

# Formación técnica del cliente en el Xpert® Ebola

Para uso de CE-IVD exclusivamente



# Programa de formación

- **Xpert® Ebola\***
  - Indicaciones
  - Reactivos
  - Recogida de muestras
  - Conservación y manipulación del kit
  - Preparación del cartucho
  - Controles de calidad
  - Análisis de resultados
- **Discusión**



# Objetivos del curso

- **Al final del curso de formación, el usuario será capaz de:**
  - Almacenar y manipular correctamente el kit del cartucho Xpert<sup>®</sup> Ebola\*
  - Tomar las precauciones de seguridad de laboratorio adecuadas
  - Recoger y transportar las muestras apropiadas.
  - Preparar un cartucho y llevar a cabo el ensayo
  - Notificar los diversos resultados generados por el software
  - Comprender la estrategia de control del ensayo

# La solución Cepheid



- Diseño de dos dianas: Cada diana cubre cepas de Zaire conocidas
  - Nucleoproteína (NP)
  - Glucoproteína (GP)
- Controles incorporados para cada muestra individual
  - Control de comprobación de la sonda (PCC)
  - Control de adecuación de la muestra (SAC)
  - Control interno de Cepheid (CIC)
- Sistema de cartucho cerrado que reduce al mínimo el riesgo de contaminación
- Resultados a demanda, 24 horas al día y 7 días a la semana
- Acceso aleatorio

# Indicaciones

El ensayo Xpert® Ebola\* es una prueba de RT-PCR indicada para la detección cualitativa de ARN del **virus del Ébola Zaire** en sangre completa venosa con EDTA, sangre periférica obtenida mediante punción dactilar o hisopos bucales de individuos **con signos y síntomas** de enfermedad por el virus del Ébola (EVE) junto con **factores de riesgo epidemiológicos**.

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

Los resultados son para la **identificación provisional del virus del Ébola Zaire**. La identificación definitiva de la infección por el virus del Ébola Zaire requiere otros análisis y procedimientos de confirmación realizados tras consultar a autoridades de salud pública o a otras autoridades a las que sea necesario informar.

# Dianas y sondas

- Prueba cualitativa de reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR) para la detección de ARN de virus del Ébola Zaire
- **Detección de secuencias de genes de nucleoproteína (NP) y glucoproteína (GP)**



- **4 sondas (NP, GP, CIC y SAC)**

# Requisitos del ensayo

## Sistemas GeneXpert

- Software GeneXpert DX **v4.4 a** o superior
- Software Xpertise **v6.2** o superior

## Kits de la prueba (CE-IVD)\*

- GXEBOLA-CE-50

## Material requerido pero no suministrado

- Lancetas desechables para punciones dactilares
- Hisopos desechables *SWAB/E-50*
- Mezclador vórtex
- Equipo de protección individual (EPI)
- Lejía a 1:10
- Etanol desnaturalizado o etanol al 70 %

## Opcional

- Sistema de alimentación ininterrumpida/Protector de sobretensiones
- Impresora

# Buenas prácticas de laboratorio

## Equipo de protección individual (EPI)

- Use guantes, gafas de seguridad y bata de laboratorio limpios
- Cámbiese los guantes cada vez que procese muestras

## Área de la mesa del laboratorio

- Limpie las superficies de trabajo de forma habitual con:
  - ✓ Una dilución 1:10 (como concentración final) de lejía para uso doméstico (preparada en las 24 horas anteriores)\*
  - ✓ Etanol desnaturalizado o etanol al 70 %
- Después de la limpieza, asegúrese de que las superficies de trabajo estén secas

*\* Consulte el manual del operador del GeneXpert para obtener todos los detalles*

## Conservación de muestras y kits

- Conserve las muestras separadas del kit para prevenir la contaminación

## Equipo

- Utilice puntas de pipeta con filtro cuando se recomiende
- Siga los requisitos del fabricante para la calibración y el mantenimiento del equipo

# Manipulación del kit



# Contenido del kit Xpert® Ebola\*

Ensayo Xpert® Ebola	
Número de catálogo	<b>GXEBOLA-CE-50</b>
Caja de cartuchos	5
Caja del kit	1
CD	Archivo de definición del ensayo (ADF) Instrucciones para la importación de ensayos Prospecto (PDF)
Cartuchos por kit	50 (5 cajas de 10)
Frascos de reactivo para muestras	50 x 2,5 ml
Pipetas de transferencia	50 x 1 ml



Los cartuchos contienen sustancias químicamente peligrosas; consulte el prospecto y la ficha de datos de seguridad para obtener información más detallada

# Almacenamiento y manipulación del kit Xpert<sup>®</sup> Ebola\*

- Almacene los cartuchos y los reactivos del ensayo Xpert Ebola a una temperatura de **entre 2 y 28 °C**
- Siga los procedimientos de seguridad del centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas
- No utilice tubos de reactivos de recogida que no haya validado Cepheid.
- Abra la tapa del cartucho del ensayo solo cuando añada la muestra, cierre la tapa y proceda con el procesamiento.



# Declaraciones de atención y precaución

- No agite el cartucho.
- No utilice un cartucho que...:
  - parezca mojado, tenga alguna fuga o en el que el precinto de la tapa parezca haberse roto.
  - parezca dañado.
  - se haya caído después de extraerlo del envase.
  - se haya caído o agitado después de habersele añadido la muestra.
  - tenga un tubo de reacción dañado.
  - se haya utilizado: cada cartucho de un solo uso se utiliza para procesar una sola prueba.
  - haya caducado.
  - No vuelva a utilizar pipetas desechables usadas.



# Declaraciones de atención y precaución

- 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.

# Limitaciones del ensayo Xpert® Ebola

- Los resultados negativos no descartan la infección por el virus del Ébola Zaire o por otros virus del Ébola, y no deben usarse como único criterio para tomar decisiones relacionadas con el diagnóstico y el tratamiento de los pacientes.
- Se desconoce la concentración del virus del Ébola presente en sangre e hisopos bucales de individuos con infección sistémica inicial.
- Debido a lo difícil que resulta obtener muestras clínicas positivas para el virus del Ébola, el ensayo Xpert Ebola se evaluó con cantidades limitadas de muestras artificiales a las que se había añadido virus del Ébola Zaire vivo o ARN del mismo. El ensayo no se ha evaluado con sangre e hisopos bucales de individuos con infección por el virus del Ébola Zaire.
- Las muestras de pacientes que hayan recibido tratamientos terapéuticos o vacunas basados en secuencias de ácidos nucleicos derivados de virus del Ébola Zaire pueden presentar resultados positivos falsos u otros resultados confusos en la prueba.

