

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

Para producto CE-IVD únicamente



# Programa de formación

- **Formación en Xpert® vanA/vanB**
  - 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:**

- Conservar y manipular el kit del cartucho Xpert<sup>®</sup> vanA/vanB y los kits de recogida de muestras
- 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



- Detección de los genes *vanA* y *vanB*
- Controles internos en el instrumento
  - 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® vanA/vanB realizado en los sistemas de instrumento GeneXpert® es una prueba de diagnóstico cualitativa *in vitro*, diseñada para la detección rápida de los genes de resistencia a la vancomicina (*vanA/vanB*) en muestras de hisopos rectales y perianales de pacientes con riesgo de colonización intestinal por bacterias resistentes a la vancomicina.
- La prueba utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real automatizada para detectar los genes *vanA* y *vanB* que pueden asociarse a los enterococos resistentes a la vancomicina (ERV).
- El ensayo Xpert® vanA/vanB está indicado para facilitar el reconocimiento, la prevención y el control de la colonización por microorganismos resistentes a la vancomicina en entornos sanitarios. El ensayo Xpert® *vanA/vanB* no está indicado para diagnosticar los ERV ni para guiar o monitorizar el tratamiento de las infecciones por ERV.
- Es necesario realizar cultivos simultáneos a fin de recuperar solamente microorganismos para la tipificación epidemiológica, para las pruebas de sensibilidad y para la identificación confirmatoria adicional de ERV.

# Dianas y sondas

## Dianas

- *vanA*
- *vanB*

## Sondas

- 1 sonda para *vanA* Resistencia a vancomicina y teicoplanina (mediada por plásmidos)
- 1 sonda para *vanB* Resistencia a vancomicina (transposón)
- 1 sonda para SPC Control de preparación de la muestra (SPC): esporas de *B. globigii*

# Requisitos para Xpert® vanA/vanB

## Kits de la prueba (CE-IVD)

- GXVANA/B-CE-10

## Recogida de muestras

- Dispositivo de recogida de muestras de Cepheid (número de referencia de Cepheid 900-0370)

## Otros materiales

- Equipo de protección individual (EPI)
- Pipetas de transferencia estériles desechables
- Agitadora vorticial
- Dilución 1:10 de lejía de uso doméstico
- 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:
  - ✓ Dilución 1:10 de lejía de uso doméstico\*
  - ✓ Solución de etanol al 70 %

*\* La concentración de cloro activo final deberá ser del 0,5 %, independientemente de la concentración de la lejía de uso doméstico en su país.*

- 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

- 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® vanA/vanB

| Número de catálogo | GXVANAB-CE-10  |
|--------------------|--|
| Cartuchos por kit  | 10   |
| Viales de reactivo | 10   |
| CD del kit         | Archivo de definición del ensayo<br>(Assay Definition File, ADF) |
|                    | Instrucciones para la importación del<br>Nombre de ensayo        |
|                    | Prospecto (PDF)  |
| Conservación       | 2-28 °C  |



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



# Conservación y manipulación del kit Xpert® vanA/vanB

- Conserve los cartuchos y reactivos de Xpert® vanA/vanB a una temperatura de 2–28 °C.
- Siga los procedimientos de seguridad del centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- No utilice dispositivos de recogida que no hayan sido validados por Cepheid.
- Abra la tapa del cartucho Xpert® vanA/vanB solo para añadir la muestra, cierre la tapa y continúe con el procesamiento.





# Advertencias y precauciones

- No agite el cartucho.
- No utilice un cartucho que...:
  - parezca mojado, tenga fugas o tenga un precinto de la tapa que parezca 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.
  - ya se haya utilizado: cada cartucho es de un solo uso y se utiliza para procesar una única prueba.
  - haya caducado.
- No vuelva a utilizar pipetas desechables usadas.

