

# Hoja de aplicación del QIASymphony® RGQ

## Aplicación para QIASymphony RGQ artus® BK Virus QS-RGQ Kit (tipo de muestra: orina, 400 µl)



Compruebe la disponibilidad de nuevas versiones de la documentación electrónica en [www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqcrkit.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqcrkit.aspx) antes de realizar la prueba. El estado de revisión actual viene indicado por la fecha de publicación (formato: mes/año).

### Información general

Kit	artus BK Virus QS-RGQ Kit, versión 1, <b>REF</b> 4514363
Materiales de muestra validados	Orina
Purificación inicial	Kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi (ref. 937055)
Volumen de muestra (incluido el volumen sobrante)	500 µl
Conjunto de parámetros del ensayo	artus_BKV_urine400_V4
Conjunto de controles del ensayo predeterminado	Complex400_V4_DSP_artus_BKV
Volumen de elución	60 µl
Versión del software requerida	Versión 4.0 o superior
Volumen de mezcla maestra	10 µl
Volumen de molde	15 µl
Número de reacciones	6–24*
Tiempo de procesamiento en el módulo AS	Para 6 reacciones: aproximadamente 8 minutos Para 72 reacciones: aproximadamente 35 minutos

\* Para la preparación de ensayos para el VBK puede prepararse un máximo de 216 (9 x 24) ensayos en una sola serie analítica en el instrumento QIASymphony AS.



## Materiales necesarios pero no suministrados

Kit de purificación	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (ref. 937055)
Adaptadores para el instrumento QIASymphony SP	■	Gradilla para microtubos de elución QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, ref. 9020730)
	■	Inserto para tubos 3B (Insert, 2,0 ml v2, samplecarr. (24), Qsym, ref. 9242083)
Consumibles para el instrumento QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (cartuchos de preparación de muestras, 8 pocillos) (ref. 997002).
	■	8-Rod Covers (cubiertas para 8 barras) (ref. 997004).
	■	Filter-Tips, 1500 $\mu$ l (puntas con filtro, 1.500 $\mu$ l) (ref. 997024)
	■	Filter-Tips, 200 $\mu$ l (puntas con filtro, 200 $\mu$ l) (ref. 990332)
	■	Elution Microtubes CL (microtubos de elución CL) (ref. 19588)
	■	Tip disposal bags (bolsas para la eliminación de puntas) (ref. 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type H (microtubos de 2,0 ml de tipo H) o Micro tubes 2.0 ml Type I (microtubos de 2,0 ml de tipo I) (Sarstedt, ref. 72.693 y 72.694, <a href="http://www.sarstedt.com">www.sarstedt.com</a> ) para uso con muestras y controles internos
Adaptadores y soportes para reactivos para el instrumento QIASymphony AS	■	Soporte para reactivos 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, ref. 9018090)
	■	Soporte para reactivos 2 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 2, Qsym, ref. 9018089)
	■	Tubos en tira RG 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, ref. 9018092)
Consumibles para el instrumento QIASymphony AS	■	Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (tubos en tira y tapones, 0,1 ml) (ref. 981103)
	■	Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (tubos cónicos, 2 ml, Qsym AS) (ref. 997102)* o Micro tubes 2.0 ml Type I (microtubos de 2,0 ml de tipo I) (Sarstedt, ref. 72.694.005)
	■	Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (tubos cónicos, 5 ml, Qsym AS) (ref. 997104)* o Tubes with flat base from PP (tubos de fondo plano de PP) (Sarstedt, ref. 60.558.001)
	■	Reagent Bottles, 30 ml, Qsym AS (frascos de reactivos, 30 ml, Qsym AS) (ref. 997108)
	■	Elution Microtubes CL (microtubos de elución CL) (ref. 19588)
	■	Filter-Tips, 1500 $\mu$ l (puntas con filtro) (ref. 997024)
	■	Filter-Tips, 200 $\mu$ l (puntas con filtro) (ref. 990332)
	■	Filter-Tips, 50 $\mu$ l (puntas con filtro) (ref. 997120)
	■	Tip disposal bags (bolsas para la eliminación de puntas) (ref. 9013395)
	■	Buffer ATL, GPR (tampón ATL, GPR) (ref. 939016)
Para la preparación de muestras (orina)	■	

\* Consulte la disponibilidad.