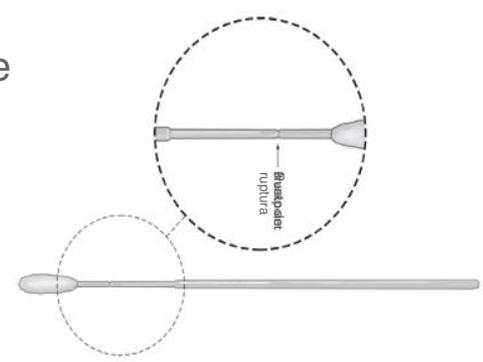
# Recogida, conservación y transporte de muestras



# Recogida de muestras de sangre venosa completa

- Recoja muestras de sangre completa mediante venopunción en tubos con EDTA siguiendo las instrucciones del fabricante
- Se necesita un mínimo de 100  $\mu$ l
- Tenga preparado un hisopo\* para poder proceder a la preparación de la muestra

Hisopo\*: N.º de catálogo SWAB/E-50 de Cepheid para kits CE-IVD



## Importante:

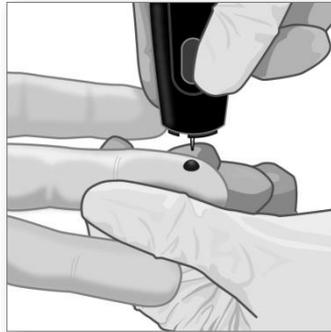
**Proceda inmediatamente a realizar el paso de preparación de la muestra para evitar que el virus del Ébola se inactive**

\* Directrices de la OMS para la recogida segura de muestras de sangre  
<http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/blood-collect-en.pdf>

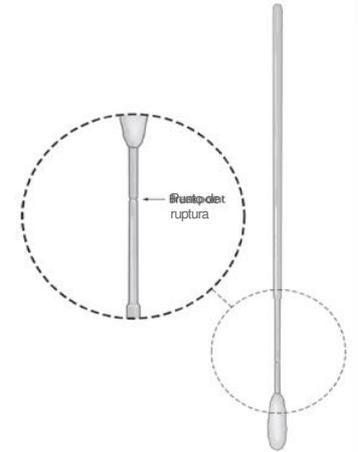
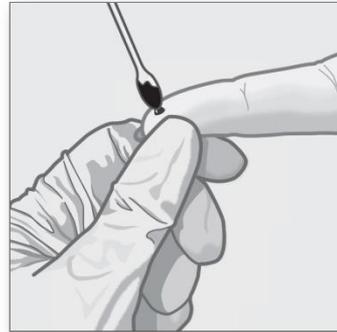
# Recogida de muestras de sangre capilar mediante punción dactilar

- Utilice el hisopo\* para recoger muestras de sangre obtenida mediante punción dactilar
- Deje que absorban sangre al menos dos tercios del cabezal del hisopo

Hisopo\*: N.º de catálogo SWAB/E-50 de Cepheid para kits CE-IVD



Punción con lanceta

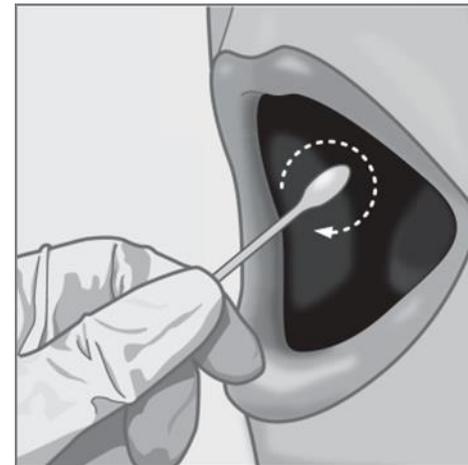


## Importante:

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

# Recogida de muestras bucales

- Utilice el hisopo SWAB/E-50 para recoger muestras
- Ponga inmediatamente la punta del hisopo en contacto con la cara interior de la mejilla
- Evite tocar otras superficies con el hisopo
- Los hisopos pueden utilizarse en personas vivas o difuntas
- Recoja la muestra siguiendo las directrices de la OMS\*  
\**WHO/EVD/Guidance/Lab/14.2*

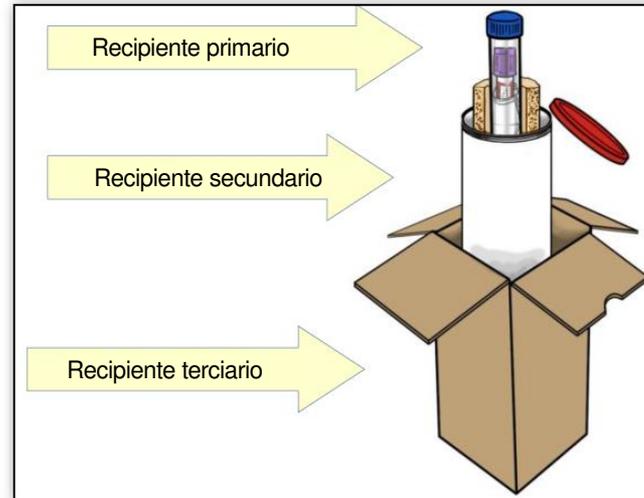


# Conservación de muestras

Temperatura	 Tipo de muestra	Tiempo de almacenamiento
2-8 °C	Muestra tratada con reactivo (sangre o bucal)	72 horas
8-28 °C	Muestra bucal tratada con reactivo	24 horas
	Muestra de sangre tratada con reactivo	48 horas
28-35 °C	Muestra de sangre tratada con reactivo	24 horas

# Transporte de muestras

- Transporte las muestras tratadas con reactivo para muestras a los laboratorios de análisis siguiendo las directrices de la OMS para el transporte de muestras de Ébola



