

Formación en el ensayo: Xpert[®] Norovirus Assay

Servicio técnico de Cepheid
CE-IVD



 **Cepheid**[®]
A better way.

Programa de formación

- **Formación en el Xpert Norovirus Assay**
 - **Reactivos**
 - **Recogida de muestras**
 - **Conservación y manipulación del kit**
 - **Precauciones**
 - **Preparación del cartucho**
- **Control de calidad**
- **Análisis de resultados**
- **Discusión y preguntas y respuestas**



Objetivos de la formación en Xpert Norovirus Assay

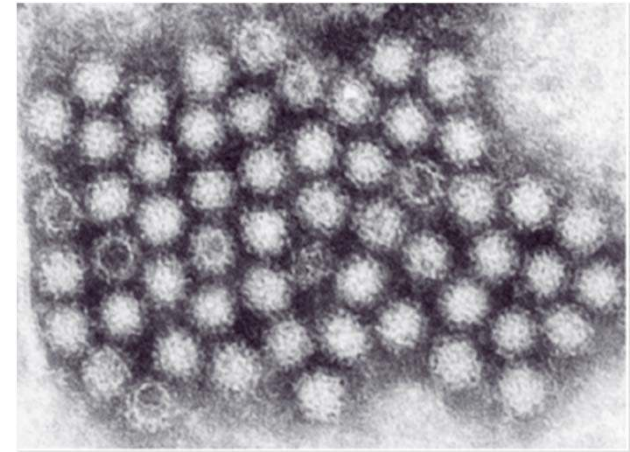
Al final de la formación, el usuario será capaz de:

- **Conservar y manipular correctamente el cartucho y el kit del ensayo Xpert Norovirus Assay.**
- **Tomar las precauciones de seguridad de laboratorio adecuadas.**
- **Recoger muestras apropiadas y transportarlas.**
- **Llevar a cabo la preparación del cartucho y realizar el ensayo.**
- **Notificar los diversos resultados generados por el software.**
- **Entender la estrategia de control del ensayo.**

Introducción al estado patológico

¿Qué son los norovirus?

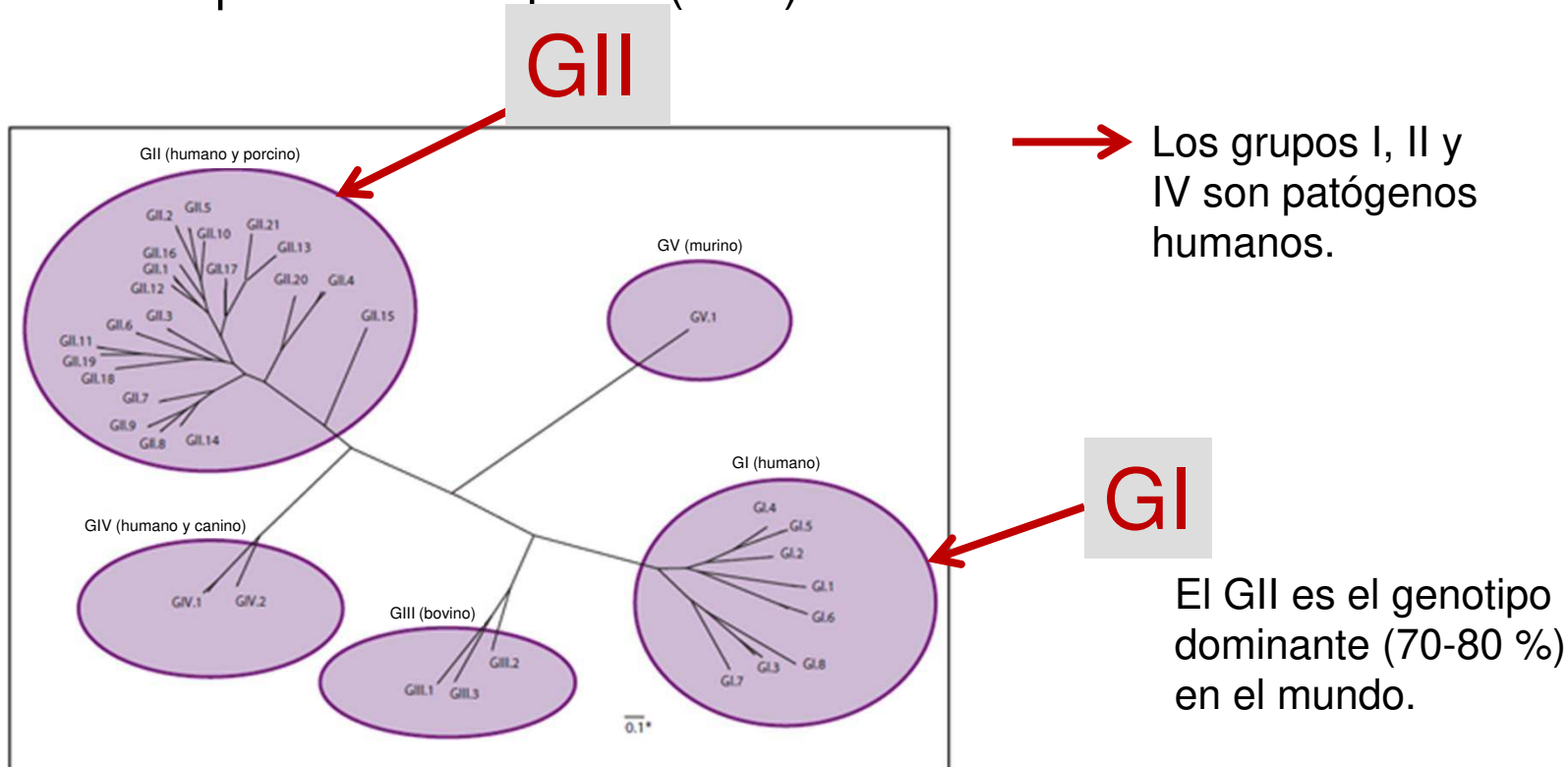
- Los norovirus son la causa más frecuente de gastroenteritis infecciosa (diarrea y vómitos) y provocan el 50 % de las gastroenteritis víricas de todo el mundo.¹
- Son virus de ARN altamente contagiosos que pueden transmitirse a través de alimentos o agua contaminados por heces, del contacto de persona a persona o de aerosolización.
- Los pacientes inmunodeprimidos, como los ancianos y los niños, tienen un alto riesgo.
- Los brotes de norovirus en centros sanitarios requieren la puesta en práctica inmediata de medidas de control de infecciones y cierres de salas.
- Los pacientes que se sospeche que estén infectados podrían ingresarse en régimen de aislamiento a la espera del resultado.
- Los norovirus de los genogrupos I (GI) y II (GII) son los responsables de la mayoría de los casos observados en humanos.



