

Manual de uso del kit *artus*[®] HCV QS- RGQ



24 (ref. 4518363)



72 (ref. 4518366)

Versión 1

IVD

Diagnóstico *in vitro* cuantitativo

Para utilizar con los instrumentos QIASymphony[®] SP/AS y Rotor-Gene[®] Q



REF

4518363, 4518366



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANIA

R6

MAT

1060924ES



QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN es el proveedor líder de tecnologías innovadoras para la preparación de muestras y ensayos de biología molecular que permiten el aislamiento y la detección del contenido de cualquier muestra biológica. Nuestros productos y servicios de vanguardia y máxima calidad garantizan el éxito desde la muestra hasta el resultado.

QIAGEN sienta las bases de excelencia en los siguientes campos:

- Purificación de ADN, ARN y proteínas.
- Ensayos de ácidos nucleicos y proteínas.
- Investigación con microARN y ARNi.
- Automatización de tecnologías de preparación de muestras y ensayos de biología molecular.

Nuestra misión es ayudarle a superar sus retos y a alcanzar un éxito excepcional. Para más información, visite www.qiagen.com.

Índice

Uso previsto	4
Resumen y explicación	4
Información sobre el patógeno	5
Materiales suministrados	6
Contenido del kit	6
Materiales necesarios pero no suministrados	7
Advertencias y precauciones	7
Precauciones generales	8
Almacenamiento y manipulación de los reactivos	8
Manipulación y almacenamiento de las muestras	9
Procedimiento	10
Preparación de los instrumentos QIA Symphony SP/AS	10
Purificación del ARN viral	10
Utilización de un control interno y de ARN transportador (CARRIER)	10
Juegos de controles de ensayo y conjuntos de parámetros de ensayo	10
Rendimiento de ácidos nucleicos	11
Almacenamiento de ácidos nucleicos	11
Protocolos	
■ Aislamiento del ARN y preparación del ensayo en los instrumentos QIA Symphony SP/AS	12
■ RT-PCR en el instrumento Rotor-Gene Q	17
Interpretación de los resultados	18
Guía para la resolución de problemas	18
Control de calidad	24
Limitaciones	24
Características del rendimiento	24
Referencias citadas	25
Símbolos	25
Información de contacto	26

Uso previsto

El kit *artus* HCV QS-RGQ es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos in vitro para la cuantificación del ARN del virus de la hepatitis C (VHC) en plasma humano con EDTA. Este kit para pruebas de diagnóstico utiliza la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR, *reverse transcription-polymerase chain reaction*) y está configurado para su uso con los instrumentos QIA Symphony SP/AS y Rotor-Gene Q.

El kit *artus* HCV QS-RGQ está indicado para usarse junto con la presentación clínica y otros marcadores de laboratorio para determinar el pronóstico de la enfermedad y como apoyo para evaluar la respuesta viral al tratamiento antirretroviral medida por los cambios de los niveles de ARN del VHC en plasma humano con EDTA. El kit *artus* HCV QS-RGQ no está indicado para usarse como prueba de cribado del VHC ni como prueba diagnóstica para confirmar la presencia de infección por el VHC.

 Si desea obtener más información acerca de las muestras biológicas humanas específicas con las que se ha validado el kit, consulte las hojas de aplicación, disponibles online en www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Dado que QIAGEN vigila continuamente el rendimiento del ensayo y valida nuevas reivindicaciones, los usuarios deben asegurarse de trabajar con la última versión de las instrucciones de uso.



Compruebe la disponibilidad de nuevas versiones de la documentación electrónica en www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx antes de realizar la prueba.

Todos los kits se pueden emplear con los elementos respectivos de las instrucciones, siempre que el número de versión del manual y el resto de la información de la documentación coincidan con el número de versión del kit. El número de la versión figura en la etiqueta de cada caja del kit. QIAGEN garantiza la compatibilidad entre todos los lotes del kit de análisis que llevan el mismo número de versión.

Resumen y explicación

El kit *artus* HCV QS-RGQ constituye un sistema listo para usar para la detección del ARN del VHC mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en los instrumentos Rotor-Gene Q, con la preparación de las muestras y del ensayo

en los instrumentos QIAAsymphony SP/AS. Las mezclas maestras Hep. C Virus RG Master A y B contienen reactivos y enzimas para la amplificación específica de una región de 240 pb del genoma del VHC y para la detección directa del amplicón específico en el canal de fluorescencia Cycling Green del instrumento Rotor-Gene Q.

Además, el kit *artus* HCV QS-RGQ contiene un segundo sistema de amplificación heterógena para identificar una posible inhibición de la PCR. Esto se detecta como un control interno (IC) en el canal de fluorescencia Cycling Orange del instrumento Rotor-Gene Q. No se reduce el límite de detección de la PCR analítica del VHC. Se suministran controles positivos externos (Hep. C Virus RG QS 1–4), que permiten determinar la cantidad de ARN viral. Si desea obtener más información, consulte la hoja de aplicación correspondiente en www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Información sobre el patógeno