<http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/blood-collect-en.pdf>

# Preparación del cartucho



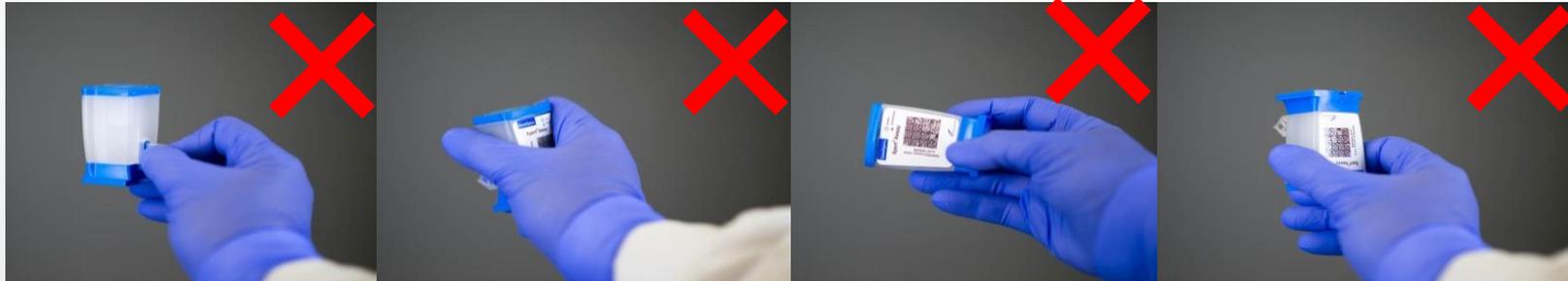
# Técnicas correctas de manipulación del cartucho

## Correcta

- No toque el tubo de reacción
- Mantenga el cartucho vertical
- No lo incline después de añadir la muestra



## Incorrecto



# Preparación del cartucho Xpert Ebola

## Sangre venosa completa en tubos con EDTA

1



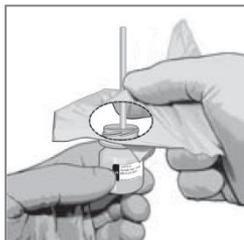
Etiquete el frasco de reactivo para muestras con el ID de la muestra y abra la tapa

2



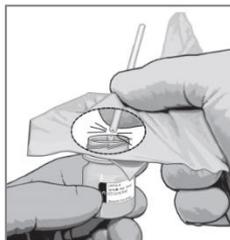
Coloque el hisopo en el tubo con EDTA. Deje que absorba durante 5 segundos

3



Inserte el hisopo en el frasco de reactivo para muestras. Alinee la pequeña muesca contra el borde del frasco

4



Parta el hisopo doblándolo hacia un lado

5



Cierre la tapa del frasco de reactivo para muestras

6



Agite la muestra con un mezclador vórtex durante 10 segundos

7



Incube a temperatura ambiente durante 20 minutos

8



Etiquete el lado del cartucho con el mismo ID de la muestra que el frasco de reactivo para muestras. Abra la tapa del cartucho

9



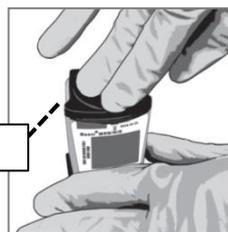
Aspire al menos 1 ml de la muestra al interior de la pipeta

10



Vacíe lentamente la pipeta en la cámara de muestras del cartucho

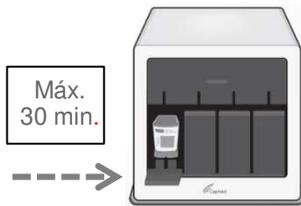
11



Cierre firmemente la tapa

12

Máx. 30 min.



Inicie la prueba en el GeneXpert

# Preparación del cartucho Xpert Ebola

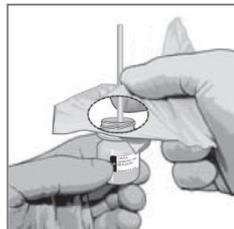
## Hisopo de sangre capilar obtenida mediante punción dactilar o hisopo bucal

1



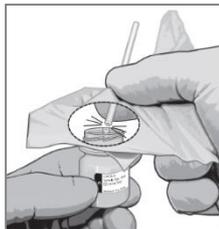
Etiquete el frasco de reactivo para muestras con el ID de la muestra y abra la tapa

2



Inserte el hisopo en el frasco de reactivo para muestras. Alinee la pequeña muesca contra el borde del frasco

3



Parta el hisopo doblándolo hacia un lado

4



Cierre la tapa del frasco de reactivo para muestras

5



Agite la muestra en un mezclador vórtex durante 10 segundos

6



Incube a temperatura ambiente durante 20 minutos

7



Etiquete el lado del cartucho con el mismo ID de la muestra que el frasco de reactivo para muestras. Abra la tapa del cartucho

8



Aspire al menos 1 ml de la muestra al interior de la pipeta

9



Vacíe lentamente la pipeta en la cámara de muestras del cartucho

10



Cierre firmemente la tapa

11

Máx. 30 min.  
-->



Inicie la prueba en el GeneXpert

# Realice una prueba

## 1 Cree una prueba

GeneXpert



Inicie la prueba en los **30 minutos** siguientes a la adición de la muestra al cartucho

GeneXpert  
Infinity



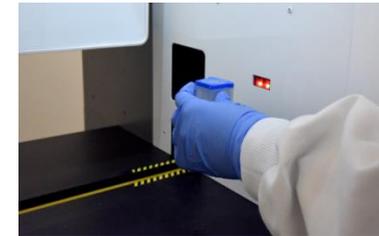
Coloque el cartucho en la cinta transportadora en los **30 minutos** siguientes a añadir la muestra.

## 2 Escanee los mensajes de código de barras: ID del cartucho/paciente y/o muestra



De forma predeterminada, no haga clic en **Entrada manual (Manual Entry)** ni en **Cancelar (Cancel)**

## 3 Escanee el cartucho



"Para obtener información completa y detallada para realizar una prueba, consulte el prospecto y los manuales del operador del GeneXpert Dx o el Xpertise Dx."