¹ CDC MMWR 2011.60 (3)

Clasificación de los norovirus

Los norovirus se clasifican en 5 genogrupos (I-V) y 32 genotipos sobre la base de la diversidad de secuencias de la proteína completa de la cápside (VP1).



La solución Cepheid



- **Detección simultánea**
 - **GI y GII**
- **Dos controles para cada muestra individual**
 - **Control de procesamiento de muestras (Sample Processing Control, SPC)**
 - **Control de comprobación de la sonda**
- **Altas sensibilidad y especificidad**
- **Sencillo y de fácil uso**
 - **Sistema de cartucho cerrado**
- **Resultados en aproximadamente 90 minutos**
 - **EAT (terminación precoz del ensayo)**
- **Resultados a petición, 24 horas al día y 7 días a la semana**
- **Acceso aleatorio**

Indicaciones

El Xpert Norovirus Assay, realizado en los sistemas del instrumento Cepheid GeneXpert[®], es una prueba de diagnóstico cualitativo *in vitro* concebida para la identificación y la diferenciación rápidas de los genogrupos I y II de norovirus a partir de muestras de heces informes recientes obtenidas de individuos con síntomas de gastroenteritis aguda. La prueba utiliza la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en tiempo real (rRT-PCR) automatizada para detectar ARN de norovirus. El Xpert Norovirus Assay está indicado para facilitar el diagnóstico de las infecciones por norovirus.

Requisitos del sistema y de los reactivos

GeneXpert Systems

- **Software GX DX v4.3 o posterior**

Kits de la prueba (CE-IVD)

- **GXNOV-CE-10**

Material adicional requerido pero no suministrado

- Hisopo seco desechable de un solo uso (SDPS-120)
- Pipetas de transferencia desechables
- Mezclador vórtex

Kit del Xpert Norovirus Assay

	Xpert Norovirus Assay
Número de catálogo	GXNOV-CE-10
Pruebas por kit	10
Frasco de reactivo para muestras por kit	10
Contenido por cartucho de la prueba	Microesferas de reactivos
	Reactivos líquidos
IT Dit	Archivo de definición del ensayo (assay definition file, ADF)
	Instrucciones para la importación de ADF
	Prospecto (PDF)
Conservación	2 °C - 8 °C