La hepatitis C es una inflamación del hígado provocada por el virus del mismo nombre. Al contrario que los virus de las otras hepatitis A, B, D o E, la infección por el virus de la hepatitis C (VHC) deriva, en un elevado número de casos, en una hepatopatía crónica. La infección por el VHC a menudo no produce síntomas durante un período de tiempo relativamente largo. Por este motivo, la mayoría de los pacientes no son conscientes de su infección por el VHC. Sin embargo, el tratamiento es más eficaz en las fases tempranas de la enfermedad. Actualmente, el interferón α (combinado con ribavirina) es el único tratamiento que ha demostrado ser eficaz. No obstante, se sabe también que solo algunos pacientes con hepatitis C crónica responden al tratamiento con interferón. Por consiguiente, en determinadas circunstancias, este costoso tratamiento puede resultar desfavorable para el paciente y tener graves efectos secundarios como la debilitación del sistema inmunitario, lo que a su vez puede provocar exacerbaciones (p. ej., herpes labial o herpes zóster). (1-4)

Materiales suministrados

Contenido del kit

artus HCV QS-RGQ Kit		(24)	(72)
N.º de referencia		4518363	4518366
Número de reacciones		24	72
Azul	Hep. C Virus RG Master A (mezcla maestra Hep. C Virus RG A)	4 x 144 µl	8 x 144 µl
Violeta	Hep. C Virus RG Master B (mezcla maestra Hep. C Virus RG B)	4 x 216 µl	8 x 216 µl
Rojo	Hep. C Virus RG QS 1* (10 ⁴ UI/µl)	QS 200 µl	200 µl
Rojo	Hep. C Virus RG QS 2* (10 ³ UI/µl)	QS 200 µl	200 µl
Rojo	Hep. C Virus RG QS 3* (10 ² UI/µl)	QS 200 µl	200 µl
Rojo	Hep. C Virus RG QS 4* (10 ¹ UI/µl)	QS 200 µl	200 µl
Verde	Hep. C Virus RG IC†	IC 1.000 µl	2 x 1.000 µl
Blanco	Agua (de calidad para PCR)	1.000 µl	1.000 µl
	artus HCV QS-RGQ Kit Handbook (Manual de uso del kit artus HCV QS-RGQ) (inglés)	1	1

* Estándar de cuantificación.

† Control interno.

Materiales necesarios pero no suministrados

Siempre que trabaje con productos químicos, utilice una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras. Si desea obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad (SDS, *safety data sheets*) correspondientes que el proveedor del producto pone a su disposición.

- Pipetas (ajustables)* y puntas de pipeta estériles con filtros
- Agitador vorticial*
- Centrifugadora de mesa* con rotor para tubos de reacción de 2 ml, capaz de centrifugar a 6.800 x g

Para la preparación de muestras

- QIASymphony SP instrument (instrumento QIASymphony SP) (ref. 9001297)*
- QIASymphony AS instrument (instrumento QIASymphony AS) (ref. 9001301)*

Para la PCR

- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM*†
- Software Rotor-Gene Q, versión 2.1 o superior
- Opcional: Rotor-Gene AssayManager, versión 1.0 o superior

Nota: Puede encontrar más información sobre los materiales necesarios para aplicaciones específicas en la hoja de aplicación correspondiente, disponible en www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*

Siempre que trabaje con productos químicos, utilice una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras. Si desea obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad (SDS) correspondientes. Dichas fichas están disponibles online en un formato PDF cómodo y compacto

*Asegúrese de que los instrumentos hayan sido verificados y calibrados siguiendo las recomendaciones del fabricante.

†Si procede, instrumento Rotor-Gene Q 5plex HRM con fecha de fabricación de enero de 2010 o posterior. La fecha de fabricación puede obtenerse a partir del número de serie indicado en la parte posterior del instrumento. El número de serie tiene el formato "mmaannn", donde "mm" indica el mes de fabricación en dígitos, "aa" indica los dos últimos dígitos del año de fabricación y "nnn" indica el número de identificación exclusivo del instrumento.

en www.qiagen.com/safety, donde podrá encontrar, ver e imprimir la ficha de datos de seguridad de cada kit de QIAGEN® y de cada componente del kit.

Para obtener información sobre seguridad relativa al kit de purificación utilizado, consulte el manual del kit correspondiente. Para obtener información sobre seguridad relativa a los instrumentos, consulte el manual del usuario del instrumento correspondiente.

Elimine los desechos de las muestras y del ensayo de conformidad con la normativa local en materia de seguridad.

Precauciones generales

Respete siempre las siguientes instrucciones:

- Utilice puntas de pipeta estériles con filtro.
- Durante los pasos manuales, mantenga los tubos cerrados siempre que sea posible y evite la contaminación.
- Descongele por completo todos los componentes a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de comenzar un ensayo.
- Una vez descongelados, mezcle los componentes (mediante pipeteo ascendente y descendente repetido o mediante agitación vorticial de pulsos) y centrifugue brevemente. Asegúrese de que no haya espuma ni burbujas en los tubos de reactivos.
- No mezcle componentes de kits que tengan distintos números de lote.
- Asegúrese de prerrefrigerar a 2-8 °C los adaptadores requeridos.
- Trabaje con rapidez y mantenga los reactivos de PCR en hielo o en el bloque de refrigeración antes de colocarlos en el instrumento.
- Proceda sin pausa de una parte del flujo de trabajo a la siguiente. No supere los 30 minutos de tiempo de transferencia entre cada módulo (del QIASymphony SP al QIASymphony AS, y de este al Rotor-Gene Q).