*Deseche los cartuchos y reactivos de Xpert® vanA/vanB siguiendo las pautas del centro y del país para la eliminación de materiales peligrosos.*

# Eliminación de residuos

- 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

- Un resultado positivo de la prueba no indica necesariamente la presencia de un microorganismo viable. Sin embargo, se presupone la presencia de ERV.
- Los resultados positivos de Xpert® *vanA/vanB* para *vanB* en ausencia de *vanA* pueden deberse a otros microorganismos distintos de los ERV. Se recomienda confirmar mediante cultivo la presencia de estos microorganismos.
- Como se describe en la literatura, puede haber algunas bacterias aerobias y anaerobias que contengan el gen *vanB* y que serían detectadas por este ensayo; sin embargo, se desconoce la relevancia clínica de estos resultados. Se ha propuesto que las bacterias anaerobias positivas para el gen *vanB* constituyen un reservorio de determinantes de resistencia a la vancomicina, pero esta hipótesis aún no se ha demostrado.
- La prueba con el ensayo Xpert® *vanA/vanB* debe 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 nuevas o desconocidas de ERV, y pueden producir un resultado negativo falso.

# Recogida y conservación de muestras

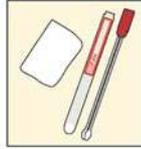


# Recogida de muestras

## Recogida de muestras rectales/perianales

1

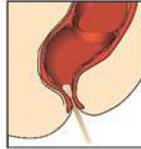
Utilice el dispositivo de recogida de Cepheid n.º 900-0370 para recoger la muestra.



2

### Muestra de hisopos rectales

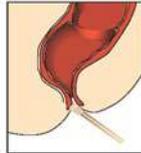
Introduzca con cuidado ambos hisopos aproximadamente 2,5 cm más allá del esfínter anal (de manera que las puntas de algodón ya no estén visibles) y gírelos suavemente 3 veces para asegurar la recogida uniforme de muestra en ambos hisopos.



O BIEN,

### Muestra de hisopo perianal

Separe los glúteos para dejar expuesta la región perianal. Frote con el hisopo alrededor de la superficie perianal, asegurándose de cubrir tanta superficie como sea posible.



3

Vuelva a colocar los hisopos en el tubo.



4

La muestra puede conservarse a 2-8 °C durante 5 días como máximo.



# Conservación de muestras

| Tipo de muestra             | Conservación   |
|-----------------------------|--|
| Hisopos rectales/perianales |  durante 5 días |



Use el dispositivo de recogida de muestras de Cepheid (REF 900-0370)

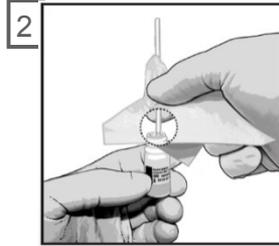
# Preparación del cartucho



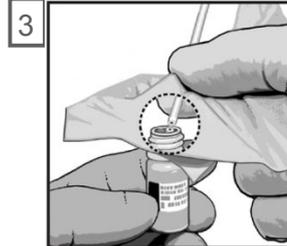
# Preparación del cartucho



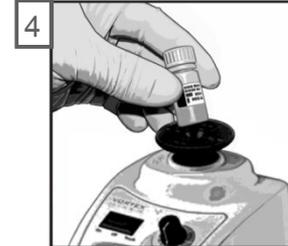
1 Obtenga un cartucho Xpert® y un vial de reactivo para muestras para cada muestra.



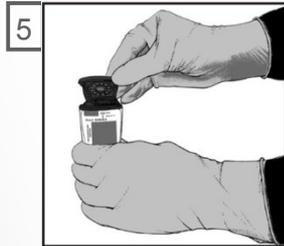
2 Inserte el hisopo en el vial del reactivo para muestras.



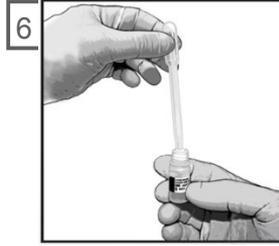
3 Rompa el hisopo en la marca ranurada cerca de la abertura del vial.  
Nota: No sujete el hisopo por debajo de la marca ranurada.  
Utilice un paño o un artículo equivalente para minimizar el riesgo de contaminación.