---

## Manipulación y almacenamiento de las muestras

Recogida de las Orina humana muestras

Transporte de las Transporte en recipiente irrompible.

Envío en un plazo de 6 horas.

Envío por correo conforme a la normativa legal para el transporte de materiales patógenos\*.

Preparación de las Evite la formación de espuma en el interior o en la superficie de las muestras.

Las muestras deben equilibrarse a temperatura ambiente (15–25 °C) antes de comenzar la serie analítica.

\* International Air Transport Association (IATA, Asociación internacional para el transporte aéreo). Dangerous Goods Regulations (Reglamentación sobre mercancías peligrosas).

---

## Procedimiento

### Preparación del ARN transportador y adición del control interno a las muestras

El uso de kits QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi en combinación con el kit *artus* BK Virus QS-RGQ requiere la introducción del control interno (BK Virus RG IC) en el procedimiento de purificación para vigilar la eficiencia de la preparación de las muestras y del ensayo posterior.

Es preciso añadir controles internos con la mezcla ARN transportador (CARRIER) – tampón AVE (AVE), y el volumen total de la mezcla control interno – ARN transportador (CARRIER) – tampón AVE (AVE) sigue siendo de 120  $\mu$ l.

La tabla representa la adición del control interno para el aislamiento con una relación de 0,1  $\mu$ l por 1  $\mu$ l del volumen de elución. Recomendamos preparar mezclas frescas para cada serie analítica justo antes del uso.

Componente	Volumen ( $\mu$ l) (tubos Sarstedt®)*	Volumen ( $\mu$ l) (tubos BD™)†
ARN transportador (CARRIER) de partida	3	3
Control interno‡	9	9
Tampón AVE	108	108
<b>Volumen final por muestra (excluido el volumen muerto)</b>	<b>120</b>	<b>120</b>
<b>Volumen total para n muestras</b>	<b>(n x 120) + 360§</b>	<b>(n x 120) + 600¶</b>

\* Microtubos de 2,0 ml de tipo H o microtubos de 2,0 ml de tipo I (Sarstedt, ref. 72.693 y 72.694).

† Tubos de poliestireno de fondo redondeado de 14 ml, 17 x 100 mm (Becton Dickinson, ref. 352051).

‡ El cálculo de la cantidad de control interno se basa en los volúmenes de elución iniciales (90  $\mu$ l). El volumen vacío adicional depende del tipo de tubo de muestras usado.

§ Se requiere la mezcla del control interno correspondiente a 3 muestras adicionales (es decir, 360  $\mu$ l). No debe superarse un volumen total de llenado de 1,92 ml (que corresponde a un máximo de 13 muestras). Estos volúmenes son específicos para microtubos de 2,0 ml de tipo H y microtubos de 2,0 ml de tipo I (Sarstedt, ref. 72.693 y 72.694).

¶ Se requiere la mezcla del control interno correspondiente a 5 muestras adicionales (es decir, 600  $\mu$ l). No debe superarse un volumen total de llenado de 13,92 ml (que corresponde a un máximo de 111 muestras). Estos volúmenes son específicos para los tubos de poliestireno de fondo redondeado de 14 ml, 17 x 100 mm (Becton Dickinson, ref. 352051).

## Configuración del instrumento QIASymphony SP

### Cajón "Waste" (Desechos)

<b>Soporte de caja unitaria 1–4</b>	Cajas unitarias vacías
<b>Soporte de la bolsa de desechos</b>	Bolsa de desechos
<b>Soporte para frasco de desechos líquidos</b>	Vacíe e instale el frasco de desechos líquidos

---

## Cajón "Eluate" (Eluidos)

<b>Gradilla de elución</b>	Utilice la ranura 1, posición de refrigeración
<b>Volumen de elución*</b>	Volumen de elución preseleccionado: 60 $\mu$ l Volumen de elución inicial: 90 $\mu$ l

\* El volumen de elución está preseleccionado para el protocolo. Se trata del volumen accesible mínimo de eluido presente en el tubo de elución final. El volumen inicial de la solución de elución es necesario para garantizar que el volumen real de eluido sea el mismo que el volumen preseleccionado.