Recogida, transporte y conservación de muestras para el Xpert Norovirus Assay

- **Tipo de muestra:**
 - Muestra de heces informe reciente en un recipiente limpio
- **Recogida de muestras:**
 - Siga las directrices de su centro para la recogida de muestras para las pruebas de norovirus
- **Transporte y conservación de muestras:**
 - Transpórtelas a 2 °C - 8 °C
 - Consérvelas a 2 °C - 8 °C durante un máximo de 2 días después de la fecha de la recogida

Buenas prácticas de laboratorio

Preparación en el laboratorio de PCR

- Preparación del cartucho/reactivo → Adición de la muestra → Detección

Conservación de muestras y reactivos

- Conserve las muestras separadas de los reactivos para evitar la contaminación de estos.

Equipo

- Utilice puntas de pipeta con filtro, cuando sea necesario, para las diluciones de los controles de calidad.
- Siga las recomendaciones del fabricante para la calibración y el mantenimiento del equipo de laboratorio.

Buenas prácticas de laboratorio (continuación)

Mantenimiento

- Limpie las superficies de trabajo con una dilución de lejía doméstica a una concentración final de 1:10 y, a continuación, con etanol al 70 % o isopropanol al 70 %. Seque las superficies de trabajo con un paño.
- En caso de contaminación, limpie minuciosamente la zona contaminada con una dilución 1:10 de lejía doméstica, DNA AWAY o agua oxigenada al 3 % (p/v), y enjuague bien con agua. Seque las superficies de trabajo con un paño.

Personal

- Lleve guantes y batas de laboratorio limpios.
- Cámbiese los guantes entre el procesamiento de una muestra y el de la siguiente.

Zona de la mesa de laboratorio

- Limpie la zona de la mesa de laboratorio periódicamente.
- Mantenga la parte trasera del instrumento libre de polvo.

Conservación y manipulación del kit del Xpert Norovirus Assay



- **Conserve los kits de la prueba a 2-8 °C. No utilice cartuchos caducados.**
- **Cada cartucho de un solo uso del Xpert Norovirus Assay se utiliza para procesar una sola prueba. No vuelva a utilizar los cartuchos procesados.**
- **No abra el cartucho hasta que esté listo para utilizarlo.**
 - El cartucho deberá utilizarse en los 30 minutos siguientes a la apertura de la tapa.
- **Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de las muestras.**
 - Cámbiese los guantes si estos entran en contacto con muestras o si están mojados.
 - Cámbiese los guantes antes de abandonar la zona de trabajo y al entrar en la zona de trabajo.
- **No utilice cartuchos que se hayan caído o agitado después de que la muestra se haya transferido al cartucho.**
- **No utilice cartuchos con tubos de reacción dañados.**

Hisopo para el procesamiento de muestras de norovirus



MARCA RAYADA

Hisopo desechable de un solo uso Cepheid, número de referencia SDPS-120

Xpert Norovirus Assay: cantidad correcta de muestra



Muy poca muestra



Cantidad correcta



Demasiada muestra

Protocolo del ensayo Xpert Norovirus Assay

Preparación del cartucho Xpert®

- Xpert MRSA
- Xpert MRSA/SA SSTI
- Xpert C. difficile
- Xpert SA Nasal Complete
- Xpert vanA/vanB
- Xpert Norovirus

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

Para una copia de la SDS, visite www.cepheid.com o www.cepheidintemational.com

Servicio técnico de Cepheid
Oficina en EE.UU.
(888) 838-3222, opción 2
techsupport@cepheid.com

Oficina en Europa
+33 563 82 53 19
support@cepheideurope.com



1 Obtenga un cartucho Xpert y un vial de "Sample Reagent" para cada muestra.	2 Inserte el hisopo en el vial del reactivo de la muestra.	3 Rompa el hisopo en la marca ranurada cerca de la abertura del vial.	4 Vuelva a tapar el vial del reactivo de la muestra y agítelo en una mezcladora vortex durante 10 segundos.	5 Abra la tapa del cartucho Xpert.	6 Con ayuda de una pipeta de transferencia desechable, aspire todo el contenido del vial del reactivo de la muestra.	7 Vacíe la pipeta en la cámara de la muestra.	8 Cierre la tapa del cartucho Xpert.	9 Inicie la prueba dentro de los límites de tiempo especificados en el prospecto.