4 Vuelva a tapar el vial de reactivo para muestras y agítelo en una mezcladora vorticial durante 10 segundos.



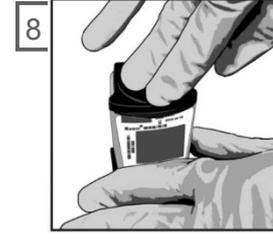
5 Abra la tapa del cartucho.



6 Con ayuda de una pipeta de transferencia desechable, aspire todo el contenido del vial del reactivo para muestras.



7 Vacíe la pipeta en la cámara de la muestra.



8 Cierre firmemente la tapa. Inicie la prueba dentro del periodo especificado en el prospecto.

# 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 la adición de la muestra.

## 2 Escanee los mensajes del 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)***

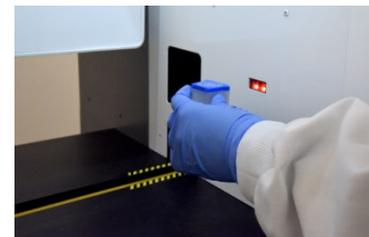
Order Test - Assay

Scan Cartridge Barcode

Cartridge barcode is successfully scanned when you hear the beep.

|            |             |
|------------|-------------|
| Patient ID | P11005      |
| Sample ID  | S1100512345 |
| Priority   | Normal      |

## 3 Escanee el cartucho



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

# 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®
- Select Module: A3
- Reagent Lot ID\*: 16119
- Expiration Date\*: 2016/1/17
- Test Type: Specimen
- Sample Type: Other
- Notes: [Empty]

The 'Start Test' button is highlighted with an orange box and a mouse cursor. The 'Scan Cartridge Barcode' button is also visible.



# Cree una prueba en el software Xpertise™

4 Complete los campos según sea necesario

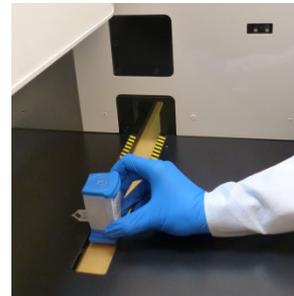
5 El protocolo del Nombre de ensayo se selecciona automáticamente

6 Haga clic en ENVIAR (SUBMIT)

7 Coloque el cartucho en la cinta transportadora

**Order Test - Test Information**

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





# Protocolo automatizado del Xpert®



CE-IVD. Para uso diagnóstico *in vitro*

# Controles de calidad





# Estrategia de control del ensayo

CONTROL

- **Controles de calidad de Xpert® vanA/vanB**
  - Cada cartucho Xpert® es un dispositivo analítico autónomo
  - Cepheid ha diseñado métodos moleculares específicos para incluir controles internos que permiten al sistema detectar fallos específicos dentro de cada cartucho
    - Control de procesamiento de muestras (SPC)
    - Controles de comprobación de la sonda (PCC)

Consulte el documento 301-4868 Características de control de calidad del GenXpert® para todos los ensayos Xpert® de Cepheid



# 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
- **Controles de procesamiento de muestras (SPC)**
  - espora no infecciosa en cada cartucho
    - 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

# Interpretación de los resultados



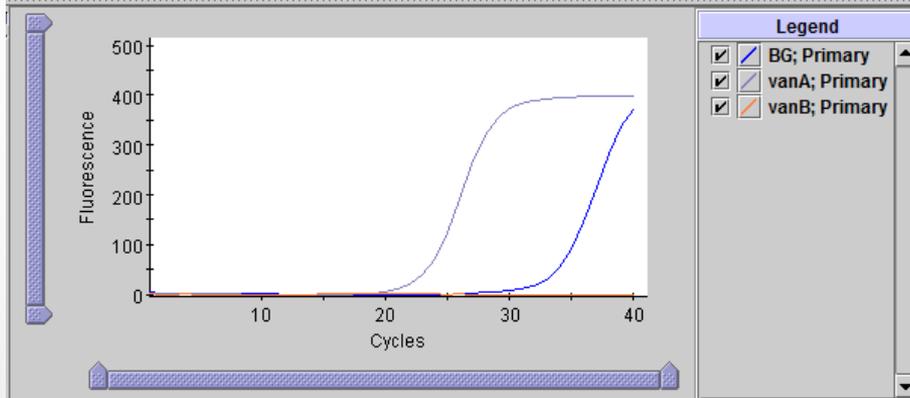
# Xpert® vanA/vanB – Todos los resultados posibles