# Cree una prueba en el software GeneXpert Dx

4 Cumplimente los campos según sea necesario

5 El protocolo del ensayo se selecciona automáticamente

6 El módulo se selecciona automáticamente  
**¡NO LO CAMBIE!**

7 Haga clic en Iniciar prueba (Start Test)

8 Parpadeará una luz verde en el módulo  
Cargue el cartucho en el módulo y cierre la puerta

Create Test

Patient ID

Sample ID

Patient ID 2

Last Name

Name

Select Assay Xpert® Ebola\*

Select Module A3

Reagent Lot ID\* 16119 Expiration Date\* 2016/1/17

Test Type Specimen

Sample Type Other Other S

Notes

Start Test Scan Cartridge Barcode



# Cree una prueba en el software Xpertise Dx

4 Cumplimente los campos según sea necesario

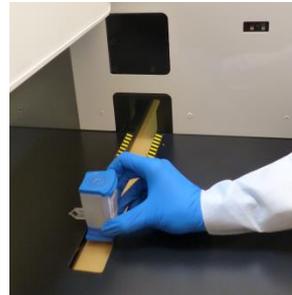
5 El protocolo del ensayo se selecciona automáticamente

6 Haga clic en ENVIAR (SUBMIT)

7 Coloque el cartucho en la cinta transportadora

**Order Test - Test Information**

<b>Patient ID</b> patientid	
<b>Sample ID</b> sampleid	
<b>Last Name</b> patient	<b>First Name</b> id
<b>Assay*</b> Xpert® Ebola*	
<b>Reagent Lot ID*</b> 12102	<b>Cartridge S/N*</b> 282769448
<b>Expiration Date*</b> 2018/11/04	<b>Priority</b> Normal
<b>Test Type</b> Specimen	
<b>Sample Type</b> Other	<b>Other Sample Type</b>
<b>Notes</b>	



# Protocolo automatizado del Xpert



# Controles de calidad



- **Control del sistema: Comprobación del estado**
  - El control del sistema comprueba los componentes ópticos, la temperatura del módulo y la integridad de los dispositivos mecánicos de cada cartucho.
  - Si no se superan los controles del sistema, el resultado notificado de la prueba será de ERROR.
- **Controles de calidad del ensayo**
  - Cada cartucho Xpert es un dispositivo analítico autónomo
  - Cepheid ha diseñado métodos moleculares específicos para incluir controles internos que permiten al sistema detectar modos de fallo específicos dentro de cada cartucho.
    - Controles de comprobación de la sonda (PCC)
    - Control interno de Cepheid (CIC)
    - Control de adecuación de la muestra (SAC)

# Controles de calidad internos

- **Controles de comprobación de la sonda (PCC)**

- Antes del paso de la PCR, se mide la señal de fluorescencia en todas las sondas y se compara con los ajustes predeterminados de fábrica para comprobar lo siguiente
  - rehidratación de las microesferas
  - integridad de las sondas
  - llenado del tubo de reacción
  - estabilidad del colorante

- **Control interno de Cepheid (CIC)**

- Armored RNA<sup>®</sup> incluido en cada cartucho
  - Verifica que el procesamiento del virus de la muestra es adecuado
  - Verifica la lisis, la presencia del microorganismo y detecta la inhibición
  - Debe ser positivo en una muestra negativa
  - Puede ser positivo o negativo en una muestra positiva

- **Control de adecuación de la muestra (SAC): HMBS (hidroximetilbilano sintasa)**

- Se asegura de que se han añadido células humanas a la cámara de muestras del cartucho

# Controles externos comerciales disponibles

## Material de referencia de AccuPlex™ rEbola GP/NP

Número de referencia	Descripción	Configuración	Conservación
0505-0001	Control positivo de GP+NP	5 frascos de 250 µl	2-8 °C