Almacenamiento y manipulación de los reactivos

Los componentes del kit *artus* HCV QS-RGQ deben almacenarse a una temperatura de -15 °C a -30 °C y son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Deben evitarse los ciclos repetidos de descongelación y congelación (> 2), ya que pueden reducir el rendimiento del ensayo.

Manipulación y almacenamiento de las muestras

Puede encontrar información sobre la manipulación y la conservación de las muestras para aplicaciones específicas en la hoja de aplicación correspondiente en www.qiagen.com/products/artushcvtgpcrkitce.aspx.

Procedimiento

Preparación de los instrumentos QIASymphony SP/AS

Cierre todos los cajones y las tapas.

Encienda los instrumentos QIASymphony SP/AS y espere hasta que aparezca la pantalla "Sample Preparation" (Preparación de muestras) y haya finalizado el procedimiento de inicialización.

Inicie una sesión en el instrumento (los cajones se desbloquearán).

Purificación del ARN viral

El kit *artus* HCV QS-RGQ se ha validado con un paso de purificación del ARN viral que se realiza en el instrumento QIASymphony SP utilizando un kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen. Consulte el *Manual de uso QIASymphony DSP Virus/Pathogen* si desea obtener información sobre cómo preparar el cartucho de reactivos para el paso de purificación de las muestras en el instrumento QIASymphony SP.

Utilización de un control interno y de ARN transportador (CARRIER)

El uso de los kits QIASymphony DSP Virus/Pathogen en combinación con el kit *artus* HCV QS-RGQ requiere la introducción del control interno (Hep. C Virus RG IC) en el procedimiento de purificación para vigilar la eficiencia de la preparación de las muestras y del ensayo posterior. Además, los kits QIASymphony DSP Virus/Pathogen pueden requerir la preparación del ARN transportador (CARRIER). Si desea obtener información específica sobre el control interno y el uso del ARN transportador (CARRIER), consulte la hoja de aplicación correspondiente en www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Juegos de controles de ensayo y conjuntos de parámetros de ensayo

Los juegos de controles de ensayo son la combinación de un protocolo más parámetros adicionales, como el control interno, para la purificación de muestras con el instrumento QIASymphony SP. Para cada protocolo hay preinstalado un juego de controles de ensayo predeterminado.

Los conjuntos de parámetros de ensayo son la combinación de una definición de ensayo con parámetros adicionales definidos, como el número de

duplicados y el número de estándares de ensayo, para la preparación del ensayo con el instrumento QIA Symphony AS.

Para las series integradas en los instrumentos QIA Symphony SP/AS, el conjunto de parámetros de ensayo está relacionado directamente con un juego de controles de ensayo predefinido que especifica el proceso asociado de purificación de las muestras.

Rendimiento de ácidos nucleicos

Los eluidos preparados con ARN transportador (CARRIER) pueden contener mucho más ARN transportador (CARRIER) que ácidos nucleicos diana. Recomendamos utilizar métodos de amplificación cuantitativos para determinar el rendimiento.

Almacenamiento de ácidos nucleicos

Para el almacenamiento a corto plazo durante un máximo de 24 horas, recomendamos almacenar los ácidos nucleicos purificados a una temperatura de 2-8 °C. Para un tiempo de almacenamiento superior a 24 horas, recomendamos una temperatura de almacenamiento de -20 °C.

Protocolo: Aislamiento del ARN y preparación del ensayo en los instrumentos QIASymphony SP/AS

La descripción siguiente hace referencia a un protocolo general para los kits QIASymphony DSP Virus/Pathogen. Puede encontrar información detallada sobre una aplicación específica, incluidos los volúmenes y los tubos, en la hoja de aplicación correspondiente en www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Cuestiones importantes antes de comenzar

- Asegúrese de que sabe manejar bien los instrumentos QIASymphony SP/AS. Consulte los manuales del usuario que se entregan con los instrumentos y las versiones más actuales disponibles online en www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx para ver las instrucciones de uso.
- Antes de usar un cartucho de reactivos (RC) por primera vez, compruebe que los tampones QSL2 y QSB1 del cartucho (RC) no contengan un precipitado. En caso necesario, retire del cartucho de reactivos (RC) los recipientes que contienen los tampones QSL2 y QSB1 e incúbelos a 37 °C durante 30 minutos agitando de vez en cuando para disolver el precipitado. Asegúrese de volver a colocar los recipientes en las posiciones correctas. Si el cartucho de reactivos (RC) ya está perforado, asegúrese de que los recipientes estén sellados con las tiras de sellado para reutilización e incube el cartucho de reactivos (RC) completo en un baño María a 37 °C durante 30 minutos agitando de vez en cuando.*
- Evite agitar de manera enérgica el cartucho de reactivos (RC), ya que podría formarse espuma, lo cual puede provocar problemas para detectar el nivel de líquido.
- Trabaje con rapidez y mantenga los reactivos de PCR en hielo o en el bloque de refrigeración antes de colocarlos en el instrumento.
- Los volúmenes de reactivos están optimizados para 24 o 72 reacciones por kit y por serie (ref. 4518363 y 4518366, respectivamente).
- Antes de cada uso, todos los reactivos deben ser descongelados completamente, mezclados (mediante pipeteo ascendente y descendente repetido o mediante agitación vorticial rápida) y centrifugados durante al menos 3 segundos a 6.800 x g. Evite que se forme espuma en los reactivos.