| Resultado mostrado   | van A                        | van B                        | SPC                          |
|--|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| <b>Van A Positivo (Van A Positive)</b>                                     | +                            | -                            | +/-                          |
| <b>Van B Negativo (Van B Negative)</b>                                     |                              |                              |                              |
| <b>Van A Negativo (Van A Negative)</b>                                     | -                            | +                            | +/-                          |
| <b>Van B Positivo (Van B Positive)</b>                                     |                              |                              |                              |
| <b>Van A Positivo (Van A Positive)<br/>Van B Positivo (Van B Positive)</b> | +                            | +                            | +/-                          |
| <b>Van A Negativo (Van A Negative)<br/>Van B Negativo (Van B Negative)</b> | -                            | -                            | +                            |
| <b>NO VÁLIDO (INVALID)</b>   | -                            | -                            | -                            |
| <b>ERROR</b>   | SIN RESULTADO<br>(NO RESULT) | SIN RESULTADO<br>(NO RESULT) | SIN RESULTADO<br>(NO RESULT) |
| <b>SIN RESULTADO (NO RESULT)</b>   | SIN RESULTADO<br>(NO RESULT) | SIN RESULTADO<br>(NO RESULT) | SIN RESULTADO<br>(NO RESULT) |

# vanA Positivo; vanB Negativo (vanA Positive; vanB Negative)

vanA POSITIVE;  
vanB NEGATIVE

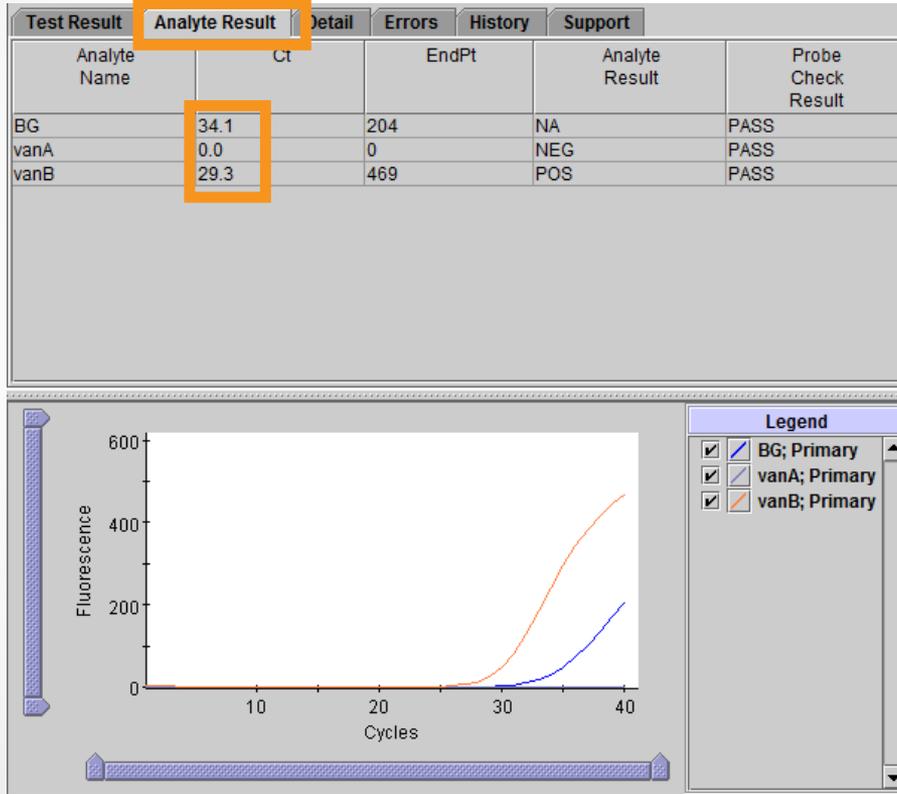
| Analyte Name | Ct   | EndPt | Analyte Result | Probe Check Result |
|--------------|------|-------|----------------|--------------------|
| BG           | 33.0 | 372   | NA             | PASS               |
| vanA         | 22.5 | 399   | POS            | PASS               |
| vanB         | 0.0  | -3    | NEG            | PASS               |