## Cajón "Reagents and Consumables" (Reactivos y consumibles)

<b>Posición A1 y/o A2</b>	Cargue 1 cartucho de reactivos (RC) para un máximo de 48 muestras o 2 cartuchos de reactivos (RC) nuevos para un máximo de 96 muestras
<b>Posición B1</b>	Tampón ATL (ATL)
<b>Soporte de gradillas de puntas, posiciones 1–17</b>	Cargue suficientes gradillas de puntas con filtro desechables de 200 $\mu$ l y 1.500 $\mu$ l (consulte el apartado "Material de plástico necesario para 1–4 lotes de muestras" en la página 7)
<b>Soporte de caja unitaria, posiciones 1–4</b>	Cargue cajas unitarias que contienen cartuchos de preparación de muestras o cubiertas para 8 barras (consulte el apartado "Material de plástico necesario para 1–4 lotes de muestras" en la página 7)

## Cajón "Sample" (Muestras)

<b>Tipo de muestra</b>	Orina
<b>Volumen de muestra (incluido el volumen sobrante)</b>	500 $\mu$ l
<b>Tubos de muestras</b>	Microtubos de 2,0 ml de tipo H o microtubos de 2,0 ml de tipo I (Sarstedt, ref. 72.693 y 72.694)
<b>Inserto</b>	Inserto para tubos 3B (ref. 9242083)

## Material de plástico necesario para 1–4 lotes de muestras

	<b>Un lote, 24 muestras*</b>	<b>Dos lotes, 48 muestras*</b>	<b>Tres lotes, 72 muestras*</b>	<b>Cuatro lotes, 96 muestras*</b>
<b>Puntas con filtro desechables, 200 <math>\mu</math>l<sup>††</sup></b>	34	60	86	112
<b>Puntas con filtro desechables, 1.500 <math>\mu</math>l<sup>††</sup></b>	123	205	295	385
<b>Cartuchos de preparación de muestras<sup>‡</sup></b>	18	36	54	72
<b>Cubiertas para 8 barras<sup>§</sup></b>	3	6	9	12

\* El uso de más de un tubo de control interno por lote y la realización de más de un examen de inventario requieren puntas con filtro desechables adicionales.

† Hay 32 puntas con filtro por gradilla de puntas.

‡ El número de puntas con filtro necesarias incluye las puntas con filtro para 1 examen de inventario por cartucho de reactivos.

§ Hay 28 cartuchos de preparación de muestras por caja unitaria.

¶ Hay doce cubiertas para 8 barras por caja unitaria.

# Configuración del instrumento QIASymphony AS

## Consumibles

Durante la configuración, las posiciones adecuadas de cada consumible en el módulo QIASymphony AS aparecen indicadas en la pantalla táctil del instrumento.

Consumibles	Nombre que aparece en la pantalla táctil	Para uso con adaptador/soporte para reactivos
Tubos en tira y tapones, 0.1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	Tubos en tira RG 72 QS
Tubos cónicos, 2 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt‡	Soporte para reactivos 1 QS Soporte para reactivos 2 QS
Tubos cónicos, 5 ml, Qsym AS (500)*†	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt‡	Soporte para reactivos 1 QS Soporte para reactivos 2 QS
Fascos de reactivos, 30 ml, QSym AS (50)*	QIA#997108 *Bottle 30ml‡	Soporte para reactivos 2 QS
Microtubos de elución CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Gradilla para microtubos de elución QS

\* Para los componentes de la mezcla maestra, la mezcla maestra preparada por el sistema, los estándares del ensayo y los controles del ensayo.

† También pueden utilizarse los tubos Sarstedt descritos en el apartado "Manipulación y almacenamiento de las muestras" en la página 2.

