

Noviembre 2018

# Manual del *artus*<sup>®</sup> CMV TM PCR Kit



24 (n.º de referencia 4503163)

96 (n.º de referencia 4503165)

Diagnóstico *in vitro* cuantitativo

Para utilizar con los sistemas de detección de secuencias *ABI PRISM*<sup>®</sup> 7000, 7700 y 7900HT

Noviembre 2018— Versión 1



4503163, 4503165



1115297ES



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANY

R4

**MAT**

1115297ES

# Contenido

1.	Contenido .....	4
2.	Almacenamiento .....	5
3.	Materiales y dispositivos adicionales necesarios .....	5
4.	Precauciones generales .....	6
5.	Información sobre el patógeno.....	6
6.	Principio de la PCR en tiempo real .....	7
7.	Descripción del producto.....	7
8.	Protocolo .....	8
8.1	Antes del análisis: Recogida, almacenamiento y transporte de las muestras.....	8
8.2	Aislamiento de ADN .....	10
8.3	Control interno .....	11
8.4	Cuantificación .....	12
8.5	Preparación de la PCR .....	13
8.6	Programación del <i>ABI PRISM SDS</i> .....	19
9.	Análisis de los datos .....	37
10.	Resolución de problemas.....	42
11.	Especificaciones .....	45
11.1	Sensibilidad analítica .....	45
11.2	Especificidad.....	47
11.3	Precisión .....	49
11.4	Robustez.....	51
11.5	Reproducibilidad .....	51

---

11.6	Evaluación diagnóstica.....	51
12.	Limitaciones del uso del producto .....	53
13.	Información de seguridad.....	53
14.	Control de calidad .....	54
15.	Referencias.....	54
16.	Explicación de los símbolos .....	55
17.	Información para pedidos .....	56

## artus CMV TM PCR Kit

Para utilizar con los sistemas de detección de secuencias *ABI PRISM 7000*, *7700* y *7900HT* para la detección cuantitativa del ADN del CMV en plasma con EDTA.

Atención: El *artus CMV TM PCR Kit* no se puede utilizar con el *GeneAmp® 5700 SDS* ni con el formato de placa de 384 pocillos del instrumento *ABI PRISM 7900HT SDS*.

# 1. Contenido

Etiquetado y contenido		Ref. 4503163	Ref. 4503165
		24 reacciones	96 reacciones
Azul	<i>CMV TM Master</i>	2 x 12 reacciones	8 x 12 reacciones
Amarillo	<i>CMV LC/RG/TM Mg-Sol<sup>a</sup></i>	1 x 600 µl	1 x 600 µl
Rojo	<i>CMV LC/RG/TM QS 1<sup>a</sup></i> <i>1 x 10<sup>4</sup> copias/µl</i>	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Rojo	<i>CMV LC/RG/TM QS 2<sup>a</sup></i> <i>1 x 10<sup>3</sup> copias/µl</i>	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Rojo	<i>CMV LC/RG/TM QS 3<sup>a</sup></i> <i>1 x 10<sup>2</sup> copias/µl</i>	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Rojo	<i>CMV LC/RG/TM QS 4<sup>a</sup></i> <i>1 x 10<sup>1</sup> copias/µl</i>	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Verde	<i>CMV TM IC<sup>b</sup></i>	1 x 1.000 µl	2 x 1.000 µl
Blanco	<i>Agua (de calidad para PCR)</i>	1 x 1.000 µl	1 x 1.000 µl

QS = Estándar de cuantificación

IC = Control interno

Mg-Sol = Solución de magnesio

## 2. Almacenamiento

Los componentes del *artus* CMV TM PCR Kit deben almacenarse a una temperatura de  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$  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 la sensibilidad. Si se piensa utilizar los reactivos de forma intermitente, deberán congelarse en fracciones alícuotas. La conservación a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  no debe superar un período de cinco horas.

## 3. Materiales y dispositivos adicionales necesarios

- Guantes de laboratorio sin talco desechables
- Kit de aislamiento de ADN (consulte el apartado 8.2 Aislamiento de ADN)
- Pipetas (ajustables)
- Puntas de pipeta estériles con filtros
- Agitadora vorticial
- Centrifugadora de mesa con rotor para tubos de reacción de 2 ml
- Centrifugadora con rotor para microplacas (opcional)
- Placa de reacción de 96 pocillos/tubos de reacción para medición óptica con los materiales de cierre ópticos apropiados\* (consulte el apartado 8.5 Preparación de la PCR)
- Gradilla de retención de dos piezas de 96 pocillos para uso con tubos de reacción ópticos (*96Well Tray/Retainer Set*, n.º de referencia 403 081, Applied Biosystems), consulte el apartado 8.5 Preparación de la PCR.
- Almohadilla de compresión para usar con láminas adhesivas ópticas (*Optical Cover Compression Pads*, n.º de referencia 4 312 639, Applied Biosystems), consulte el apartado 8.5 Preparación de la PCR.

\* El uso de tubos de reacción para análisis ópticos con tapas convexas solamente está permitido con el instrumento *ABI PRISM 7700 SDS* y requiere un ajuste del tiempo de exposición (consulte el apartado 8.6.2 Programación del *ABI PRISM 7700 SDS*, 8.6.2.5 Ajustes adicionales importantes).

- Aplicador para el cierre de las placas de reacción con láminas adhesivas ópticas (*Adhesive Seal Applicator Kit*, n.º de referencia 4 333 183, Applied Biosystems)
- *ABI PRISM 7000* (versión del software 1.0.1), *7700* (versión del software 1.9.1) o *7900HT SDS* (versión del software 2.1)

Atención: Al poner en funcionamiento los instrumentos es necesario realizar una calibración válida de los colorantes puros (*Pure Spectra Component File* [Archivo de componentes espectrales puros]) y de la señal de fondo (*Background Component File* [Archivo de componentes de fondo]).