- Se detecta ADN diana de *vanA*.
- No se detecta ADN diana de *vanB*.
- *vanA* POSITIVO: *vanB* NEGATIVO  
(*vanA* POSITIVE: *vanB* NEGATIVE)  
La diana de *vanA* tiene un Ct dentro del rango válido y un valor extremo por encima del valor mínimo configurado.
- SPC: N/A (NA) (no aplicable)  
El SPC se ignora porque la amplificación de *vanA* o *vanB* podría competir con este control.
- Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS)  
Todos los resultados de la comprobación de la sonda son aceptables.

# vanA Negativo; vanB Positivo (vanA Negative; vanB Positive)

vanA NEGATIVE;  
vanB POSITIVE

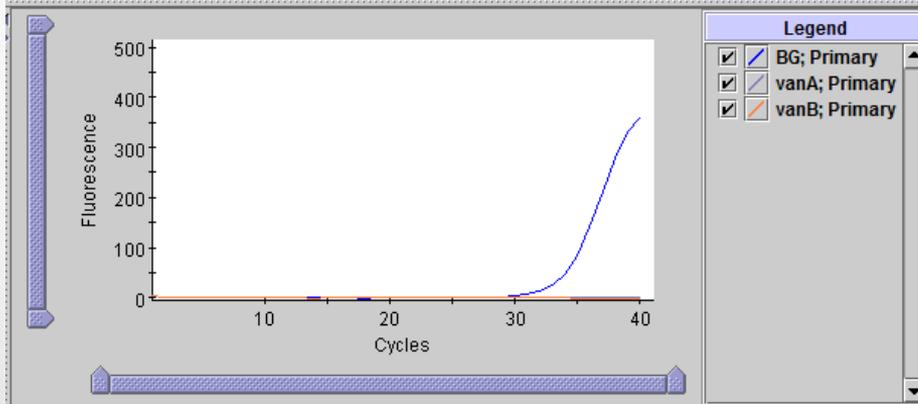


- No se detecta ADN diana de *vanA*.
- Se detecta ADN diana de *vanB*.
- *vanA* NEGATIVO: *vanB* POSITIVO  
(*vanA* NEGATIVE: *vanB* POSITIVE)  
La diana de *vanB* tiene un Ct dentro del rango válido y un valor extremo por encima del valor mínimo configurado.
- SPC: SUPERADO (PASS)  
El SPC tiene un Ct dentro del rango válido y un valor extremo por encima del valor mínimo configurado.
- Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS)  
Todos los resultados de la comprobación de la sonda son aceptables.

# vanA Negativo; vanB Negativo (vanA Negative; vanB Negative)

vanA NEGATIVE;  
vanB NEGATIVE

| Test Result  | Analyte Result | Detail | Errors         | History            | Support |
|--------------|----------------|--------|----------------|--------------------|---------|
| Analyte Name | Ct             | EndPt  | Analyte Result | Probe Check Result |         |
| BG           | 33.3           | 360    | PASS           | PASS               |         |
| vanA         | 0.0            | 1      | NEG            | PASS               |         |
| vanB         | 0.0            | -4     | NEG            | PASS               |         |



- No se detecta ADN diana de *vanA* ni *vanB*.
- *vanA* NEGATIVO: diana de *vanB* NEGATIVA
- SPC: SUPERADO (PASS)  
El SPC tiene un Ct dentro del rango válido y un valor extremo por encima del valor mínimo configurado.
- Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS)  
Todos los resultados de la comprobación de la sonda son aceptables.

