASM	neg alto	53/89	59,6	36,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	1,26	3,5	1,26	3,5	
	SASM	pos bajo	88/90	97,8	33,5	0,07	0,2	0,18	0,5	0,00	0,0	0,89	2,7	0,91	2,7	
	SASM	pos mod	90/90	100,0	31,7	0,08	0,2	0,20	0,6	0,17	0,6	0,48	1,5	0,56	1,8	
	NEG-1	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-2	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
mec	SARM-1	neg alto	55/90	61,1	35,8	0,00	0,0	0,36	1,0	0,00	0,0	0,83	2,3	0,91	2,5	
	SARM-1	pos bajo	90/90	100,0	33,4	0,12	0,4	0,19	0,6	0,00	0,0	0,55	1,6	0,59	1,8	
	SARM-1	pos mod	89/89	100,0	31,9	0,08	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,46	1,4	0,47	1,5	
	SARM-2	neg alto	50/90	55,6	35,8	0,00	0,0	0,34	0,9	0,00	0,0	1,03	2,9	1,08	3,0	
	SARM-2	pos bajo	90/90	100,0	32,8	0,11	0,3	0,00	0,0	0,16	0,5	0,51	1,6	0,54	1,7	
	SARM-2	pos mod	90/90	100,0	31,5	0,00	0,0	0,16	0,5	0,00	0,0	0,49	1,5	0,51	1,6	
	SASM	neg alto	53/89	59,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	SASM	pos bajo	88/90	97,8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	SASM	pos mod	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-1	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-2	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SCC	SARM-1	neg alto	55/90	61,1	37,2	0,20	0,5	0,37	1,0	0,35	1,0	0,82	2,2	0,98	2,6	
	SARM-1	pos bajo	90/90	100,0	34,5	0,19	0,5	0,23	0,7	0,00	0,0	0,59	1,7	0,66	1,9	
	SARM-1	pos mod	89/89	100,0	33,0	0,16	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,45	1,4	0,48	1,5	
	SARM-2	neg alto	50/90	55,6	36,8	0,23	0,6	0,24	0,6	0,10	0,3	1,00	2,7	1,06	2,9	
	SARM-2	pos bajo	90/90	100,0	33,7	0,11	0,3	0,00	0,0	0,26	0,8	0,57	1,7	0,64	1,9	
	SARM-2	pos mod	90/90	100,0	32,4	0,00	0,0	0,09	0,3	0,00	0,0	0,45	1,4	0,46	1,4	
	SASM	neg alto	53/89	59,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	SASM	pos bajo	88/90	97,8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	SASM	pos mod	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-1	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-2	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SPC	SARM-1	neg alto	55/90	61,1	32,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,20	0,6	0,65	2,0	0,68	2,1	
	SARM-1	pos bajo	90/90	100,0	33,0	0,00	0,0	0,16	0,5	0,10	0,3	0,61	1,8	0,63	1,9	
	SARM-1	pos mod	89/89	100,0	33,0	0,27	0,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,83	2,5	0,87	2,6	
	SARM-2	neg alto	50/90	55,6	33,1	0,23	0,7	0,00	0,0	0,10	0,3	0,85	2,6	0,89	2,7	
	SARM-2	pos bajo	90/90	100,0	32,9	0,15	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,78	2,4	0,79	2,4	
	SARM-2	pos mod	90/90	100,0	32,8	0,00	0,0	0,23	0,7	0,00	0,0	0,66	2,0	0,70	2,1	

Diana	Muestra	Conc	Concuerdan N	Concor (%)	Ct medio	Entre instrumentos		Entre días		Entre análisis <sup>a</sup>		Intraciclos		Total	
						DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
	SASM	neg alto	53/89	59,6	32,8	0,18	0,5	0,15	0,5	0,00	0,0	0,74	2,2	0,77	2,4
	SASM	pos bajo	88/90	97,8	32,9	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,72	2,2	0,72	2,2
	SASM	pos mod	90/90	100,0	33,0	0,00	0,0	0,31	0,9	0,00	0,0	0,69	2,1	0,76	2,3
	NEG-1	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-2	Neg	90/90	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Concor=Concordancia, Conc=Concentración, CV=coeficiente de variación, NA=No aplicable a las muestras negativas, DE=desviación estándar.															