‡ El sufijo "(m)" que aparece en la pantalla táctil indica que los cálculos del nivel de líquido del tubo en cuestión se han optimizado para reactivos que forman un menisco cóncavo.

## Adaptadores y soportes para reactivos

Gradilla/soporte para reactivos	Nombre	Número necesario <sup>§</sup>
Gradilla de muestras	Gradilla para microtubos de elución QS	1
Soportes para reactivos	Soporte para reactivos 1 QS	1
Gradillas del ensayo	Tubos en tira RG 72 QS	1

<sup>§</sup> Calculado para una serie analítica de ensayo con 72 reacciones.

---

## Puntas con filtro

Cargue las gradillas de puntas comenzando por las ranuras de puntas 1, 2 y 3 en el cajón "Eluate and Reagents" (Eluidos y reactivos) y, a continuación, cargue las gradillas de puntas en las ranuras de puntas 7, 8 y 9 en el cajón "Assays" (Ensayos).

Consumible	Nombre que aparece en la pantalla táctil	Número mínimo para 24 reacciones	Número mínimo para 72 reacciones
Puntas con filtro, 1.500 $\mu$ l (1.024)	1500 $\mu$ l	3	4
Puntas con filtro, 200 $\mu$ l (1.024)	200 $\mu$ l	5	5
Puntas con filtro, 50 $\mu$ l (1.024)	50 $\mu$ l	25	73
Bolsas para eliminación de puntas	–	1	1

---

## RT-PCR en el instrumento Rotor-Gene Q

Consulte la hoja de protocolo específica del software "Settings to run *artus* QS-RGQ Kits" (Valores de configuración para procesar kits *artus* QS-RGQ) en [www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx).

### Valores de configuración específicos para el kit *artus* BK Virus QS-RGQ

Rotor-Gene AssayManager configura automáticamente los parámetros para el kit *artus* BK Virus QS-RGQ.

Los valores de configuración específicos con el software 2.1 del Rotor-Gene se muestran a continuación.

<b>Volumen de la reacción (<math>\mu</math>l)</b>	50
<b>Choque térmico ("hold")</b>	Temperatura de choque térmico: 95 ° Tiempo de choque térmico: 10 min
<b>Ciclado</b>	45 ciclos 95 ° durante 15 s 65 ° durante 30 s 72 ° durante 20 s  Asegúrese de activar la función "touchdown" (temperatura decreciente) durante 10 ciclos en el paso de hibridación.
<b>Configuración de la optimización de ganancia automática</b>	65 ° (Muestras: Green [verde]; IC: Orange [naranja])

## Interpretación de los resultados

En esta sección se describe la interpretación de los resultados obtenidos en el Rotor-Gene Q. Revise asimismo la información sobre el estado de las muestras en los archivos de resultados de los instrumentos QIASymphony SP/AS para el análisis del flujo de trabajo completo desde la muestra hasta el resultado. Únicamente deben utilizarse muestras con un estado válido.

Rotor-Gene AssayManager interpreta automáticamente los resultados de la PCR y proporciona una conclusión y un resultado cuantitativo.

En los siguientes apartados se describe la interpretación de los resultados con el software Rotor-Gene, versión 2.1 o superior.

## Detección de la señal y conclusiones: orina, 400 µl

Señal en el canal Cycling Green	Señal en el canal Cycling Orange	Resultado cuantitativo (copias/ml)	Interpretación
Sí	Sí	< 81,8	Resultado válido: Se ha detectado ADN del VBK, < 250 copias/ml. No es posible la cuantificación dado que el resultado cuantitativo se encuentra por debajo del límite de detección. La reproducibilidad del resultado positivo no está asegurada.
Sí	Sí	≥ 81,8 y < 250	Resultado válido: Se ha detectado ADN del VBK, < 250 copias/ml. No es posible la cuantificación dado que el resultado cuantitativo se encuentra por debajo del intervalo lineal del ensayo.
Sí	Sí	≥ 250 y ≤ 1 x 10 <sup>9</sup>	Resultado válido: Se ha detectado ADN del VBK en la concentración calculada. El resultado cuantitativo se encuentra dentro del intervalo lineal del ensayo.
Sí	Sí	> 1 x 10 <sup>9</sup>	Resultado válido: Se ha detectado ADN del VBK, > 1 x 10 <sup>9</sup> copias/ml. No es posible la cuantificación dado que el resultado cuantitativo se encuentra por encima del intervalo lineal del ensayo*.
No	Sí	–	Resultado válido: No hay ADN del VBK detectable†.
No	No	–	Resultado no válido: No puede obtenerse un resultado‡.