# Resolución de problemas



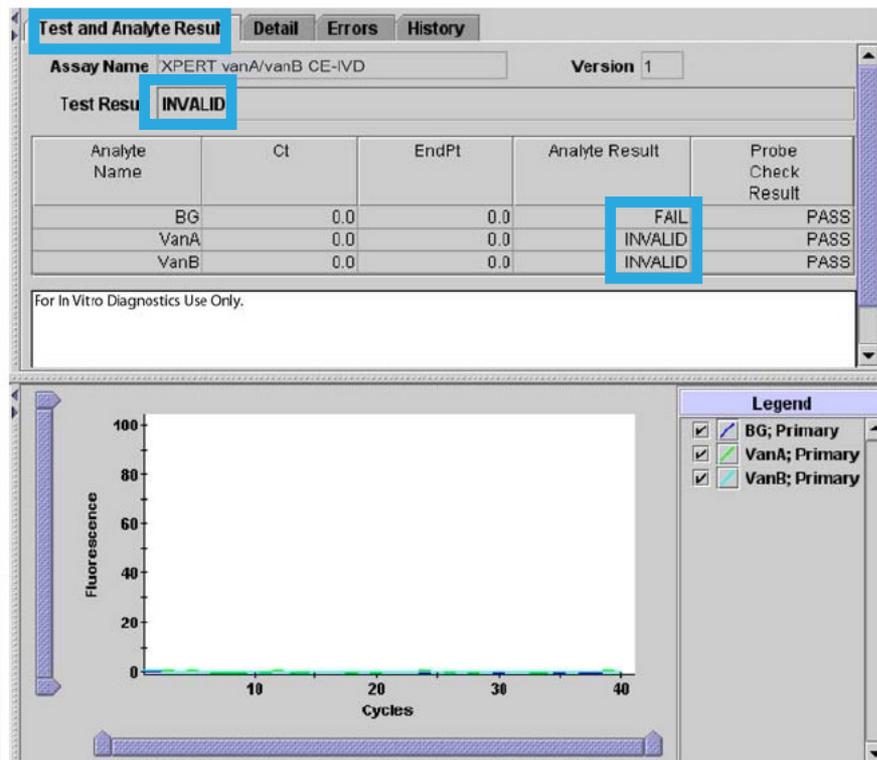


# Factores que afectan negativamente a los resultados

- Recogida inadecuada de muestras
  - La carga bacteriana de la muestra es inferior al límite de detección de la prueba
- 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)

INVALID



No puede determinarse la presencia o ausencia de la diana de *vanA/vanB*

- SPC: NO SUPERADO (FAIL). El SPC no cumple los criterios de aceptación.
- Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS)

## Causas posibles

- Recogida inadecuada de la muestra
- Preparación incorrecta de la muestra
- Conservación inadecuada de los cartuchos
- Presencia de sustancias interferentes en la muestra

## Solución

- Repita la prueba con un cartucho nuevo.
- Consulte el prospecto para obtener información detallada.

# Sustancias interferentes

- La crema de hidrocortisona (hidrocortisona al 1 %) y el Pepto-Bismol® (subsalicilato de bismuto al 1-5 %) pueden interferir con *vanB*.
- Cuando se analizaron en el estudio de interferencia, la crema de hidrocortisona y el Pepto-Bismol® arrojaron valores de Ct ligeramente superiores a los del control de tampón.

# Resultado ERROR

ERROR

The screenshot shows the GeneXpert software interface. At the top, there are tabs for 'Test Result', 'Analyte Result', 'Detail', 'Errors', 'History', and 'Support'. The 'Test Result' tab is selected. Below the tabs, the assay name is 'Xpert vanA vanB' and the version is '20'. The main display area shows 'Test Result' with a yellow 'ERROR' box. Below this, there is a section for 'For In Vitro Diagnostic Use Only.' and a large grey area at the bottom with the text '<No Data Available>'. The 'Test Result' box is highlighted with a blue border, and the 'ERROR' text is highlighted with a yellow box.