<sup>a</sup> Un análisis se define como el análisis de las tres muestras de cada miembro del grupo de muestras realizado por un operador en un centro y en un día determinados.

**Nota** El cálculo de la variación debida a algunos factores puede ser numéricamente negativo; esto ocurre si la variabilidad debida a esos factores es muy pequeña. Cuando esto ocurre, la variabilidad indicada por los valores de DE y CV se establece en 0.

## 18 Estudio de precisión de los sistemas del instrumento

Se llevó a cabo un estudio de precisión interno para comparar el rendimiento de los sistemas del instrumento GeneXpert Dx, Infinity-48 e Infinity-80 utilizando muestras que consistían en material cultivado añadido a una matriz simulada. Las muestras se prepararon a concentraciones que representaban niveles negativos altos (por debajo del LD), positivos bajos (~1X LD) y positivos moderados (~2-3X LD) de SARM y SASM. Se utilizaron dos cepas diferentes de SARM. En el grupo también se incluyeron miembros negativos, que consistían en *Staphylococcus epidermidis* añadido a una matriz simulada. Dos operadores diferentes analizaron un grupo de 11 muestras en 12 días diferentes, cuatro veces al día por instrumento (11 muestras x 2 operadores x 12 días x 4 réplicas por día x 3 instrumentos). En el estudio se incluyó un lote de reactivos de Xpert MRSA/SA BC. Las pruebas Xpert MRSA/SA Blood Culture se realizaron de acuerdo con el procedimiento de la prueba Xpert MRSA/SA. El porcentaje de concordancia para cada miembro del grupo de muestras se presenta en la tabla 9.

**Tabla 9. Resumen de resultados de precisión: Concordancia por instrumento**

Muestra	GX Dx	Inf-48	Inf-80	% de concordancia total
Neg alto en SARM-1 (por debajo del LD)	50,0 % (48/96)	51,6 % (49/95)	35,4 % (34/96)	45,6 % (131/287) <sup>a</sup>
Pos bajo en SARM-1 (~1X LD)	96,9 % (93/96)	99,0 % (95/96)	99,0 % (95/96)	98,3 % (283/288)
Pos mod en SARM-1 (~2-3X LD)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	99,0 % (95/96)	99,7 % (287/288)
Neg alto en SARM-2 (por debajo del LD)	80,2 % (77/96)	78,1 % (75/96)	80,2 % (77/96)	79,5 % (229/288)
Pos bajo en SARM-2 (~1X LD)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (288/288)
Pos mod en SARM-2 (~2-3X LD)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	99,0 % (95/96)	99,7 % (287/288)
Neg alto en SASM (por debajo del LD)	76,0 % (73/96)	71,9 % (69/96)	81,3 % (78/96)	76,4 % (220/288)

Muestra	GX Dx	Inf-48	Inf-80	% de concordancia total
Pos bajo en SASM (~1X LD)	96,9 % (93/96)	99,0 % (95/96)	100,0 % (96/96)	98,6 % (284/288)
Pos mod en SASM (~2-3X LD)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (288/288)
Negativo-1	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (288/288)
Negativo-2	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (288/288)

<sup>a</sup> Una muestra resultó indeterminada en el análisis inicial y se analizó de nuevo.

Los resultados del estudio de precisión también se evaluaron en términos de la señal de fluorescencia expresada en valores de Ct para cada diana detectada. La media, la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV) entre instrumentos, entre días y entre análisis para cada miembro del grupo de muestras se presentan en la tabla 10.