\* Si se desea una cuantificación, diluya la muestra con orina sin VBK y repita el procesamiento. Multiplique el resultado cuantitativo de la muestra reprocessada por el factor de dilución.

† Si el valor de C<sub>T</sub> para el control interno de una muestra negativa es más de 3 ciclos mayor que el valor de C<sub>T</sub> para el control interno del control sin molde (NTC) de la serie analítica (C<sub>TIC Muestra</sub> – C<sub>TIC NTC</sub> > 3), la muestra deberá tratarse como no válida. No puede obtenerse un resultado.

‡ Puede encontrar información sobre las fuentes de errores y su solución en el apartado "Troubleshooting guide" (Guía para la resolución de problemas) del Manual del kit *artus BK Virus QS-RGQ* (*artus BK Virus QS-RGQ Kit Handbook*).

---

## Configuración del umbral para el análisis de PCR

La configuración óptima del umbral para una combinación dada de instrumento Rotor-Gene Q y kit *artus* QS-RGQ debe establecerse de manera empírica probando las distintas combinaciones, ya que se trata de un valor relativo que depende del flujo de trabajo diagnóstico global. Puede establecerse un valor preliminar de 0,04 para el análisis de la primera serie de PCR. Sin embargo, este valor deberá afinarse en un análisis comparativo de las siguientes series del flujo de trabajo. El umbral se debe ajustar manualmente, justo encima de la señal de fondo de los controles negativos y las muestras negativas. La media del valor umbral que se obtenga de estos experimentos es el que muy probablemente funcione para la mayoría de series analíticas que se vaya a realizar. No obstante, el usuario deberá revisar a intervalos periódicos el valor umbral generado. Por regla general, el valor umbral oscilará entre 0,03 y 0,05. Este deberá redondearse para no exceder los 3 decimales.

## Cuantificación

Los estándares de cuantificación (BK Virus RG QS 1–4) del kit *artus* BK Virus QS-RGQ se tratan como muestras previamente purificadas y se utiliza el mismo volumen (15 µl). Para generar una curva de estándares con los instrumentos Rotor-Gene Q, los 4 estándares de cuantificación deben utilizarse y definirse en el cuadro de diálogo "Edit Samples" (Editar muestras) del instrumento Rotor-Gene Q como estándares con las concentraciones especificadas (consulte el manual del usuario del instrumento).

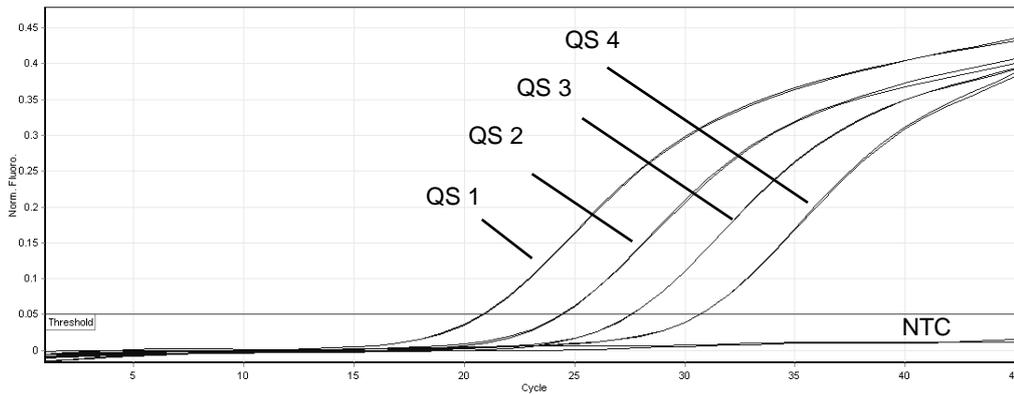
**Nota:** Los estándares de cuantificación se definen como copias/µl. Debe aplicarse la siguiente ecuación para convertir los valores determinados utilizando la curva de estándares en copias/ml de material de muestra:

