

# Formación en el ensayo: Xpert<sup>®</sup> EV

*Solo para uso CE-IVD y US-IVD*



# Programa de formación

- Formación en el Xpert EV
  - Reactivos
  - Recogida de muestras
  - Conservación y manipulación del kit
  - Preparación del cartucho
  - Control de calidad
  - Análisis de resultados
- Debate



# Objetivos de la formación en el Xpert EV

Al final del curso de formación, el usuario será capaz de:

- Conservar y manipular correctamente el kit de cartuchos Xpert EV.
- Tomar las precauciones de seguridad de laboratorio adecuadas.
- Identificar los tipos de muestras apropiados y transportar las muestras.
- Preparar un cartucho y llevar a cabo el ensayo.
- Emitir informes y entender los diversos resultados que proporciona el software.
- Comprender la estrategia de control del ensayo.

# Xpert® EV



# La solución Cepheid



- Detección de ARN de enterovirus (EV) en muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR)
- Controles internos incorporados para cada muestra
  - Control de comprobación de la sonda (PCC)
  - Control de procesamiento de muestras (SPC)
- Sistema de cartucho cerrado que minimiza el riesgo de contaminación
- Resultados a demanda
- Acceso aleatorio

# Indicaciones

El ensayo Cepheid Xpert EV es una prueba de reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) que utiliza el sistema GeneXpert® Dx para la **detección cualitativa presunta de ARN de enterovirus (EV) en muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) de personas con signos y síntomas de meningitis**. Esta prueba, junto con otros resultados de laboratorio y otra información clínica, puede utilizarse como ayuda en el diagnóstico de laboratorio de la infección por enterovirus en pacientes con sospecha clínica de meningitis o meningoencefalitis. La eficacia diagnóstica del ensayo no se ha confirmado en pacientes inmunodeprimidos o inmunosuprimidos.

**AVISO:** Los resultados obtenidos con el ensayo Xpert EV solamente deben utilizarse como complemento de las observaciones clínicas y de otra información de la que disponga el médico. Los resultados positivos en el Xpert EV no descartan otras causas de meningitis, incluidas las bacterias, las micobacterias, otros virus (p. ej., los virus de la familia herpes, los arbovirus, el virus de las paperas, etc.) y los hongos.

# Requisitos del sistema y de los reactivos

## Sistemas GeneXpert

- Software GeneXpert, versión 2.1 o superior

## Kits de la prueba (US-IVD y CE-IVD)

- GXEV-100N-10

## Material requerido pero no suministrado

- Pipeta de 200 µl
- Puntas de pipeta estériles de 200 µl con barrera de filtro
- Equipo de protección individual (EPI)
- Lejía diluida 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 y bata de laboratorio limpios
- Cámbiese los guantes cada vez que procese muestras diferentes

## Área de la mesa del laboratorio

- Limpie las superficies de trabajo de forma habitual con:
  - ✓ Dilución 1:10 de lejía de uso doméstico
  - ✓ Solución de etanol al 70 %
- Después de la limpieza, asegúrese de que las superficies de trabajo estén secas

## Conservación de muestras y kits

- Conserve las muestras separadas del kit para prevenir la contaminación

## Equipo(s)

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



# Manipulación del kit



# Contenido del kit Xpert EV

## Xpert EV

Número de catálogo	GXEV-100N-10
Cartuchos por kit	10
Viales de reactivo	Reactivo de unión
	Reactivo de lavado
	Reactivo de elución
	Reactivo de lisis
CD del kit	Archivo de definición del ensayo (Assay Definition File, ADF)
	Instrucciones para la importación de ensayos
	Prospecto (PDF)
Conservación	2-28 °C



# Conservación y manipulación del kit Xpert EV

- Conserve los cartuchos y los reactivos del ensayo Xpert EV a 2-28 °C.
- Siga los procedimientos de seguridad del centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- Abra la tapa del cartucho del ensayo solo para añadir la muestra, cierre la tapa y continúe con el procesamiento.

# Advertencias y precauciones

- No agite el cartucho.
- No utilice el cartucho...:
  - si se ve mojado, tiene alguna fuga o el precinto de la tapa parece estar roto.
  - si parece dañado.
  - si se ha caído después de extraerlo del envase.
  - si se ha caído o agitado después de haber añadido la muestra.
  - si tiene un tubo de reacción dañado.
  - si ya se ha usado: cada cartucho es de un solo uso y se utiliza para procesar una única prueba.
  - si ha caducado.
- No reutilice las pipetas.