Nota: No sujete el hisopo por debajo de la marca ranurada. Utilice un paño o un artículo equivalente para minimizar el riesgo de contaminación.

© 2014 Cepheid

301-10498, Rev. B Marzo 2014

Protocolo del Xpert Norovirus Assay de un vistazo



EAT (terminación precoz del ensayo)

- **¿Qué es?**
 - El seguimiento en tiempo real del progreso de la reacción
 - La terminación de la reacción cuando se cruza el umbral del ciclo de una reacción particular
- **¿Qué ventajas tiene?**
 - Los resultados positivos se notifican inmediatamente
 - Para las intervenciones en las que el tiempo es un factor determinante, se ahorran valiosos minutos para los pacientes que más lo necesitan

Control de calidad

Consulte el prospecto para obtener más detalles



 **Cepheid**[®]
A better way.

Estrategia de control del ensayo Cepheid

- **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 del sistema del instrumento: Comprobación del estado**
 - **Control del reactivo: Comprobación de la sonda**
 - **Control del procesamiento de muestras: SPC y/o SAC**
 - **Control de la amplificación: SPC y/o SAC y/o IC**

Control del sistema del instrumento: 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**.

Control del reactivo: PCC

- **Tras la preparación de la muestra, la reconstitución de las microesferas y el llenado del tubo (antes del termociclado), se toman varias lecturas de fluorescencia a diferentes temperaturas.**
- **Las lecturas se comparan con unos valores predeterminados establecidos por Cepheid.**
- **La comprobación de la sonda controla:**
 - **La ausencia del reactivo específico de la diana (TSR) o de microesferas de reactivo enzimático, que contienen todos los cebadores, las sondas y la plantilla de control interno**
 - **La reconstitución incompleta del reactivo**
 - **El llenado incompleto del tubo de reacción**
 - **La degradación de las sondas**
- **Si no se supera la comprobación de la sonda, el resultado notificado de la prueba será de ERROR.**

Controles de procesamiento de muestras: SPC

- El control de procesamiento de muestras (Sample Processing Control, SPC) determina la eficacia de los pasos de preparación de muestras, incluido el llenado del tubo de reacción.
- El SPC consiste en Armored RNA.
- El SPC controla:
 - Si falta cebador, sonda o microesferas de enzimas
 - La reconstitución incompleta del reactivo
 - El llenado incompleto del tubo de reacción
 - La degradación de enzimas
 - La lisis de la muestra, la extracción del ácido nucleico y la integridad de este
 - La inhibición de las muestras
- El SPC puede ser negativo o positivo en una muestra positiva para analito.
- Si el SPC no se supera en una muestra negativa para analito, el resultado notificado de la prueba será de NO VÁLIDO.

Controles externos comerciales

Número de referencia de ZeptoMetrix	Descripción	Configuración
NATNOVI-ST	• Norovirus GI (positivo)	1 mL
NATNOVII-ST	• Norovirus GII (positivo)	1 mL
NATROTA-ST	• Rotavirus Wa (negativo)	1 mL