*Asegúrese de que todos los instrumentos se hayan verificado, sometido a mantenimiento y calibrado con regularidad según las instrucciones del fabricante.

- Los eluidos de la preparación de las muestras y todos los componentes del kit *artus* HCV QS-RGQ se han mostrado estables en el instrumento durante al menos el tiempo habitual requerido para la purificación de 96 muestras y la preparación de 72 ensayos, incluido un tiempo de transferencia del QIASymphony SP al QIASymphony AS de hasta 30 minutos y un tiempo de transferencia del QIASymphony AS al Rotor-Gene Q de hasta 30 minutos.

Lo que hay que hacer antes de comenzar

- Prepare todas las mezclas necesarias. Si fuera preciso, prepare mezclas que contengan ARN transportador (CARRIER) y controles internos justo antes de comenzar. Si desea obtener más información, consulte la hoja de aplicación correspondiente en www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.
- Antes de comenzar el procedimiento, asegúrese de que las partículas magnéticas estén completamente en suspensión. Mezcle enérgicamente mediante agitación vorticial el recipiente que contiene las partículas magnéticas durante al menos 3 minutos antes del primer uso.
- Antes de cargar el cartucho de reactivos (RC), retire la cubierta del recipiente que contiene las partículas magnéticas y abra los tubos de enzimas. Asegúrese de que la gradilla de enzimas se haya equilibrado a temperatura ambiente (15-25 °C).
- Asegúrese de que la tapa de perforación (PL) esté colocada sobre el cartucho de reactivos (RC) y de que la tapa del recipiente de partículas magnéticas se haya retirado o, si se está utilizando un cartucho de reactivos (RC) parcialmente usado, asegúrese de que se hayan retirado las tiras de sellado para reutilización.
- Si las muestras tienen un código de barras, oriéntelas en el soporte de tubos de forma que los códigos de barras miren hacia el lector de códigos de barras del interior del cajón "Sample" (Muestras) en el lado izquierdo del QIASymphony SP.

Procedimiento

Purificación del ARN viral en el instrumento QIASymphony SP

1. **Cierre todos los cajones y las tapas de los instrumentos QIASymphony SP/AS.**
2. **Encienda los instrumentos y espere hasta que aparezca la pantalla "Sample Preparation" (preparación de muestras) y haya finalizado el procedimiento de inicialización.**

El interruptor de alimentación se encuentra en la esquina inferior izquierda del instrumento QIASymphony SP.

3. **Inicie una sesión en los instrumentos.**
4. **Prepare los siguientes cajones tal como se indica en la hoja de aplicación correspondiente, disponible en www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.**
 - Cajón "Waste" (Desechos); una vez preparado, realice un examen de inventario.
 - Cajón "Eluate" (Eluidos); una vez preparado, realice un examen de inventario.
 - Cajón "Reagents and Consumables" (Reactivos y consumibles); una vez preparado, realice un examen de inventario.
 - Cajón "Sample".
5. **Mediante la configuración "Integrated run" (Serie integrada) en la pantalla táctil del QIASymphony, introduzca la información requerida para cada lote de muestras que se vaya a procesar. Seleccione un conjunto de parámetros de ensayo para la serie y asígnelo, junto con el lote del AS correspondiente, a las muestras.**

En la hoja de aplicación correspondiente se proporciona información sobre el conjunto de parámetros de ensayo y el volumen de elución preseleccionado.

Si desea obtener más información sobre las series integradas en los instrumentos QIASymphony SP/AS, consulte los manuales del usuario de los instrumentos.

6. **Cuando configure una serie integrada, compruebe que la asignación del material de laboratorio para muestras, el tipo de muestras (muestra, EC+ y EC-) y los volúmenes son correctos.**

En la hoja de aplicación correspondiente se proporciona información sobre los consumibles y los componentes que deben cargarse en cada cajón.

7. Una vez introducida la información de todos los lotes de la serie integrada, pulse el botón "Ok" (aceptar) para salir de la configuración "Integrated run". El estado de todos los lotes mostrado en el resumen del ciclo integrado cambia de "LOADED" (Cargado) a "QUEUED" (En cola). Tan pronto como un lote está en cola aparece el botón "Run" (Serie). Pulse el botón "Run" para comenzar el procedimiento.

Todos los pasos del procesamiento están totalmente automatizados.

Carga de los cajones del instrumento QIA Symphony AS para la preparación del ensayo

8. Una vez puesta en cola una serie integrada, abra los cajones del instrumento QIA Symphony AS. Los componentes que se necesita cargar se muestran en la pantalla táctil.
9. **Asegúrese de hacer todo lo siguiente antes de la serie integrada.**
 - Introduzca el conducto para puntas.
 - Deseche la bolsa para la eliminación de puntas.
 - Coloque una bolsa para la eliminación de puntas vacía.
10. **Defina y cargue la(s) gradilla(s) de ensayos. La(s) gradilla(s) de ensayos se carga(n), en el (los) adaptador(es) prerrefrigerado(s), en la(s) ranura(s) "Assay" (ensayo). Puede encontrar información sobre las gradillas de ensayos en la hoja de aplicación correspondiente, disponible en www.qiagen.com/products/artushcivrpgcrkitce.aspx.**
11. **Compruebe la temperatura de las posiciones de refrigeración.**