# Eliminación de residuos

- Las muestras biológicas, los dispositivos de transferencia y los cartuchos usados deben considerarse como 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 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.



# Conservación y transporte de muestras



# Manipulación de las muestras

Muestra	Conservación
Líquido cefalorraquídeo (LCR) en un recipiente estéril	2-8 °C durante un máximo de 72 horas tras recogerse la muestra
	La muestra también puede congelarse a -20 o -80 °C si la prueba no va a realizarse en las 72 horas posteriores a la recogida  *No congele y descongele las muestras más de dos veces



No se recomienda centrifugar las muestras.



# Protocolo de prueba del Xpert EV

## Preparación del cartucho Xpert EV

Consulte el prospecto para las instrucciones detalladas, precauciones y advertencias.

Para una copia de la FDSM, visite [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) o [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com)

### Servicio técnico de Cepheid

Oficina en EE.UU.  
(888) 838-3222, opción 2  
[techsupport@cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)

Oficina en Europa  
+33 563 82 53 19  
[support@cepheideurope.com](mailto:support@cepheideurope.com)



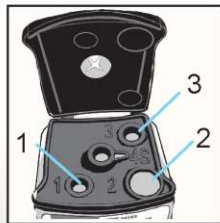
1 Obtenga un cartucho, tres ampollas y un vial para cada muestra.



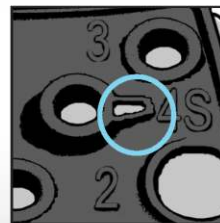
2 Abra la tapa del cartucho.



3 Abra, y luego añada, la ampolla 1 en 1, la ampolla 2 en 2 y la ampolla 3 en 3.



4 Pipetee 140 µl de reactivo de lisis en la cámara 4S, y luego pipetee 140 µl de la muestra en la cámara 4S.



5 Cierre la tapa del cartucho.



6 Inicie la prueba dentro de los límites de tiempo especificados en el prospecto.

© 2012 Cepheid

301-0070S Rev. A Enero de 2012

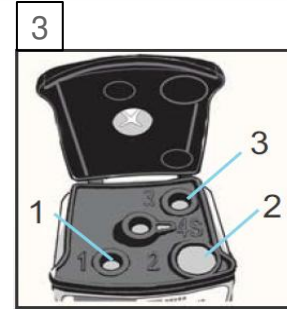
# Preparación del cartucho de EV



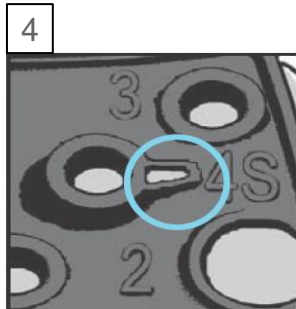
Obtenga un cartucho, tres ampollas y un vial para cada muestra.



Abra la tapa del cartucho.



Abra, y luego añada, la ampolla 1 en 1, la ampolla 2 en 2 y la ampolla 3 en 3.



Pipetee 140  $\mu$ l de reactivo de lisis en la cámara 4S y, a continuación, pipetee 140  $\mu$ l de la muestra en la cámara 4S.



Cierre la tapa del cartucho.

6

Inicie la prueba dentro del período especificado en el prospecto.

# Ejecute una prueba

## 1 Cree una prueba

GeneXpert



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

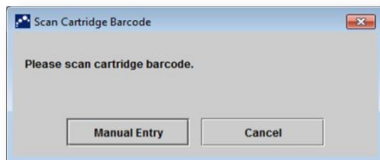
GeneXpert  
Infinity



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

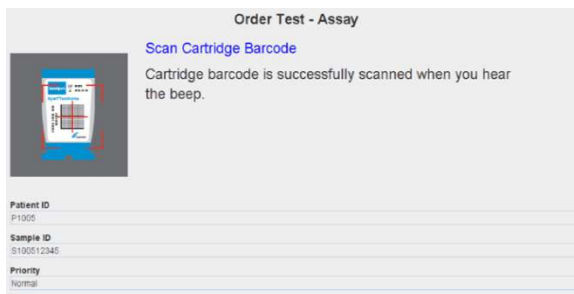
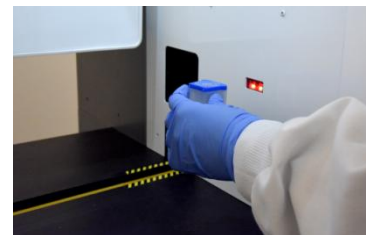
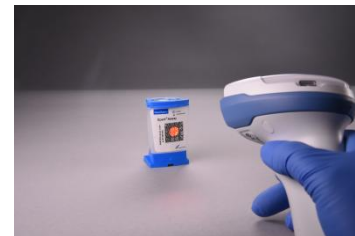
Para obtener los detalles completos sobre cómo realizar una prueba, consulte el prospecto y los manuales del operador de GeneXpert Dx o Xpertise.