<http://www.zeptoMetrix.com>

- **Otras opciones:**

- **Muestras positivas y negativas conocidas de pacientes**

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

Análisis de resultados

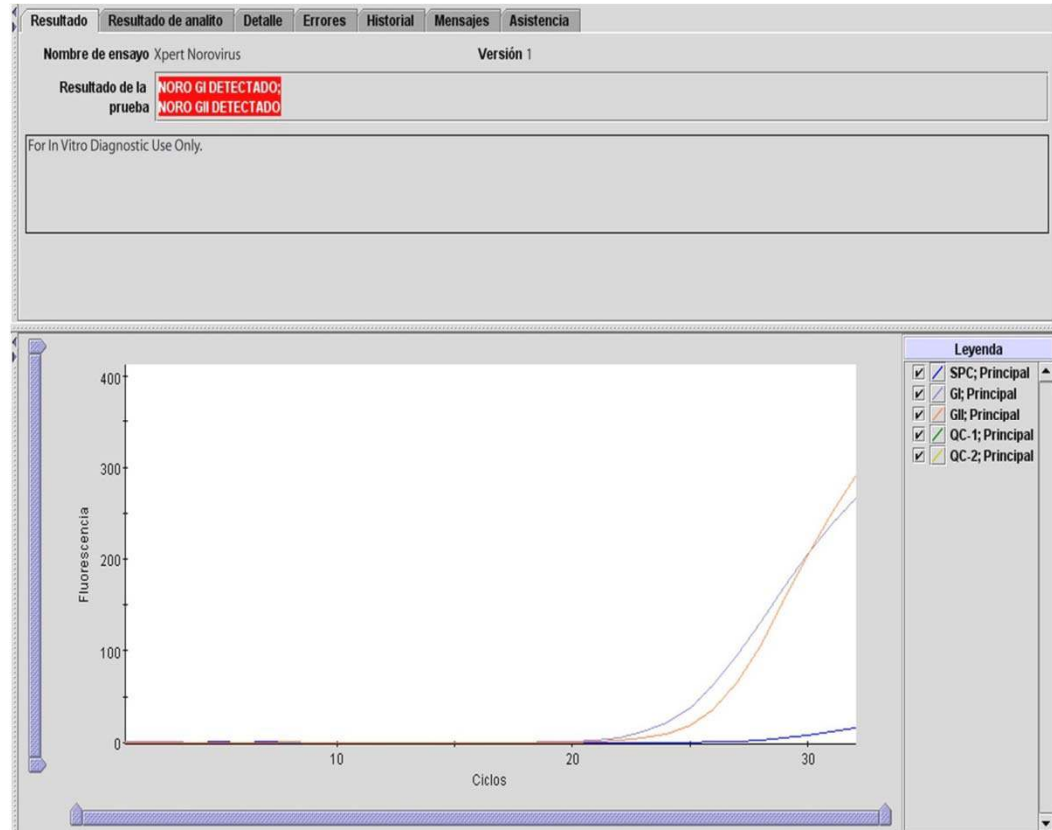
Consulte el prospecto para obtener más detalles



 **Cepheid**[®]
A better way.

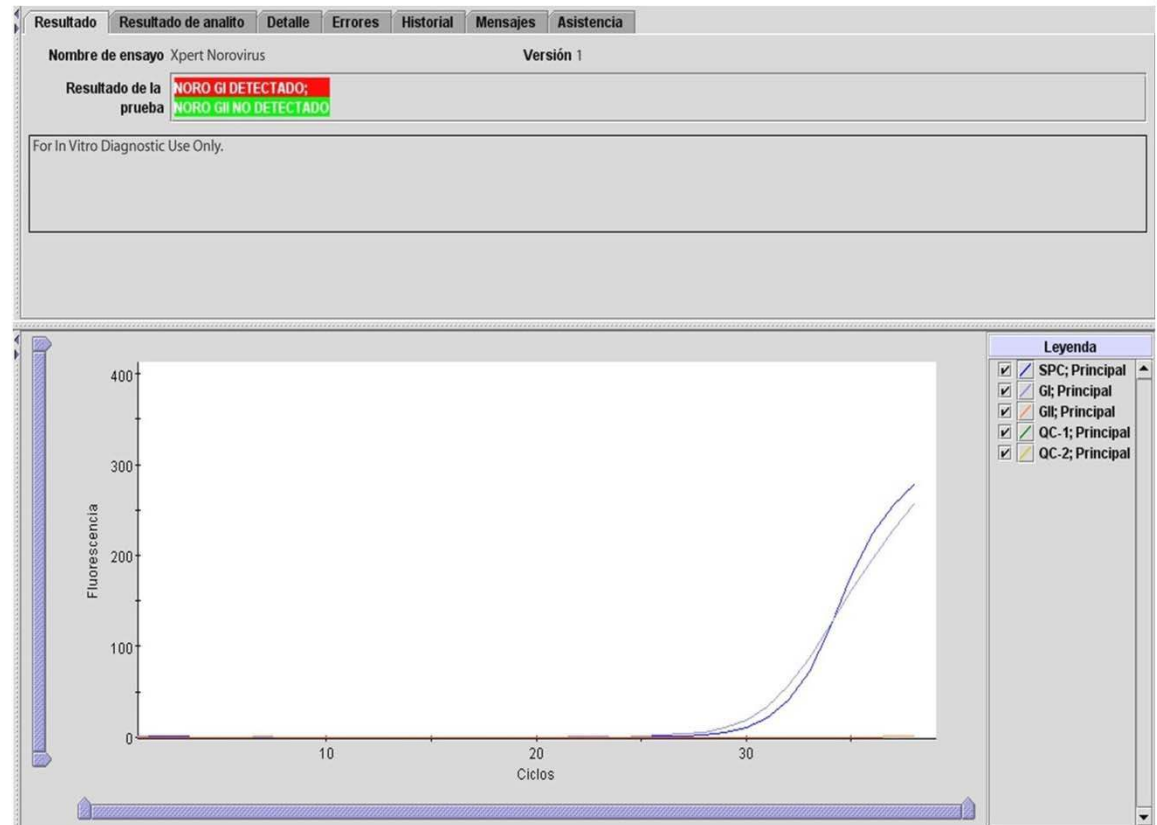
Resultados del Xpert Norovirus Assay: Noro GI detectado; Noro GII detectado