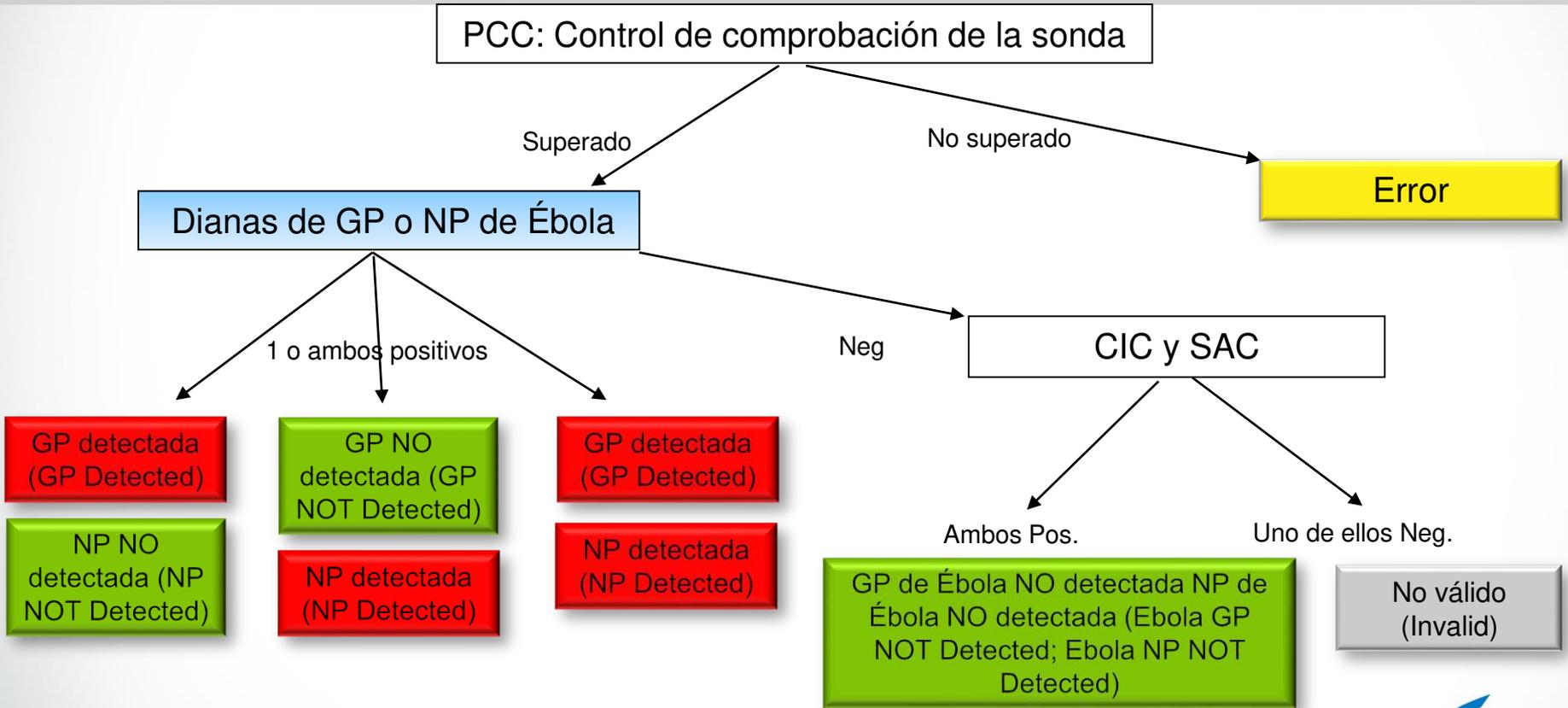
<http://www.seracare.com/>

- Otros proveedores de material de control de calidad también están disponibles además del descrito anteriormente.
- Los controles externos deben utilizarse de acuerdo con las organizaciones de acreditación locales y estatales, según corresponda.

# Interpretación de los resultados

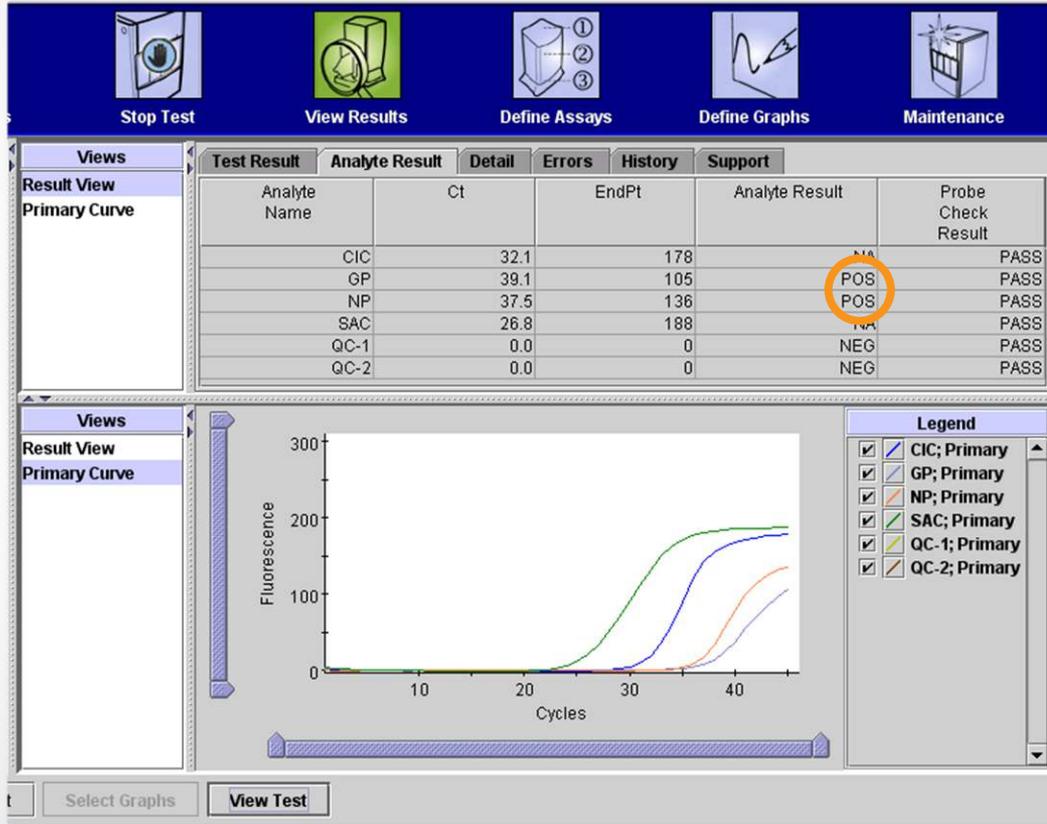


# Algoritmo de interpretación de los resultados



# GP de Ébola DETECTADA; NP de Ébola DETECTADA (Ebola GP DETECTED; Ebola NP DETECTED)

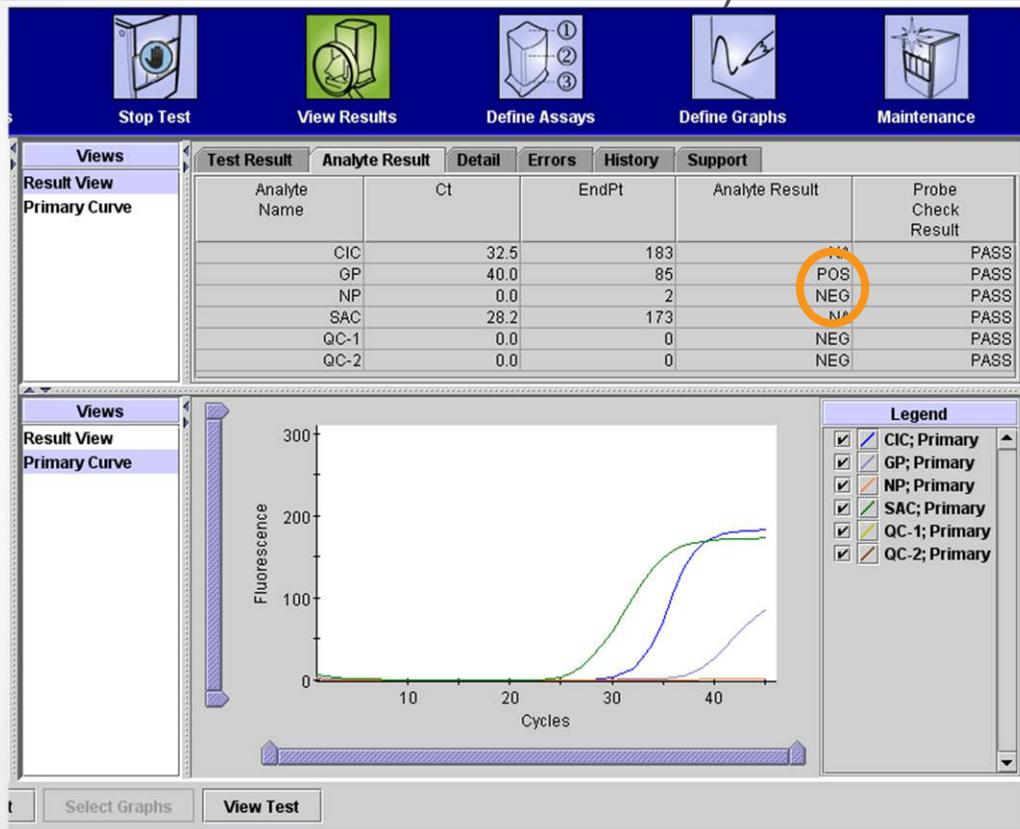
Test Result **Ebola GP DETECTED;**  
**Ebola NP DETECTED**