## 2 Escanee los códigos 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



# Cree una prueba en el software GeneXpert Dx

4 Complete los campos según sea necesario

5 El protocolo del ensayo se selecciona automáticamente

6 El módulo se selecciona automáticamente

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

The screenshot shows the 'Create Test' window with the following fields and values:

- Patient ID: [Empty]
- Sample ID: [Empty]
- Patient ID 2: [Empty]
- Last Name: [Empty]
- Select Assay: **Nombre del ensayo Xpert** (highlighted)
- Select Module: A3 (highlighted)
- Reagent Lot ID\*: 16119
- Expiration Date\*: 2016/1/17
- Test Type: Specimen
- Sample Type: Other
- Notes: [Empty]

At the bottom right, the 'Start Test' button is highlighted with an orange box and a mouse cursor is pointing at it.



# Cree una prueba en el software Xpertise

4 Complete los campos según sea necesario

**Order Test - Test Information**

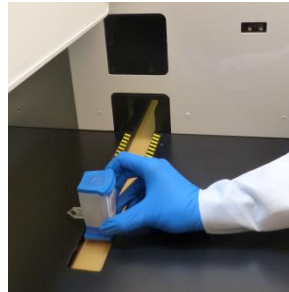
<b>Patient ID</b> patientid	
<b>Sample ID</b> sampleid	
<b>Last Name</b> patient	<b>First Name</b> id
<b>Assay*</b> Ensayo Xpert	
<b>Reagent Lot ID*</b> 12102	<b>Cartridge S/N*</b> 282769448
<b>Expiration Date*</b> 2018/11/04	<b>Priority</b> Normal
<b>Test Type</b> Specimen	
<b>Sample Type</b> Other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

5 El protocolo del nombre del ensayo se selecciona automáticamente

6 Haga clic en ENVIAR (SUBMIT)



7 Coloque el cartucho en la cinta transportadora



# Protocolo automatizado del Xpert





# Controles de calidad

*Véase el prospecto, donde  
encontrará información completa*





# Estrategia de control del ensayo Cepheid

CONTROL

- 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.
  - Control de comprobación de la sonda (PCC)
  - Control de procesamiento de muestras (SPC)

- **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 para comprobar lo siguiente:
    - rehidratación de las microesferas
    - integridad de la sonda
    - llenado del tubo de reacción
    - estabilidad del colorante
- **Controles de procesamiento de muestras (SPC):** se muestran como CIC
  - Verifica el procesamiento adecuado de las muestras
  - Verifica la lisis, la presencia del microorganismo y detecta la inhibición de la PCR
  - Deberá ser positivo en una muestra negativa
  - Puede ser positivo o negativo en una muestra positiva

# Análisis de resultados

*Véase el prospecto, donde  
encontrará información completa*



# Resumen de resultados

Resultado mostrado	EV	CIC
<b>POSITIVO (POSITIVE)</b>	+	+/-
<b>NEGATIVO (NEGATIVE)</b>	-	+
<b>NO VÁLIDO (INVALID)</b>	-	-
<b>ERROR</b>	SIN RESULTADO (NO RESULT)	SIN RESULTADO (NO RESULT)
<b>SIN RESULTADO (NO RESULT)</b>	SIN RESULTADO (NO RESULT)	SIN RESULTADO (NO RESULT)