- Se han detectado secuencias de ARN diana de norovirus GI y GII.
- SPC: No aplicable (NA). El SPC se omite porque la amplificación de la diana de norovirus puede competir con este control.
- PCC: SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.



Resultados del Xpert Norovirus Assay: Noro GI detectado; Noro GII no detectado

- Se han detectado secuencias de ARN diana de norovirus GI.
- No se han detectado secuencias de ARN de norovirus GII.
- SPC: Superado; el SPC tiene un Ct dentro del rango válido y un punto final por encima del valor mínimo configurado.
- PCC: SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.

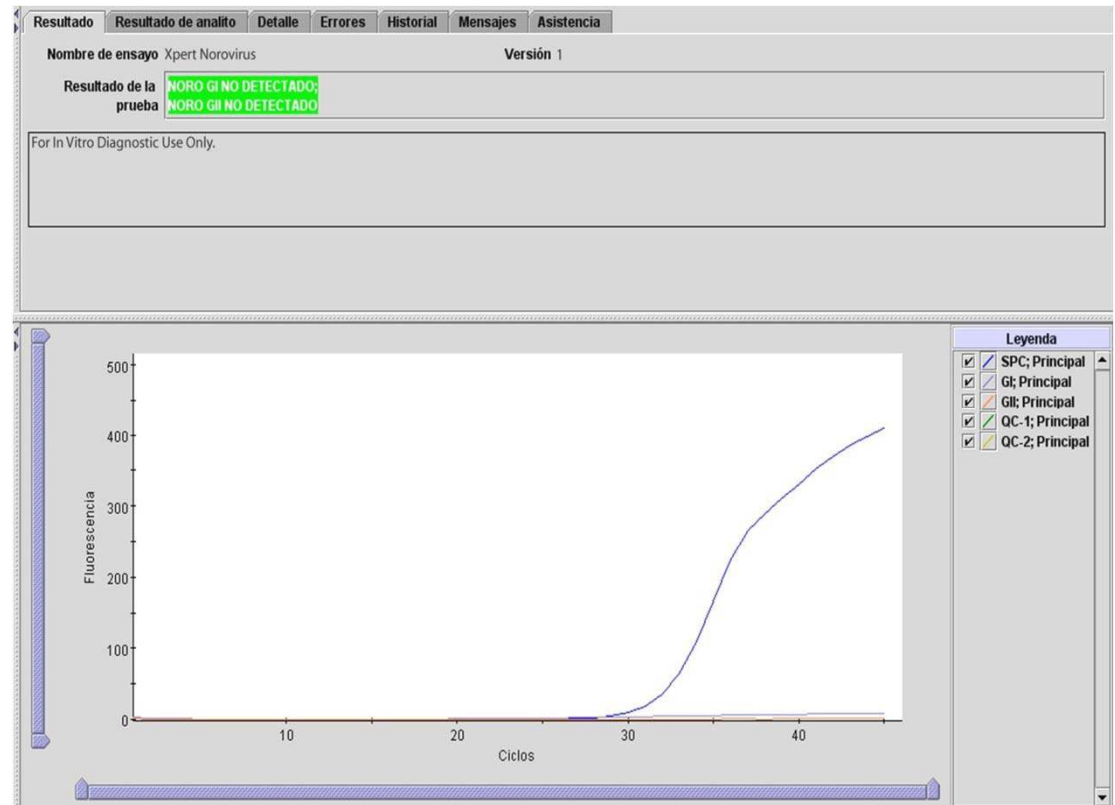


Resultados del Xpert Norovirus Assay: Noro GI no detectado; Noro GII no detectado

•No se han detectado secuencias de ARN de norovirus GI y GII.