$$\text{Resultado (copias/ml)} = \frac{\text{Resultado (copias/}\mu\text{l)} \times \text{Volumen de elución inicial (90 }\mu\text{l)}^*}{\text{Volumen de muestra (ml)}}$$

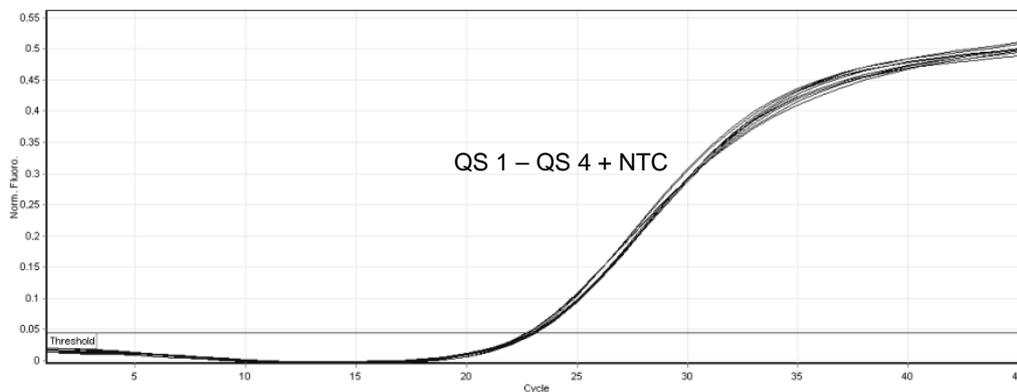
Como norma, el volumen de muestra inicial debe incluirse en la ecuación anterior. Esto debe tenerse en cuenta cuando se ha cambiado el volumen de muestra antes de la extracción de ácidos nucleicos (p. ej., reduciendo el volumen mediante centrifugación o aumentando el volumen mediante adición hasta el volumen necesario para el aislado).

\* El cálculo se basa en los volúmenes de elución iniciales (90 µl).

## Ejemplos de reacciones positivas y negativas de PCR



**Detección de los estándares de cuantificación (BK Virus RG QS 1–4) en el canal de fluorescencia Cycling Green. NTC:** control sin molde (control negativo).



**Detección del control interno (IC) en el canal de fluorescencia Cycling Orange con amplificación simultánea de los estándares de cuantificación (BK Virus RG QS 1–4). NTC:** control sin molde (control negativo).

---

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

Marcas comerciales: QIAGEN®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (Grupo QIAGEN); BD™ (Becton, Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.).

© 2012 QIAGEN, todos los derechos reservados.

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

**Canada** = 800-572-9613

**China** = 021-3865-3865

**Denmark** = 80-885945

**Finland** = 0800-914416

**France** = 01-60-920-930

**Germany** = 02103-29-12000

**Hong Kong** = 800 933 965

**Ireland** = 1800 555 049

**Italy** = 800-787980

**Japan** = 03-6890-7300

**Korea (South)** = 1544 7145

**Luxembourg** = 8002 2076

**Mexico** = 01-800-7742-639

**The Netherlands** = 0800 0229592

**Norway** = 800-18859

**Singapore** = 65-67775366

**Spain** = 91-630-7050

**Sweden** = 020-790282

**Switzerland** = 055-254-22-11

**UK** = 01293-422-911

**USA** = 800-426-8157

**Australia** = 1-800-243-800

**Austria** = 0800/281010

**Belgium** = 0800-79612

**Brazil** = 0800-557779



---

Sample & Assay Technologies