- No puede determinarse la presencia o ausencia de *vanA/vanB*
  - *vanA*: SIN RESULTADO (NO RESULT)
  - *vanB*: SIN RESULTADO (NO RESULT)

## Causas posibles

Si la comprobación de la sonda: NO SUPERADO (FAIL)

- Recogida inadecuada de la muestra
- Volumen de muestra incorrecto añadido al cartucho

Si la comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS)

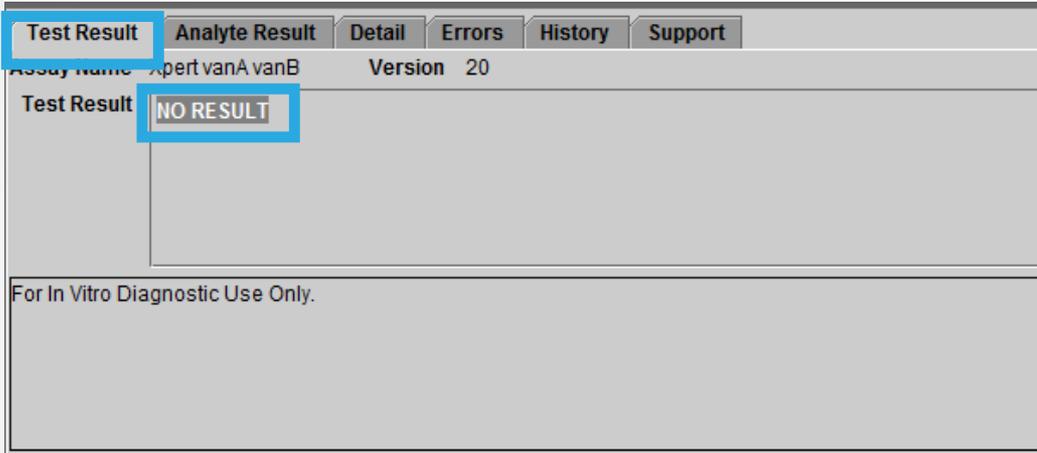
- Compruebe el módulo del sistema GeneXpert®

## Solución

- Repita la prueba con un cartucho nuevo

# SIN RESULTADO (NO RESULT)

NO RESULT



- No puede determinarse la presencia o ausencia de *vanA/vanB*.
  - *VanA*: SIN RESULTADO (NO RESULT)
  - *VanB*: SIN RESULTADO (NO RESULT)
- Comprobación de la sonda: N/A (NA) (no aplicable)

## 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

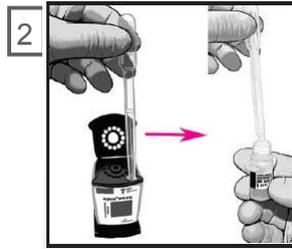
## Solución

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

# Procedimiento de repetición de la prueba



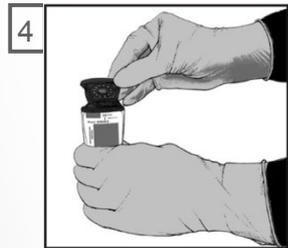
1 Retenga el cartucho usado. Obtenga un nuevo cartucho Xpert y un nuevo vial de reactivo para muestras.



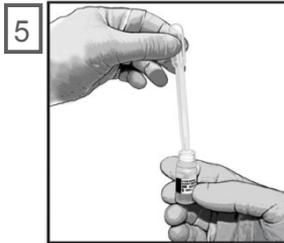
2 Transfiera todo el contenido restante de la cámara de muestras del cartucho usado a un nuevo vial de reactivo para muestras.



3 Vuelva a tapar el vial de reactivo para muestras y agítelo en una mezcladora vortical durante 10 segundos.



4 Abra la tapa del cartucho.



5 Con ayuda de una pipeta de transferencia desechable, aspire todo el contenido del vial del reactivo para muestras.



6 Vacíe la pipeta en la cámara de la muestra.



7 Cierre firmemente la tapa. Inicie la prueba dentro del período especificado en el prospecto.



# 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 reclamación utilizando el siguiente enlace <http://www.cephheid.com/us/support>: **Crear caso de servicio técnico (Create a Support Case)**



Muchas gracias.



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