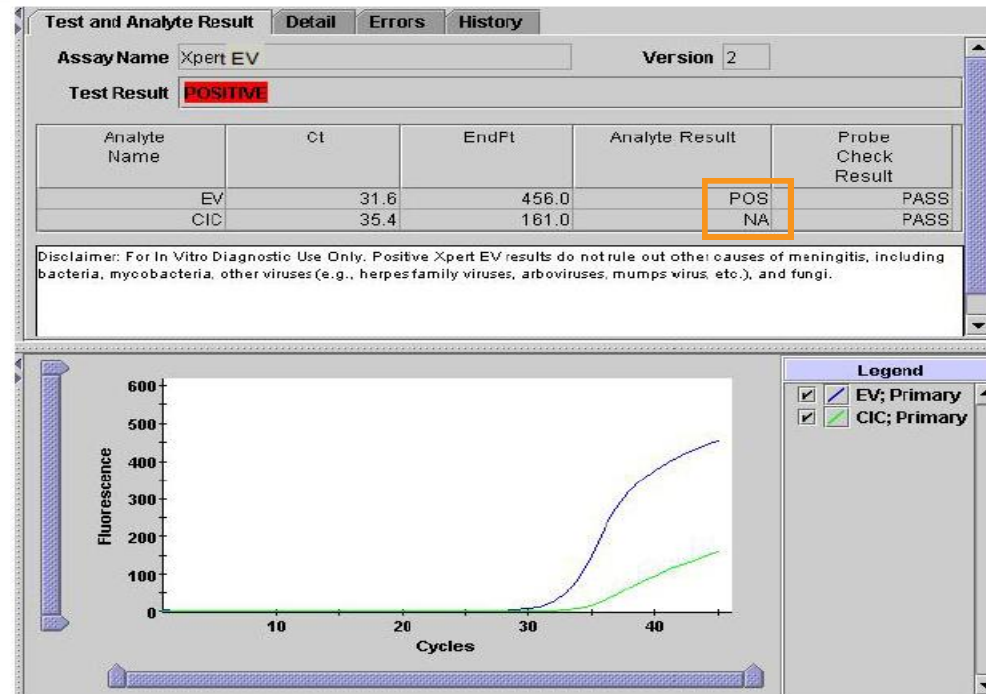
# EV positivo (EV Positive)

Test Result **POSITIVE**

Se han detectado ácidos nucleicos diana de EV.

- CIC (SPC/CI)—N/A  
(CIC [SPC/IC]—NA)
- Comprobación de la sonda—SUPERADO  
(Probe Check—PASS)  
Todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.

Los resultados positivos en el Xpert EV no descartan otras causas de meningitis, incluidas las bacterias, las micobacterias, otros virus y los hongos.



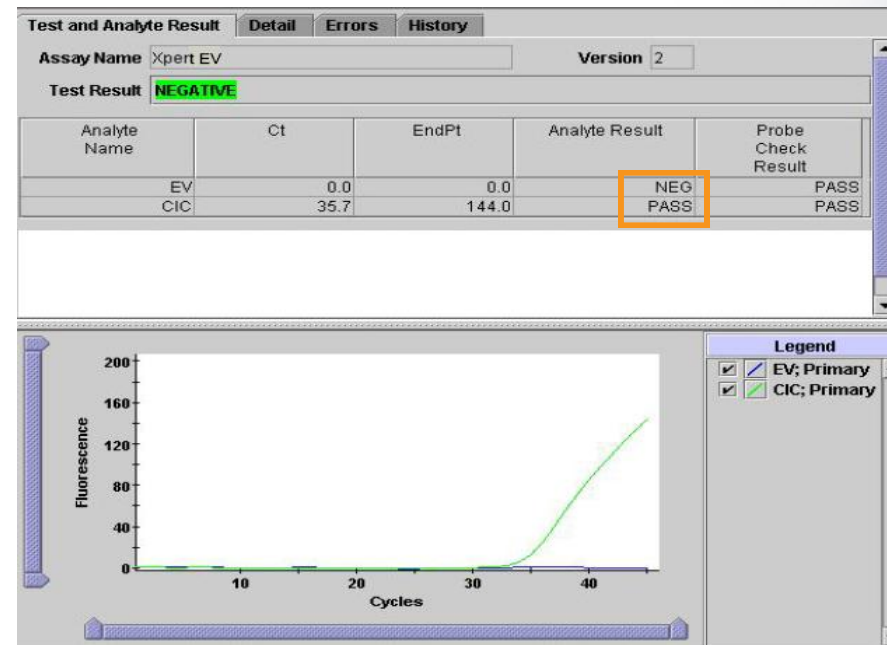
# EV negativo (EV Negative)

Test Result **NEGATIVE**

No se han detectado ácidos nucleicos diana de EV. EV—NEG

- CIC (SPC/CI)—SUPERADO (CIC [SPC/IC]—PASS); el SPC tiene un Ct dentro del rango válido y un criterio de valoración por encima del valor mínimo configurado.
- Comprobación de la sonda—SUPERADO (Probe Check—PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.