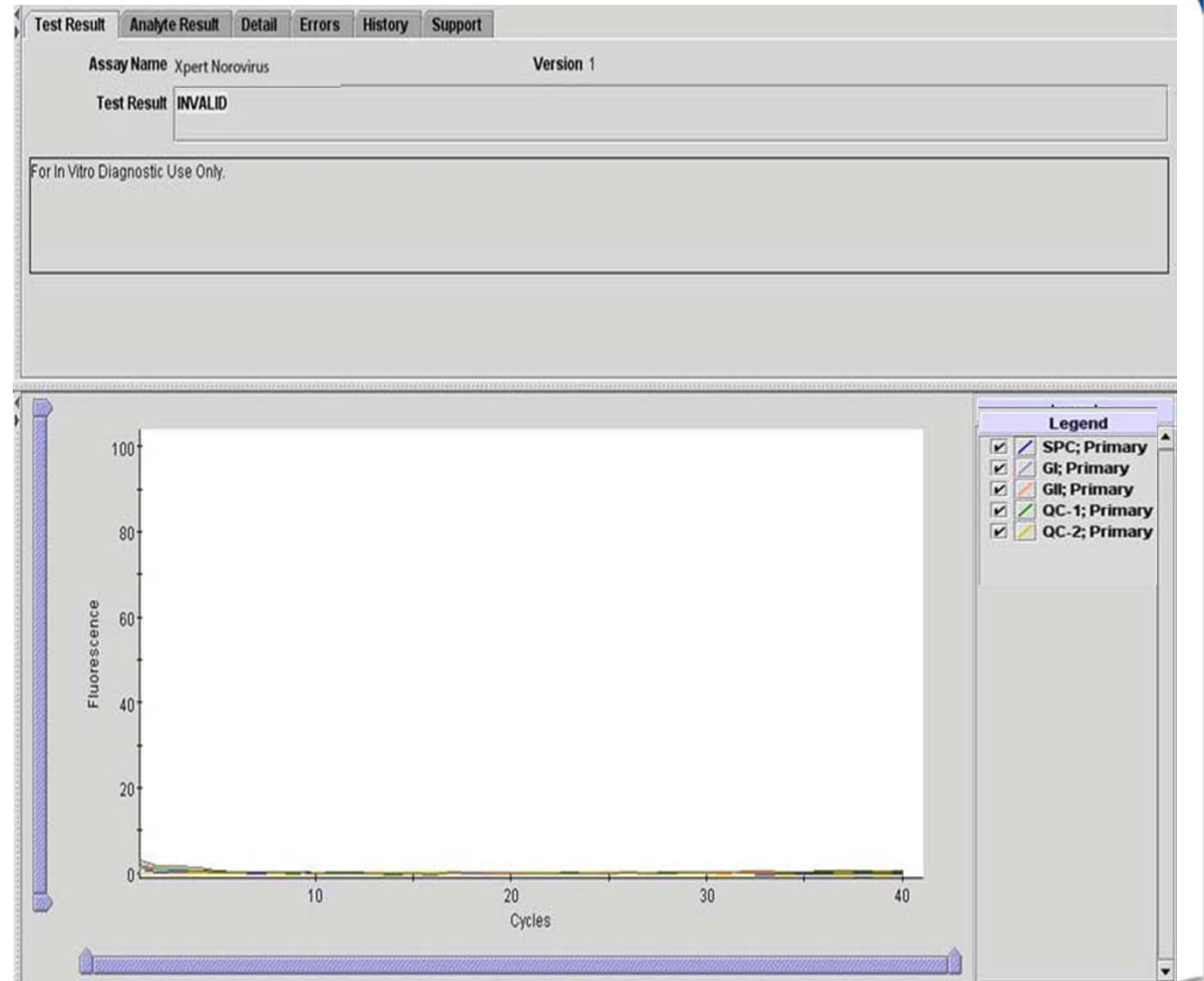
•SPC: Superado; el SPC tiene un Ct dentro del rango válido y un punto final por encima del valor mínimo configurado.

•PCC: SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.



Resultados del Xpert Norovirus Assay: NO VÁLIDO

- No puede determinarse la presencia o ausencia de secuencias de ARN diana de norovirus. Repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del apartado 14 del prospecto, Procedimiento de repetición de la prueba.
- El resultado de la diana del SPC es negativo. El Ct del SPC no está dentro del rango válido y el punto final de fluorescencia está por debajo del valor mínimo configurado.
- PCC: SUPERADO; todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.