Cuando se alcancen las temperaturas de refrigeración deseadas, el pequeño asterisco situado junto a cada ranura aparecerá en verde.
12. **Combine todos los tubos de HCV RG Master A de un kit en un solo tubo antes de su uso. Combine todos los tubos de HCV RG Master B de un kit en un solo tubo antes de su uso.**

Nota: Puede resultar difícil manipular reactivos viscosos con pipetas manuales. Asegúrese de que transfiere el volumen completo de la mezcla maestra al tubo.
13. **Llene cada tubo de reactivo con el volumen necesario del reactivo correspondiente según la información de carga facilitada por el software del instrumento.**

Nota: Antes de cada uso, todos los reactivos deben ser descongelados completamente, mezclados (mediante pipeteado repetido arriba y abajo o mediante agitación vorticial rápida) y centrifugados durante al menos 3 segundos a 6.800 x g. Evite que se formen burbujas o espuma, ya que

podrían causar errores de detección. Trabaje con rapidez y mantenga los componentes de PCR en hielo o en el bloque de refrigeración antes de la carga.

- 14. Cargue la gradilla de reactivos y coloque los tubos de los reactivos, sin tapa, en las posiciones adecuadas de los adaptadores prerrefrigerados para reactivos de acuerdo con la hoja de aplicación correspondiente.**
- 15. Cargue puntas con filtro desechables en los cajones "Eluate and Reagents" (Eluidos y reactivos) y "Assays" (Ensayos), según el número necesario de cada tipo de punta indicado en la hoja de aplicación correspondiente.**
- 16. Cierre los cajones "Eluate and Reagents" y "Assays".**
- 17. Después de cerrar cada cajón, pulse "Scan" (Escanear) para iniciar el examen de inventario para cada cajón.**

El examen de inventario comprueba las ranuras, los adaptadores, las puntas con filtro y el conducto para puntas, así como la carga correcta del volumen específico de los reactivos. En caso necesario, corrija los errores existentes.

La preparación del ensayo se iniciará automáticamente una vez concluido el paso de purificación en el instrumento QIASymphony SP y transferidas las gradillas de eluidos al instrumento QIASymphony AS.

- 18. Una vez finalizado el procesamiento, pulse "Remove" (Quitar) en la pantalla de preparación del ensayo "Overview" (Resumen). Abra el cajón "Assays" y descargue las gradillas de ensayos.**
- 19. Descargue los archivos de resultados y del termociclador.**
- 20. Si en una serie integrada se han configurado varios lotes en el instrumento QIASymphony AS, vuelva a cargar los cajones del instrumento QIASymphony AS, a partir del paso 8.**
- 21. Continúe en el apartado "Protocolo: RT-PCR en el instrumento Rotor-Gene Q" en la página 17.**
- 22. Realice el mantenimiento periódico del QIASymphony AS mientras se realiza la serie de PCR en el Rotor-Gene Q o después.**

Dado que el flujo de trabajo es una operación integrada, limpie todos los instrumentos una vez finalizado el flujo de trabajo.

Siga las instrucciones de mantenimiento descritas en el *Manual del usuario QIASymphony SP/AS – Descripción general*. Asegúrese de realizar las tareas de mantenimiento con regularidad para reducir al mínimo el riesgo de contaminación cruzada.

Protocolo: RT-PCR en el instrumento Rotor-Gene Q

Cuestiones importantes antes de comenzar

- Dedique tiempo suficiente a familiarizarse con el instrumento Rotor-Gene Q antes de iniciar el protocolo. Consulte el manual del usuario del instrumento.
- Para la interpretación automática de los resultados de la PCR se puede usar el software Rotor-Gene AssayManager en lugar del software Rotor-Gene Q.
- Asegúrese de que se incluyan los 4 estándares de cuantificación y al menos un control negativo (agua de calidad para PCR) para cada serie de PCR. Para generar una curva de estándares, utilice los 4 estándares de cuantificación suministrados (Hep. C Virus RG QS 1–4) para cada serie de PCR.

Procedimiento

1. Cierre los tubos de PCR y colóquelos en el rotor de 72 pocillos del Rotor-Gene Q. Asegúrese de transferir las tiras de 4 tubos del instrumento Rotor-Gene Q en la orientación correcta, de manera que los índices de posición del adaptador de refrigeración y del rotor coincidan. Asegúrese de que el anillo de bloqueo (accesorio del instrumento Rotor-Gene) está colocado en la parte superior del rotor para prevenir la apertura accidental de los tubos durante el procesamiento.
2. Transfiera el archivo del termociclador del QIASymphony AS al ordenador del Rotor-Gene Q.
3. Para la detección de ARN del VHC, cree un perfil de temperatura e inicie la serie conforme a las indicaciones de la hoja de aplicación correspondiente, disponible en www.qiagen.com/products/artushcvgpckitce.aspx. La información específica del software acerca de la programación del instrumento Rotor-Gene Q se incluye en la hoja de protocolo "Valores de configuración para procesar kits *artus* QS-RGQ" correspondiente, disponible en www.qiagen.com/products/artushcvgpckitce.aspx.

Interpretación de los resultados

Si desea obtener información detallada acerca de la interpretación de los resultados, consulte la hoja de aplicación correspondiente en www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Guía para la resolución de problemas

Esta guía de resolución de problemas le será de utilidad para resolver los problemas que puedan surgir. Los científicos del servicio técnico de QIAGEN estarán siempre encantados de responder a cualquier pregunta que tenga sobre la información y los protocolos de este manual, así como sobre las tecnologías para el tratamiento de muestras y ensayos de biología molecular (encontrará la información de contacto en la contracubierta o en www.qiagen.com).