Los resultados negativos del Xpert EV no descartan que los enterovirus sean la causa de la meningitis, sino que indican que no se detectaron enterovirus en la muestra.





# 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.

# NO VÁLIDO (INVALID)

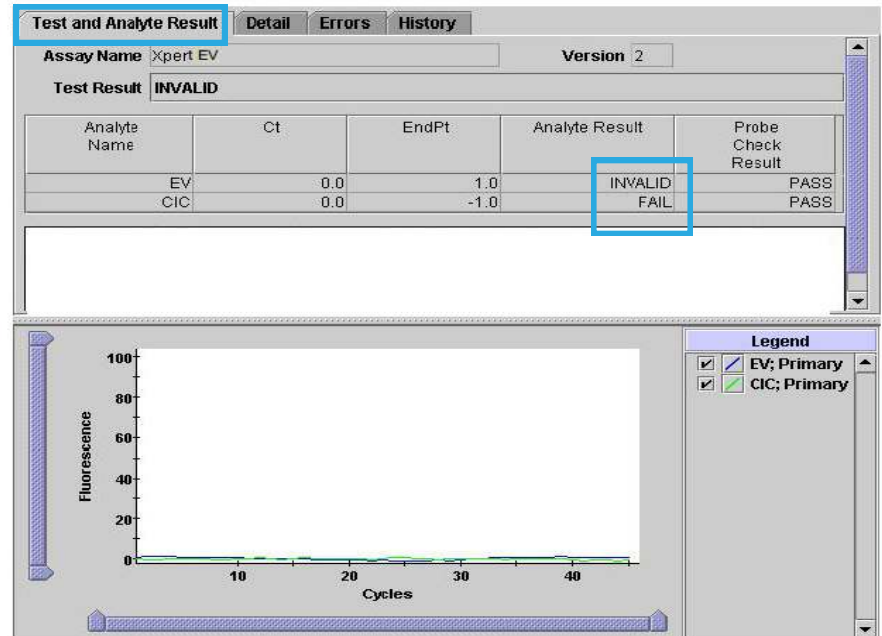
Test Result **INVALID**

No puede determinarse la presencia o ausencia de EV.

El SPC/CI no satisface los criterios de aceptación, la muestra no se procesó correctamente o la PCR se ha inhibido.

- EV—NO VÁLIDO (EV—INVALID)
- CIC (SPC/CI)—NO SUPERADO (CIC [SPC/IC]—FAIL)
- Comprobación de la sonda—SUPERADO (Probe Check—PASS)

Repita la prueba según las instrucciones para el procedimiento de repetición de la prueba del prospecto.



# ERROR

Test Result **ERROR**

No puede determinarse la presencia o ausencia de EV.

- EV—SIN RESULTADO (EV—NO RESULT)
- CIC (SPC/CI)—SIN RESULTADO (CIC [SPC/IC]—NO RESULT)
- Comprobación de la sonda—NO SUPERADA (Probe Check—FAIL)

Repita la prueba según las instrucciones para el procedimiento de repetición de la prueba del prospecto.

The screenshot displays the 'Test and Analyte Result' interface. At the top, there are tabs for 'Test and Analyte Result', 'Detail', 'Errors', and 'History'. Below these is a 'Troubleshoot' section with a table:

#	Description	Detail	Time
1	Post-run analysis error	Error 5007 - [EV] probe check failed. Probe check value of 84.19999694824219 for reading number 2 was below the minimum of 98.0	7/6/2007 15:34:50

Below the troubleshooting table is another 'Test and Analyte Result' section with tabs for 'Test and Analyte Result', 'Detail', 'Errors', and 'History'. It shows 'Assay Name' as 'xpert EV' and 'Version' as '2'. The 'Test Result' is 'ERROR'. Below this is a table with columns for 'Analyte Name', 'Ct', 'EndPt', 'Analyte Result', and 'Probe Check Result':

Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result
EV	0.0	0.0	NO RESULT	FAIL
CIC	0.0	0.0	NO RESULT	PASS

# Sin resultado (No Result)

Test Result **NO RESULT**

No puede determinarse la presencia o ausencia de EV.