- Se han detectado las dianas de GP y NP de ÉBOLA, y los valores de Ct están dentro del rango válido
- SAC: N/A (NA) (no aplicable)
  - El SAC se omite porque tuvo lugar la amplificación de las dianas de ÉBOLA
- CIC: N/A (NA) (no aplicable)
  - El CIC se omite porque tuvo lugar la amplificación de las dianas de ÉBOLA
- Comprobación de la sonda: SUPERADO

# GP de Ébola DETECTADA; NP de Ébola NO DETECTADA (Ebola GP DETECTED; Ebola NP NOT DETECTED)

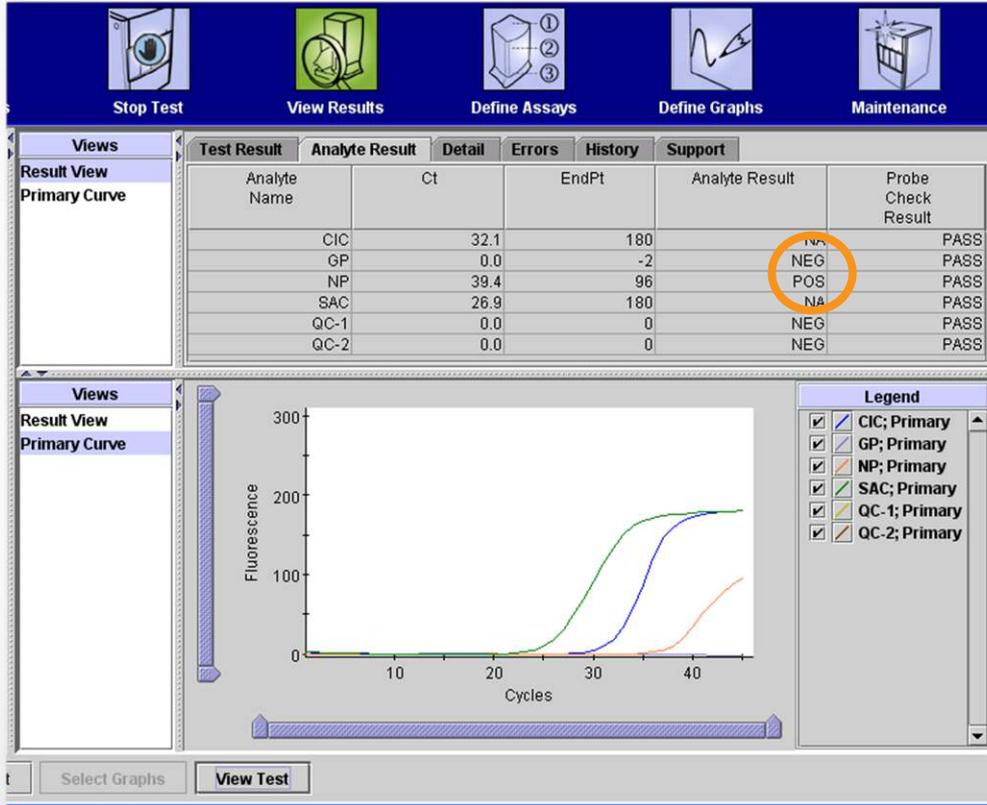
Test Result  
Ebola GP DETECTED;  
Ebola NP NOT DETECTED



- Se ha detectado la GP diana de ÉBOLA y el valor de Ct está dentro del rango válido
- SAC: N/A (NA) (no aplicable)
  - El SAC se omite porque tuvo lugar la amplificación de las dianas de ÉBOLA
- CIC: N/A (NA) (no aplicable)
  - El CIC se omite porque tuvo lugar la amplificación de las dianas de ÉBOLA
- Comprobación de la sonda: SUPERADO