Comentarios y sugerencias

Manipulación general

Aparece un mensaje de error en la pantalla táctil	Si aparece un mensaje de error durante la ejecución de un protocolo, consulte los manuales del usuario suministrados con los instrumentos.
---	--

Precipitado en el recipiente de reactivos de un cartucho abierto del kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen

a) Evaporación del tampón	Un exceso de evaporación puede provocar un aumento de la concentración de sal o una reducción de la concentración de alcohol en los tampones. Deseche el cartucho de reactivos (RC). Asegúrese de sellar los recipientes de tampón de un cartucho de reactivos (RC) parcialmente usado con las tiras de sellado para reutilización cuando no se estén utilizando para la purificación.
---------------------------	--

Comentarios y sugerencias

- b) Almacenamiento del cartucho de reactivos (RC)
- El almacenamiento del cartucho de reactivos (RC) a una temperatura inferior a 15 °C puede causar la formación de precipitados. En caso necesario, retire del cartucho de reactivos (RC) los recipientes que contienen los tampones QSL2 y QSB1 e incúbelos en un baño María* a 37 °C durante 30 minutos agitando de vez en cuando para disolver el precipitado. Asegúrese de volver a colocar los recipientes en las posiciones correctas. Si el cartucho de reactivos (RC) ya está perforado, asegúrese de volver a cerrar los recipientes con las tiras de sellado para reutilización e incube el cartucho de reactivos (RC) completo en un baño María* a 37 °C durante 30 minutos agitando de vez en cuando.

Rendimiento bajo de ácidos nucleicos

- a) Las partículas magnéticas no se pusieron completamente en suspensión
- Antes de comenzar el procedimiento, asegúrese de que las partículas magnéticas estén completamente en suspensión. Mezcle mediante agitación vorticial durante al menos 3 minutos antes del uso.
- b) Las muestras congeladas no se mezclaron correctamente después de la descongelación
- Descongele las muestras congeladas con una agitación suave para garantizar una mezcla minuciosa.
- c) No se añadió ARN transportador (CARRIER)
- Reconstituya el ARN transportador (CARRIER) en el tampón AVE (AVE) y mézclelo con un volumen adecuado de tampón AVE (AVE) según se describe en la hoja de aplicación correspondiente, disponible en www.qiagen.com/products/artushcvgpckitce.aspx. Repita el procedimiento de purificación con nuevas muestras.

*Asegúrese de que todos los instrumentos se hayan verificado, sometido a mantenimiento y calibrado con regularidad según las instrucciones del fabricante.

Comentarios y sugerencias

- d) Ácidos nucleicos degradados Las muestras se almacenaron incorrectamente o se sometieron a demasiados ciclos de congelación-descongelación. Repita el procedimiento de purificación con nuevas muestras.
- e) Lisis incompleta de la muestra Antes del uso, compruebe que los tampones QSL2 y QSB1 no contengan precipitados. En caso necesario, retire del cartucho de reactivos (RC) los recipientes que contienen los tampones QSL1 y QSB1 e incúbelos a 37 °C durante 30 minutos agitando de vez en cuando para disolver el precipitado. Si el cartucho de reactivos (RC) ya está perforado, asegúrese de que los recipientes se han cerrado nuevamente con las tiras de sellado para reutilización e incube el cartucho de reactivos (RC) completo en un baño María a 37 °C durante 30 minutos agitando de vez en cuando.*
- f) Atasco de la punta de pipeta debido a material insoluble No se eliminó de la muestra el material insoluble antes de comenzar el procedimiento de purificación con el instrumento QIAasymphony. Para eliminar el material insoluble para las aplicaciones virales, centrifugue la muestra a 3.000 x g durante 1 minuto y transfiera el sobrenadante a un nuevo tubo de muestra.

*Asegúrese de que todos los instrumentos se hayan verificado, sometido a mantenimiento y calibrado con regularidad según las instrucciones del fabricante.

Comentarios y sugerencias

El QIAAsymphony AS detecta que la mezcla maestra es insuficiente

No se ha transferido toda la mezcla maestra al tubo

Combine todos los tubos de HCV RG Master A de un kit en un solo tubo antes de su uso.
Combine todos los tubos de HCV RG Master B de un kit en un solo tubo antes de su uso. Puede resultar difícil manipular reactivos viscosos con pipetas manuales. Asegúrese de que transfiere el volumen completo de la mezcla maestra al tubo.

En caso de trabajar con reactivos viscosos, recomendamos aspirar un volumen adicional del 5% cuando se utilicen pipetas manuales (p. ej., ajuste la pipeta a 840 µl cuando quiera aspirar 800 µl).

De manera alternativa, puede intentar lo siguiente: tras dispensar lentamente el líquido y expulsar todo el aire del interior contra la pared del tubo de destino, saque la punta del líquido, suelte el émbolo de la pipeta y espere otros 10 s. El líquido residual caerá por la punta y se podrá expulsar accionando el émbolo por segunda vez. El uso de puntas con filtro aptas para PCR denominadas "de baja retención" puede mejorar la recuperación de líquido.