- EV—SIN RESULTADO (EV—NO RESULT)
- CIC (SPC/CI)—SIN RESULTADO (CIC [SPC/IC]—NO RESULT)
- Comprobación de la sonda—N/A (Probe Check—NA)

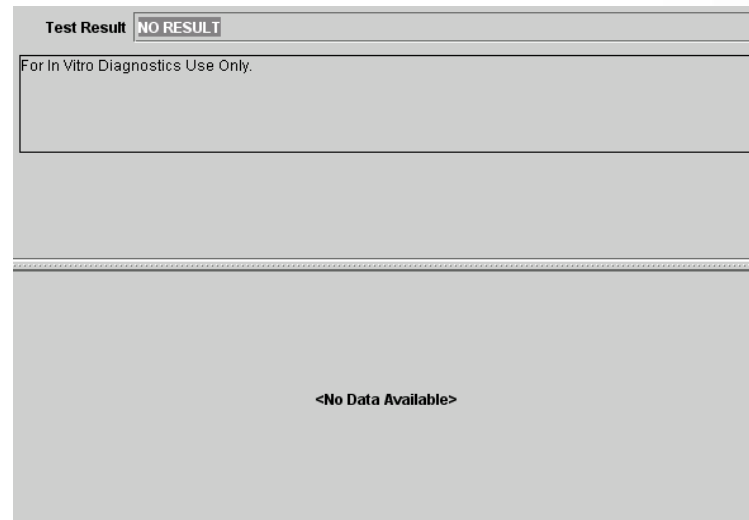
## Causas posibles

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



# Procedimiento de repetición de la prueba de EV

1

Deseche el cartucho utilizado.

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

2



Obtenga una muestra nueva.

3



Obtenga un nuevo cartucho.

Procese la muestra conforme al prospecto.

4



Ejecute la prueba en el sistema.



# Sustancias interferentes

Se obtuvieron resultados positivos en enterovirus incluso cuando se introdujo en el ensayo el máximo nivel de sustancia potencialmente interferente.

<b>Sustancia interferente</b>	<b>Concentración</b>	<b>EV C<sub>t</sub></b>
Ninguna (n de controles = 8)	No aplicable	36,1
Proteína (n = 4)	1071 mg/dl	38,2
Leucocitos (n = 4)	7140 células/mm <sup>3</sup>	37,2
LCR hemorrágico, muestra 1	2,5 % v/v de sangre	35,9
LCR hemorrágico, muestra 2	2,5 % v/v de sangre	35,0
LCR hemorrágico, muestra 3	2,5 % v/v de sangre	35,3
Hemoglobina (n = 4)	3,6 g/dl	36,9

# 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, «Service Tag» (número de servicio técnico) del ordenador.
- Presente su queja en línea utilizando el siguiente enlace <http://www.cepheid.com/us/support> :  
*Crear un Caso de servicio técnico (Create a Support Case)*

Región	Teléfono	Correo electrónico del Servicio Técnico
EE. UU.	+ 1 888 838 3222	<a href="mailto:techsupport@cepheid.com">techsupport@cepheid.com</a>
Australia y Nueva Zelanda	+ 1800 130 821	<a href="mailto:techsupportANZ@cepheid.com">techsupportANZ@cepheid.com</a>
Brasil y Latinoamérica	+ 55 11 3524 8373	<a href="mailto:latamsupport@cepheid.com">latamsupport@cepheid.com</a>
China	+ 86 021 5406 5387	<a href="mailto:techsupportchina@cepheid.com">techsupportchina@cepheid.com</a>
Francia	+ 33 563 825 319	<a href="mailto:support@cepheideurope.com">support@cepheideurope.com</a>
Alemania	+ 49 69 710 480 480	<a href="mailto:support@cepheideurope.com">support@cepheideurope.com</a>
India, Bangladesh, Bután, Nepal y Sri Lanka	+ 91 11 48353010	<a href="mailto:techsupportindia@cepheid.com">techsupportindia@cepheid.com</a>
Italia	+ 39 800 902 567	<a href="mailto:support@cepheideurope.com">support@cepheideurope.com</a>
Japón	+ 0120 95 4886	<a href="mailto:support@japan.cepheid.com">support@japan.cepheid.com</a>
Sudáfrica	+ 27 861 22 76 35	<a href="mailto:support@cepheideurope.com">support@cepheideurope.com</a>
Reino Unido	+ 44 3303 332 533	<a href="mailto:support@cepheideurope.com">support@cepheideurope.com</a>
Bélgica y Países Bajos	+33 563 825 3319	<a href="mailto:support@cepheideurope.com">support@cepheideurope.com</a>
Otros países europeos, de Oriente Próximo y africanos	+ 33 563 825 319 + 971 4 253 3218	<a href="mailto:support@cepheideurope.com">support@cepheideurope.com</a>



Gracias.



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