**Tabla 10. Resumen de los datos de precisión**

Diana	Muestra	Conc	Con- cuerdan/ N	Concor (%)	Ct medio	Entre instrumentos		Entre días		Entre análisis <sup>a</sup>		Intraciclós		Total	
						DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
spa	SARM-1	neg alto	131/287	45,6	34,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	1,09	3,2	1,09	3,2
	SARM-1	pos bajo	283/288	98,3	32,9	0,02	0,1	0,16	0,5	0,00	0,0	0,78	2,4	0,80	2,4
	SARM-1	pos mod	287/288	99,7	32,0	0,06	0,2	0,10	0,3	0,00	0,0	0,62	1,9	0,63	2,0
	SARM-2	neg alto	229/288	79,5	36,2	0,14	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	1,19	3,3	1,35	3,7
	SARM-2	pos bajo	288/288	100,0	32,4	0,03	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,57	1,8	0,62	1,9
	SARM-2	pos mod	287/288	99,7	31,1	0,12	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,49	1,6	0,51	1,7
	SASM	neg alto	220/288	76,4	36,4	0,21	0,6	0,00	0,0	0,00	0,0	1,36	3,7	1,59	4,4
	SASM	pos bajo	284/288	98,6	33,8	0,09	0,3	0,18	0,5	0,00	0,0	0,87	2,6	0,90	2,7
	SASM	pos mod	288/288	100,0	32,2	0,08	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,70	2,2	0,74	2,3
	NEG-1	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
NEG-2	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
mec	SARM-1	neg alto	131/287	45,6	34,5	0,00	0,0	0,11	0,3	0,00	0,0	0,86	2,5	0,87	2,5
	SARM-1	pos bajo	283/288	98,3	33,4	0,07	0,2	0,14	0,4	0,00	0,0	0,61	1,8	0,63	1,9
	SARM-1	pos mod	287/288	99,7	32,5	0,08	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,55	1,7	0,56	1,7
	SARM-2	neg alto	229/288	79,5	35,9	0,00	0,0	0,28	0,8	0,00	0,0	1,02	2,8	1,06	2,9

Diana	Muestra	Conc	Con-cuerdan/ N	Concor (%)	Ct medio	Entre instrumentos		Entre días		Entre análisis <sup>a</sup>		Intraciclos		Total		
						DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	
	SARM-2	pos bajo	288/288	100,0	32,8	0,06	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,49	1,5	0,53	1,6	
	SARM-2	pos mod	287/288	99,7	31,5	0,14	0,5	0,05	0,2	0,00	0,0	0,45	1,4	0,47	1,5	
	SASM	neg alto	220/288	76,4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	SASM	pos bajo	284/288	98,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	SASM	pos mod	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-1	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-2	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SCC	SARM-1	neg alto	131/287	45,6	36,7	0,18	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,51	4,1	1,52	4,1	
	SARM-1	pos bajo	283/288	98,3	34,7	0,00	0,0	0,20	0,6	0,00	0,0	1,11	3,2	1,13	3,2	
	SARM-1	pos mod	287/288	99,7	33,7	0,12	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,78	2,3	0,78	2,3	
	SARM-2	neg alto	229/288	79,5	37,3	0,00	0,0	0,32	0,8	0,00	0,0	1,03	2,8	1,17	3,1	
	SARM-2	pos bajo	288/288	100,0	34,2	0,02	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,44	1,3	0,50	1,5	
	SARM-2	pos mod	287/288	99,7	33,0	0,12	0,4	0,03	0,1	0,00	0,0	0,49	1,5	0,50	1,5	
	SASM	neg alto	220/288	76,4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	SASM	pos bajo	284/288	98,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	SASM	pos mod	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-1	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	NEG-2	Neg	288/288	100,0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SPC	SARM-1	neg alto	131/287	45,6	33,4	0,00	0,0	0,17	0,5	0,00	0,0	0,84	2,5	0,86	2,6	
	SARM-1	pos bajo	283/288	98,3	33,4	0,10	0,3	0,21	0,6	0,00	0,0	0,77	2,3	0,80	2,4	
	SARM-1	pos mod	287/288	99,7	33,4	0,08	0,2	0,15	0,5	0,00	0,0	0,72	2,2	0,74	2,2	
	SARM-2	neg alto	229/288	79,5	33,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,82	2,4	0,82	2,4	
	SARM-2	pos bajo	288/288	100,0	33,4	0,02	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,73	2,2	0,77	2,3	
	SARM-2	pos mod	287/288	99,7	33,3	0,00	0,0	0,09	0,3	0,00	0,0	0,74	2,2	0,75	2,2	
	SASM	neg alto	220/288	76,4	33,4	0,00	0,0	0,20	0,6	0,00	0,0	0,83	2,5	0,85	2,6	
	SASM	pos bajo	284/288	98,6	33,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,86	2,6	0,87	2,6	
	SASM	pos mod	288/288	100,0	33,1	0,11	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	2,2	0,77	2,3	