Ausencia de señal con controles positivos (Hep. C Virus RG QS 1–4) en el canal de fluorescencia Cycling Green

a) El canal de fluorescencia seleccionado para el análisis de los datos de PCR no cumple el protocolo

Para el análisis de los datos, seleccione el canal de fluorescencia Cycling Green para la PCR analítica del VHC y el canal de fluorescencia Cycling Orange para la PCR del control interno.

b) Programación incorrecta del perfil de temperatura del Rotor-Gene

Compare el perfil de temperatura con el protocolo. Consulte la hoja de aplicación y la hoja de protocolo correspondientes en www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Comentarios y sugerencias

- c) Configuración incorrecta de la PCR Asegúrese de que la configuración del ensayo se realizó correctamente y de que se utilizó el conjunto de parámetros de ensayo correcto. Repita la PCR en caso necesario. Consulte la hoja de aplicación correspondiente en www.qiagen.com/products/artushcvtgpcrkitce.aspx.
- d) Las condiciones de almacenamiento de uno o más componentes del kit no cumplían las instrucciones indicadas en el apartado "Almacenamiento y manipulación de los reactivos" (página 8) Compruebe las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta del kit) de los reactivos y utilice un kit nuevo en caso necesario.
- e) El kit *artus* HCV QS-RGQ ha caducado Compruebe las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta del kit) de los reactivos y utilice un kit nuevo en caso necesario.

Señal débil o ausente del control interno de una muestra de plasma negativa sometida a purificación con el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen en el canal de fluorescencia Cycling Orange y ausencia simultánea de una señal en el canal Cycling Green

- a) Las condiciones de la PCR no cumplen el protocolo Compruebe las condiciones de la PCR (véase anteriormente) y repita la PCR con los valores de configuración corregidos en caso necesario.
- b) Se produjo la inhibición de la PCR Asegúrese de utilizar el método de aislamiento validado (consulte el apartado "Protocolo: Aislamiento del ARN y preparación del ensayo en los instrumentos QIASymphony SP/AS" en la página 12) y siga estrictamente las instrucciones.

Comentarios y sugerencias

- c) Se perdió ARN durante la extracción
- La ausencia de una señal del control interno puede indicar la pérdida de ARN durante la extracción. Asegúrese de utilizar el método de aislamiento validado (consulte el apartado "Protocolo: Aislamiento del ARN y preparación del ensayo en los instrumentos QIASymphony SP/AS" en la página 12) y siga estrictamente las instrucciones.
- Consulte también "Rendimiento bajo de ácidos nucleicos", anteriormente.
- d) Las condiciones de almacenamiento de uno o más componentes del kit no cumplían las instrucciones indicadas en el apartado "Almacenamiento y manipulación de los reactivos" (página 8)
- Compruebe las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta del kit) de los reactivos y utilice un kit nuevo en caso necesario.
- e) El kit *artus* HCV QS-RGQ ha caducado
- Compruebe las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta del kit) de los reactivos y utilice un kit nuevo en caso necesario.

Señales con los controles negativos en el canal de fluorescencia Cycling Green de la PCR analítica

- a) Se produjo contaminación durante la preparación de la PCR
- Repita la PCR con nuevos reactivos en duplicados.
- Si es posible, cierre los tubos de PCR inmediatamente después de añadir la muestra que se desea analizar.
- Asegúrese de descontaminar el espacio de trabajo y los instrumentos a intervalos regulares.

Comentarios y sugerencias

- | | |
|---|---|
| b) Se produjo contaminación durante la extracción | Repita la extracción y la PCR de la muestra que se desea analizar utilizando nuevos reactivos.

Asegúrese de descontaminar el espacio de trabajo y los instrumentos a intervalos regulares. |
|---|---|

Control de calidad

En cumplimiento del sistema de gestión de calidad con certificación ISO de QIAGEN, cada lote del kit *artus* HCV QS-RGQ se analiza en relación con las especificaciones predeterminadas para garantizar la uniformidad de la calidad de los productos.

Limitaciones

Todos los reactivos pueden utilizarse exclusivamente para diagnóstico *in vitro*.

Este producto debe ser utilizado exclusivamente por personal con formación y preparación específicas en los procedimientos de diagnóstico *in vitro*.

Para obtener resultados óptimos con la PCR es necesario un cumplimiento estricto del manual del usuario.

Debe prestarse atención a las fechas de caducidad impresas en la caja y en las etiquetas de todos los componentes. No utilice componentes caducados.

Aunque poco frecuentes, las mutaciones en el interior de las regiones altamente conservadas del genoma viral cubiertas por los *primers* y/o por la sonda del kit pueden producir en estos casos una subcuantificación o un fallo de la detección de la presencia del virus. La validez y el rendimiento del diseño del ensayo se revisan a intervalos regulares.

Características del rendimiento

Consulte www.qiagen.com/products/artushcvgpckitce.aspx para ver las características de rendimiento del kit *artus* HCV QS-RGQ.

Referencias citadas

1. Mauss, S., Berg, T., Rockstroh, J., Sarrazin, C., and Wedemeyer, H., eds. (2012) *The Flying Publisher Short Guide to Hepatitis C*. 2012 ed. No location: Flying Publisher.
2. Mauss, S., Berg, T., Rockstroh, J., Sarrazin, C., and Wedemeyer, H., eds. (2012) *Hepatitis: A Clinical Textbook*. 2012 ed. No location: Flying Publisher.
3. Munir, S. et al. (2010) Hepatitis C treatment: current and future perspectives. *Virology* **7**, 296.
4. Harrington, P.R., Zeng, W., and Naeger, L.K. (2012) Clinical relevance of detectable but not quantifiable hepatitis C virus RNA during boceprevir or telaprevir treatment. *Hepatology* **55**, 1048.