# GP de Ébola NO DETECTADA; NP de Ébola DETECTADA

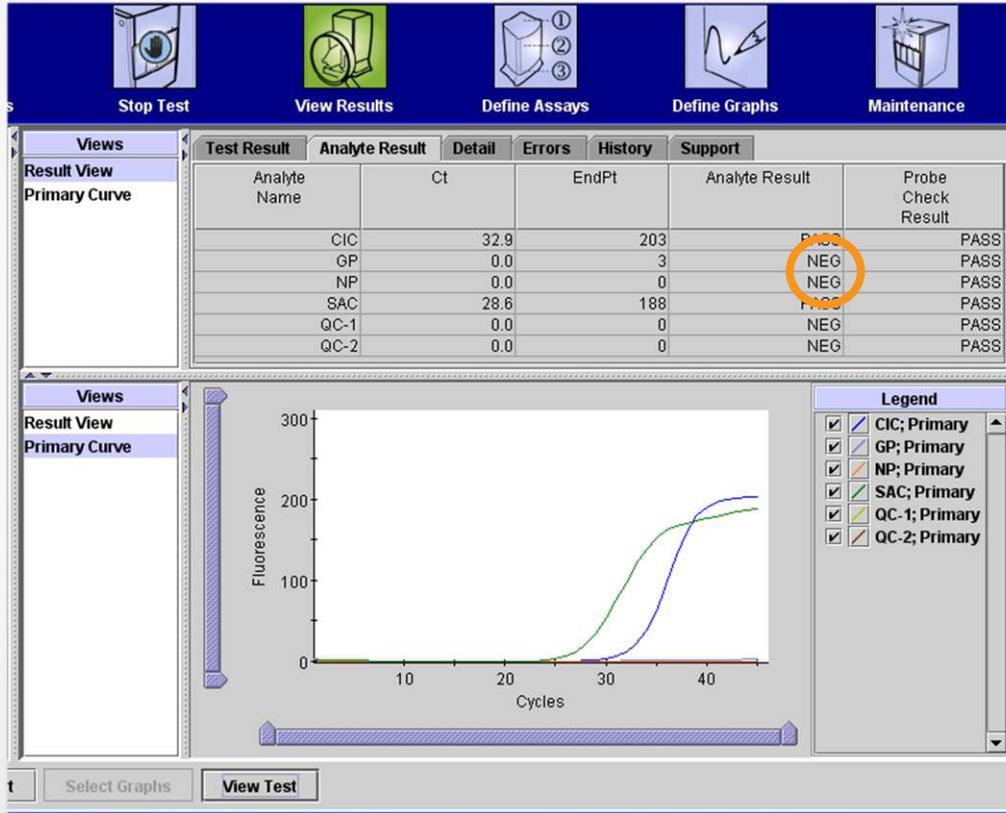
Test Result  
Ebola GP NOT DETECTED;  
Ebola NP DETECTED



- Se ha detectado la NP diana de ÉBOLA y el valor de Ct está dentro del rango válido
- SAC: N/A (NA) (no aplicable)
  - El SAC se omite porque tuvo lugar la amplificación de las dianas de ÉBOLA
- CIC: N/A (NA) (no aplicable)
  - El CIC se omite porque tuvo lugar la amplificación de las dianas de ÉBOLA
- Comprobación de la sonda: SUPERADO

# GP de Ébola NO DETECTADA; NP de Ébola NO DETECTADA (Ebola GP NOT DETECTED; Ebola NP NOT DETECTED)

Test Result **Ebola GP NOT DETECTED;**  
**Ebola NP NOT DETECTED**



- NO se han detectado las dianas de GP y NP de ÉBOLA
- SAC: SUPERADO
  - El SAC tiene un valor de Ct dentro del rango válido
- CIC: SUPERADO
  - El CIC tiene un valor de Ct dentro del rango válido
- Comprobación de la sonda: SUPERADO

# Resolución de problemas

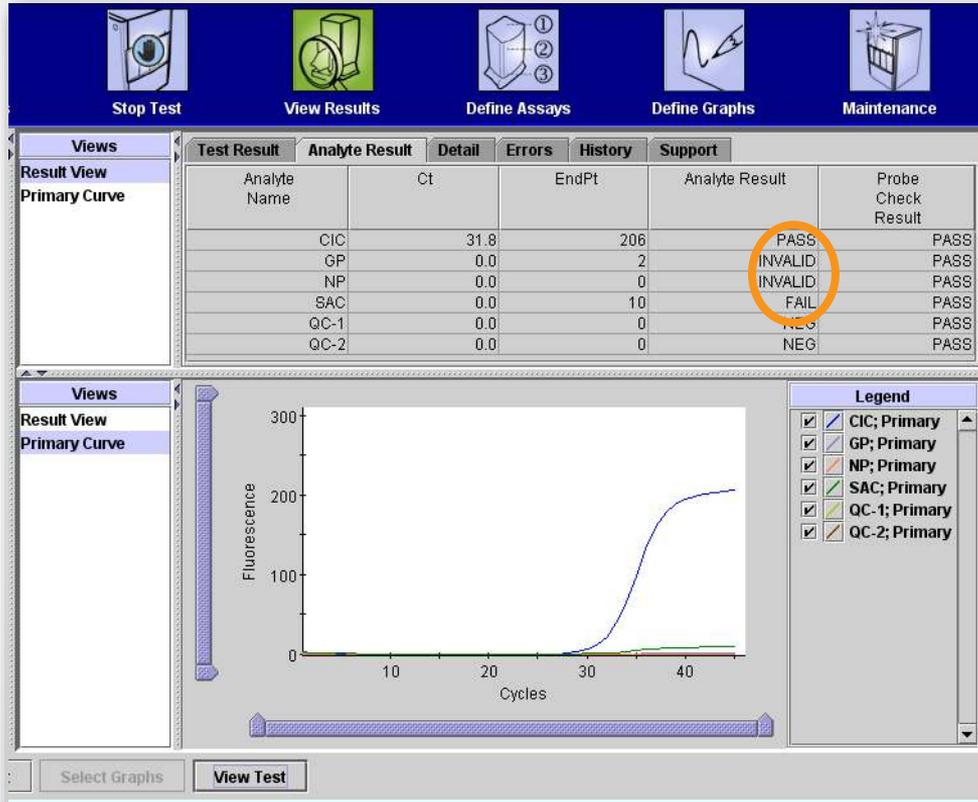


# Factores que afectan negativamente a los resultados

- Recogida inadecuada de muestras
  - La carga vírica de la muestra es inferior al límite de detección de la prueba
  - No se ha evaluado la eficacia diagnóstica con otros tipos de muestra
- Transporte o conservación inadecuados de la muestra recogida
  - Las condiciones de conservación y transporte son específicas de cada tipo de muestra
  - Consulte las instrucciones del prospecto para la manipulación adecuada
- Procedimiento inadecuado de realización de la prueba
  - La modificación de los procedimientos de realización de la prueba puede afectar a la eficacia diagnóstica de esta
  - Para evitar resultados erróneos es necesario seguir estrictamente las instrucciones del prospecto

# Resultado NO VÁLIDO (INVALID)

Test Result **INVALID**



- No puede determinarse la presencia o ausencia de las dianas de GP y NP de Ébola.
- SAC: NO SUPERADO (FAIL); la señal no tiene un Ct dentro del rango válido y/o su criterio de valoración está por debajo del valor mínimo configurado
- Comprobación de la sonda – SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación

## Causas posibles

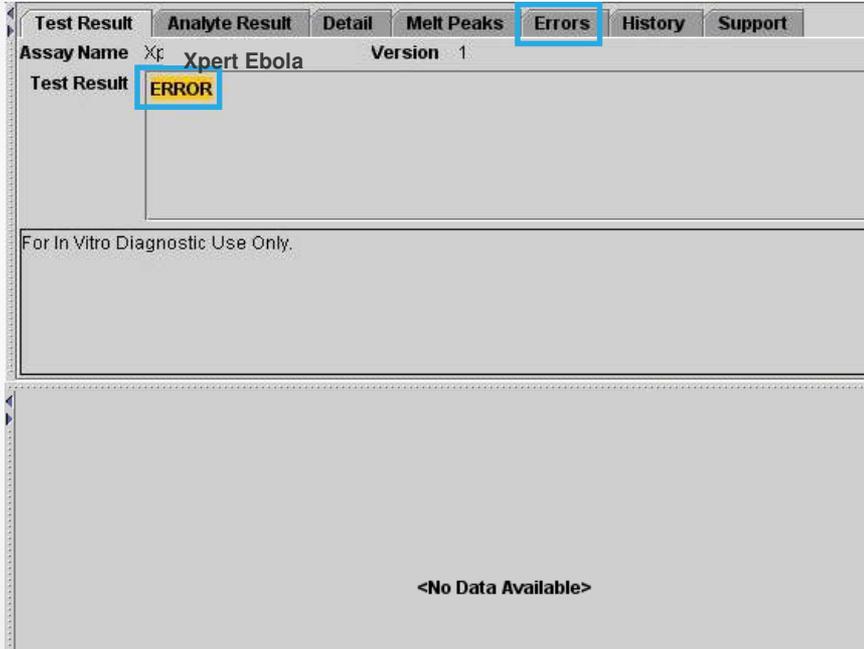
- Recogida o preparación inadecuadas de la muestra
- Presencia de sustancias interferentes en la muestra

## Solución

- Repita la prueba con un cartucho nuevo

# ERROR

ERROR



No puede determinarse la presencia o ausencia de las dianas de NP o GP. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del apartado Procedimiento de repetición de la prueba de las instrucciones de uso.

GP/NP: SIN RESULTADO (NO RESULT)

SAC: SIN RESULTADO (NO RESULT)

Comprobación de la sonda: NO SUPERADO (FAIL); todos o uno de los resultados de la comprobación de la sonda no superan la comprobación

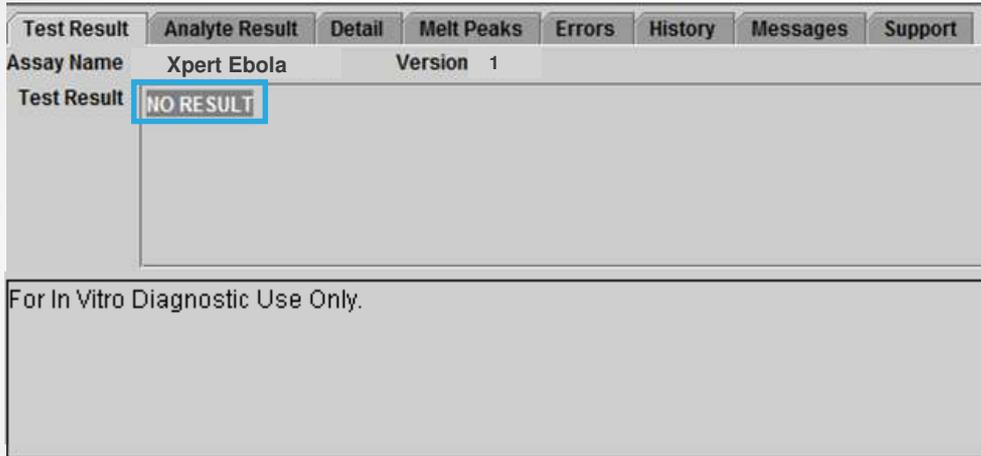
Si se superó la comprobación de la sonda, el error se debe a que el límite máximo de presión excedió el rango aceptable o a que falló un componente del sistema.

## Solución

Repita la prueba con un cartucho nuevo.

# SIN RESULTADO (NO RESULT)

NO RESULT



## Causas posibles

SIN RESULTADO (NO RESULT) indica que no se han recogido suficientes datos.

- La prueba se detuvo con el botón «Detener la prueba» (Stop test)
- Fallo eléctrico

## Solución

- Asegure la alimentación
- Repita la prueba con un cartucho nuevo.

No puede determinarse la presencia o ausencia de GP/NP.

## **SIN RESULTADO (NO RESULT)**

indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, si el operador detuvo un ensayo en curso.

GP/NP: SIN RESULTADO

(NO RESULT)

SAC: SIN RESULTADO (NO RESULT)

Comprobación de la sonda: N/A (NA)  
(no aplicable)

# Procedimiento de repetición de la prueba

1



Deseche el cartucho usado

*Siga las directrices de seguridad del centro para la eliminación de los cartuchos*

2



Obtenga la muestra residual, mezcle conforme al prospecto

*Si el volumen de muestra restante es insuficiente o si la repetición de la prueba sigue indicando NO VÁLIDO (INVALID), ERROR o SIN RESULTADO (NO RESULT), obtenga una muestra nueva*

3



Obtenga un nuevo cartucho

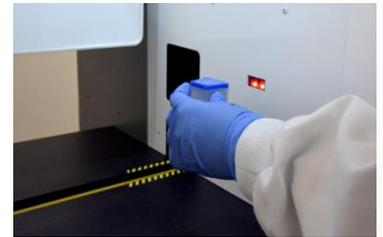
Etiquete adecuadamente como nueva prueba en el nuevo cartucho

Procese la muestra conforme al prospecto

4



Ejecute la prueba en el sistema



# 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 sistema
  - Mensajes de error (si los hubiera)
  - Versión de software y, si corresponde, «Número de servicio técnico» (Service Tag) del ordenador
- Presente su queja en línea utilizando el siguiente enlace <http://www.cephaid.com/us/support> :  
*Crear un Support Case (Caso de servicio técnico)*

Muchas gracias



[www.Cepheid.com](http://www.Cepheid.com)