Diana	Muestra	Conc	Con- cuerdan/ N	Concor (%)	Ct medio	Entre instrumentos		Entre días		Entre análisis <sup>a</sup>		Intraciclos		Total	
						DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
	NEG-1	Neg	288/288	100,0	33,4	0,00	0,0	0,13	0,4	0,00	0,0	0,85	2,6	0,87	2,6
	NEG-2	Neg	288/288	100,0	33,5	0,00	0,0	0,02	0,1	0,00	0,0	0,84	2,5	0,84	2,5
Concor=Concordancia, Conc=concentración, CV=coeficiente de variación, NA=No aplicable a las muestras negativas, DE=desviación estándar.															

<sup>a</sup> Un análisis se define como el análisis de las cuatro muestras de cada miembro del grupo de muestras realizado por un técnico en un centro y en un día determinados.

**Nota** El cálculo de la variación debida a algunos factores puede ser numéricamente negativo; esto ocurre si la variabilidad debida a esos factores es muy pequeña. Cuando esto ocurre, la variabilidad indicada por los valores de DE y CV se establece en 0.

## 19 Bibliografía

1. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollack DA, Fridkin SK. 2008. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections; annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008 Nov; 29(11):996-1011. doi: 10.1086/591861. Erratum in: *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2009 Jan; 30(1):107
2. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of endemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *JAMA.* 282(19):1745-51.
3. Shopsis B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases.* 7(2):323-6.
4. Padmanabhan RA, Fraser TG. 2005. The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community. *Cleveland Clinic J Med.* 72 (3): 235-241.
5. Das I, O'Connell N, Lambert P. 2007. Epidemiology, clinical and laboratory characteristics of *Staphylococcus aureus* bacteraemia in a university hospital in UK. *J Hosp Infect.* 65(2): 117-123.
6. Anderson DJ *et al.* 2009. Clinical and Financial Outcomes Due to Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Surgical Site Infection: A Multi-Center Matched Outcomes Study. *PLoS ONE* 4(12): e8305. doi:10.1371/journal.pone.0008305.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories (consultar la última edición). U.S. Department of Health and Human Services.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. CLSI Document M29 (consultar la última edición). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
9. Chartier Y, *et al.* Safe management of wastes from health care activities. *Bulletin of the World Health Organization* (consultar la última edición).
10. 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 por el que se modifican y derogan las Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE, y se modifica el Reglamento (CE) N.º 1907/2006.
11. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26 de marzo de 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
12. CLSI M2-A11. 2012. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. Eleventh Edition. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
13. CLSI M100-S22. 2012. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-second Informational Supplement, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
14. Cooper, J E, Feil, E J. 2006. The phylogeny of *Staphylococcus aureus* – which genes make the best intra-species markers? *Microbiology* 152:1297–1305.

## 20 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

## 21 Asistencia técnica

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

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

### Estados Unidos

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

### Francia

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

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

## 22 Tabla de símbolos

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



## 23 Historial de revisiones

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