Símbolos



<N>

Contiene reactivos suficientes para <N> reacciones



Fecha de caducidad



Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*



Número de referencia



Número de lote



Número de material



Componentes



Contiene



Número



Número mundial de artículo comercial (*Global Trade Item Number*)



Limitación de temperatura



Fabricante



Consultar instrucciones de uso



Precaución

Información de contacto

Para recibir asistencia técnica y solicitar más información, consulte nuestro Centro de asistencia técnica en www.qiagen.com/Support, llame al 00800-22-44-6000 o póngase en contacto con uno de los departamentos de servicio técnico de QIAGEN o distribuidores locales (consulte la contracubierta o visite www.qiagen.com).

Información para pedidos

Producto	Contenido	N.º ref.
<i>artus</i> HCV QS-RGQ Kit (24)	Para 24 reacciones: 2 mezclas maestras, 4 estándares de cuantificación, control interno y agua (de calidad para PCR)	4518363
<i>artus</i> HCV QS-RGQ Kit (72)	Para 72 reacciones: 2 mezclas maestras, 4 estándares de cuantificación, control interno y agua (de calidad para PCR)	4518366
Sistema QIASymphony RGQ		
QIASymphony RGQ, System	QIASymphony SP, QIASymphony AS, Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM, accesorios y consumibles necesarios, instalación y formación	9001850

Para obtener información actualizada sobre la licencia y las exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual o la guía del usuario del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales y las guías del usuario de los kits de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse al servicio técnico de QIAGEN o al distribuidor local.

La compra de este producto permite al comprador utilizarlo para la realización de servicios de diagnóstico *in vitro* en seres humanos. Por la presente no se otorga ninguna patente general ni otra licencia de ningún tipo, distinta de este derecho específico de uso derivado de la compra.

Marcas comerciales: QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (Grupo QIAGEN).

El kit *artus* HCV QSRGQ es un kit de diagnóstico con el marcado CE conforme a la Directiva Europea 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*. No disponible en todos los países.

Acuerdo de licencia limitada para el kit *artus* HCV QS-RGQ

La utilización de este producto implica por parte de cualquier comprador o usuario del producto la aceptación de los siguientes términos:

1. El producto puede utilizarse únicamente conforme a los protocolos suministrados con el producto y a este manual y para su uso exclusivo con los componentes incluidos en el kit. QIAGEN no ofrece licencia alguna bajo ninguna de sus propiedades intelectuales para incorporar o utilizar los componentes contenidos en este kit con componentes no incluidos en el mismo, excepto según se describe en los protocolos proporcionados con el producto, en este manual y en los protocolos adicionales disponibles en www.qiagen.com. Algunos de estos protocolos adicionales han sido suministrados por usuarios de QIAGEN para usuarios de QIAGEN. Estos protocolos no han sido rigurosamente comprobados ni optimizados por QIAGEN. QIAGEN ni los garantiza ni ofrece garantías de que no infrinjan los derechos de terceros.
2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, QIAGEN no garantiza que este kit ni su(s) uso(s) no infrinjan los derechos de terceros.
3. Este kit y sus componentes tienen licencia para un solo uso y no pueden ser reutilizados, reacondicionados ni revendidos.
4. QIAGEN renuncia específicamente a cualquier otra licencia, explícita o implícita, distinta de las licencias expresamente especificadas.
5. El comprador y el usuario del kit aceptan no realizar ni permitir a otros realizar ningún paso que pueda conducir a acciones que hayan sido prohibidas en las especificaciones anteriores o que pueda facilitarlas. QIAGEN se reserva el derecho de emprender acciones legales ante cualquier tribunal para el cumplimiento de las prohibiciones especificadas en este Acuerdo de licencia limitada y recuperará todos los gastos derivados de la investigación y de los costes del juicio, incluidos los honorarios de abogacía, en cualquier acción emprendida para hacer cumplir este Acuerdo de licencia limitada o cualquier otro derecho de propiedad intelectual en relación con este kit y con sus componentes.

Para obtener los términos actualizados de la licencia, visite www.qiagen.com.

© 2010-2014 QIAGEN, reservados todos los derechos.

www.qiagen.com

Australia ▪ techservice-au@qiagen.com

Austria ▪ techservice-at@qiagen.com

Belgium ▪ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ▪ suportetecnico.brasil@qiagen.com

Canada ▪ techservice-ca@qiagen.com

China ▪ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ▪ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ▪ techservice-nordic@qiagen.com

France ▪ techservice-fr@qiagen.com

Germany ▪ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ▪ techservice-hk@qiagen.com

India ▪ techservice-india@qiagen.com

Ireland ▪ techservice-uk@qiagen.com

Italy ▪ techservice-it@qiagen.com

Japan ▪ techservice-jp@qiagen.com

Korea (South) ▪ techservice-kr@qiagen.com

Luxembourg ▪ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ▪ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ▪ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ▪ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ▪ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ▪ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ▪ techservice-ch@qiagen.com

UK ▪ techservice-uk@qiagen.com

USA ▪ techservice-us@qiagen.com