Resultado del Xpert Norovirus Assay: ERROR

- No puede determinarse la presencia o ausencia de secuencias de ARN diana de norovirus. Siga las instrucciones del apartado 14 del prospecto, Procedimiento de repetición de la prueba, para repetir la prueba.
- SPC: SIN RESULTADO
- PCC: NO SUPERADO*; todos o uno de los resultados de la comprobación de la sonda no superan la comprobación. El PCC no superó la comprobación, debido probablemente a que el tubo de reacción no se llenó correctamente o se detectó un problema de integridad de la sonda.
- * Si la comprobación de sondas se superó, el error se debe a un fallo en los componentes del sistema.

The screenshot displays the software interface for the Xpert Norovirus Assay. At the top, there are tabs for 'Test Result', 'Analyte Result', 'Detail', 'Errors', 'History', 'Messages', and 'Support'. Below these tabs, the 'Assay Name' is 'Xpert Norovirus' and the 'Version' is '1'. The 'Test Result' field shows 'ERROR' in a yellow box. Below this, there is a section labeled 'For In Vitro Diagnostic Use Only.' with a large empty box. At the bottom, there is a 'Troubleshoot' section with a table of error details.

#	Description	Detail	Time
1	Post-run analysis error	Error 5006: [GII] probe check failed. Probe check value of 55.4 for reading number 1 was above the maximum of 54.0	03/18/14 09:50:56
2	Post-run analysis error	Error 5006: [GII] probe check failed. Probe check value of 55.0 for reading number 3 was above the maximum of 54.0	03/18/14 09:50:56




Sin resultado

No se obtuvieron suficientes datos para producir un resultado de la prueba (por ejemplo, el usuario paró la prueba que estaba en curso).

Motivos para repetir el ensayo

- Un resultado **NO VÁLIDO** indica que la muestra no se procesó correctamente, que la PCR se inhibió o que la muestra era inadecuada.
- Un resultado de **ERROR** indica que el control de comprobación de la sonda no superó la comprobación o que se sobrepasaron los límites máximos de presión.
- **SIN RESULTADO** indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, el operador detuvo una prueba en curso, se produjo un error de carga o el software se cerró prematuramente.

Procedimiento de repetición de la prueba de norovirus

1	Deseche el cartucho utilizado.	
2	Obtenga la muestra restante. Si el volumen de la muestra restante es insuficiente, o la repetición de la prueba vuelve a dar un resultado NO VÁLIDO, ERROR o SIN RESULTADO , recoja una nueva muestra.	
3	Repita la prueba con un cartucho y reactivo para muestras nuevos.	
4	Siga las instrucciones del prospecto para la realización de la prueba.	

Factores que afectan negativamente a los resultados

- **Recogida inadecuada de muestras**
 - No se ha determinado la eficacia diagnóstica lograda con otros dispositivos de recogida y con otros tipos de muestra.
 - En los ensayos que contienen el control SAC, las muestras que no contengan células humanas arrojarán resultados no válidos.
- **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.
 - Los errores técnicos o la confusión de muestras pueden afectar a los resultados de la prueba.
 - Para evitar resultados erróneos es necesario seguir estrictamente las instrucciones del prospecto.
- **Sustancia interferente**
 - Si hay presente alguna sustancia interferente, la prueba puede arrojar resultados negativos falsos o no válidos.
- **El número de microorganismos que hay en la muestra es inferior al límite de detección de la prueba**
- **Consulte la tasa de indeterminados en el prospecto**

Sustancias interferentes

- **El ensayo puede sufrir interferencias en presencia de:**
 - **Benzalconio** (toallitas antisépticas) a **concentraciones iguales o superiores al 0,2 % p/v**
 - **Bismuto** a **concentraciones superiores al 5 % p/v**
- **Consulte el prospecto del Xpert Norovirus Assay para obtener datos sobre las sustancias interferentes.**

Discusión y preguntas y respuestas



 **Cepheid**[®]
A better way.

Servicio técnico

- **Cepheid ofrece servicio técnico in situ, por teléfono, por fax y por correo electrónico.**
- **Norteamérica:**
 - **Teléfono: +1 (888) 838-3222**
 - **Fax: +1 (408) 716-2550**
 - **Correo electrónico: techsupport@cepheid.com**
- **Europa, África, Oriente Próximo y Península Índica:**
 - **Teléfono:**
 - Francia: + 33 5 63 82 53 19**
 - Alemania: + 49 69 710 480 480**
 - Reino Unido: + 44 3303 332533**
 - Sudáfrica: +27 11 808 1600**
 - Australia y Nueva Zelanda: +61 1800 107 884**
 - **Fax: +33 563 82 53 01**
 - **Correo electrónico: support@cepheideurope.com**

Discusión y preguntas y respuestas