## 4. Precauciones generales

El usuario debe proceder siempre de acuerdo a las siguientes recomendaciones:

- Utilice puntas de pipeta estériles con filtros.
- Almacene y extraiga los materiales positivos (muestras, controles y amplicones) por separado de todos los demás reactivos y añádalos a la mezcla de reacción en un área separada espacialmente.
- Descongele por completo todos los componentes a temperatura ambiente antes de comenzar un ensayo.
- Una vez descongelados los componentes, mézclelos y centrifúguelos brevemente.
- Trabaje rápidamente en hielo o en un bloque de refrigeración.

## 5. Información sobre el patógeno

El citomegalovirus (CMV) humano está presente en la sangre, los tejidos y en prácticamente todas las secreciones de las personas infectadas. La transmisión puede ser oral, sexual, por transfusiones sanguíneas o trasplantes de órganos, intrauterina o perinatal. La infección por CMV produce con frecuencia una infección asintomática seguida de una persistencia del virus de por vida en el cuerpo.

---

Si aparecen síntomas en adolescentes o en adultos, son parecidos a los de la mononucleosis e incluyen fiebre, hepatitis leve y malestar general. Se ha observado una evolución grave de la infección por CMV especialmente en el caso de infecciones intrauterinas y en pacientes inmunodeprimidos.

## 6. Principio de la PCR en tiempo real

El diagnóstico de patógenos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se basa en la amplificación de regiones específicas del genoma de los patógenos. Con la PCR en tiempo real, el producto amplificado se detecta mediante colorantes fluorescentes. Estos suelen estar ligados a sondas oligonucleotídicas que se unen específicamente al producto amplificado. La monitorización de las intensidades de fluorescencia durante la serie de PCR (es decir, en tiempo real) permite detectar y cuantificar el producto que se acumula sin tener que volver a abrir los tubos de reacción una vez finalizada la serie de PCR (Mackay, 2004).

## 7. Descripción del producto

El *artus* CMV TM PCR Kit es un sistema listo para usar para la detección de ADN del CMV mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en los instrumentos *sistemas de detección de secuencias ABI PRISM 7000, 7700 y 7900HT*. La *CMV TM Master* contiene reactivos y enzimas para la amplificación específica de una región de 105 pb del genoma del CMV. La detección del amplicón se realiza midiendo la **fluorescencia FAM™ en el instrumento ABI PRISM SDS**. Además, el *artus* CMV TM PCR Kit contiene un segundo sistema de amplificación heterógeno para identificar una posible inhibición de la PCR. Esto se detecta como *control interno (IC)* midiendo la fluorescencia VIC®/JOE™. El **límite de detección de la PCR** analítica del CMV (consulte el apartado 11.1 Sensibilidad analítica) no se ve disminuido. Se suministran controles positivos externos (*CMV LC/RG/TM QS 1-4*) que permiten determinar la carga patógena. Si desea obtener más información, consulte el apartado 8.4 Cuantificación.

*Atención: El perfil de temperatura para la detección del citomegalovirus por medio del artus CMV TM PCR Kit se corresponde con los perfiles del artus EBV TM PCR Kit y del artus HSV-*

---

1/2 TM PCR Kit. Por consiguiente, los ensayos de PCR de estos sistemas *artus* pueden realizarse y analizarse en una misma serie. Tenga en cuenta las recomendaciones sobre el análisis de PCR presentadas en los capítulos 8.4 Cuantificación y 9. Análisis de los datos.

## 8. Protocolo

### 8.1 Antes del análisis: Recogida, almacenamiento y transporte de las muestras

Precaución: Todas las muestras deben tratarse como material potencialmente infeccioso.

Atención: Diversos estudios actuales consideran el plasma con ácido etilendiaminotetracético (EDTA) y el plasma con citrato como los materiales de muestra más adecuados para la detección del CMV. Por consiguiente, recomendamos utilizar estos materiales con el *artus* CMV TM PCR Kit.

La validación del *artus* CMV TM PCR Kit se ha llevado a cabo utilizando muestras de plasma humano con EDTA. No se han validado otros materiales de muestra. Utilice exclusivamente los kits de aislamiento de ácidos nucleicos recomendados (consulte el apartado 8.2 Aislamiento de ADN) para la preparación de las muestras.

Cuando se utilizan ciertos materiales de muestra es preciso seguir estrictamente las instrucciones específicas relativas a la recogida, el transporte y el almacenamiento.

#### 8.1.1 Obtención de muestras

Cada extracción de sangre ocasiona una lesión de los vasos sanguíneos (arterias, venas y capilares). Solamente debe utilizarse material inocuo y estéril. Para la extracción de sangre se dispone de material desechable adecuado. Para la venopunción no deben utilizarse agujas capilares demasiado finas. La extracción de sangre venosa debe realizarse en las regiones adecuadas de la flexura del codo, el antebrazo o el dorso de la mano. La sangre debe extraerse con tubos de recogida de muestras estándar (tubo de tapón rojo de Sarstedt o tubo equivalente de otro fabricante). Debe extraerse un volumen de 5-10 ml de sangre con EDTA. Los tubos deben

---

mezclarse con un agitador de varilla inmediatamente después de la recogida de la muestra (8 veces, sin agitar).

Atención: No deben utilizarse muestras de pacientes tratados con heparina (consulte el apartado 8.1.4 Sustancias que pueden causar interferencias).

### 8.1.2 Almacenamiento de las muestras

La sangre completa debe separarse en plasma y componentes celulares mediante centrifugación durante 20 minutos a 800-1.600 x g en un plazo de 6 horas. El plasma aislado debe transferirse a tubos de polipropileno estériles. La sensibilidad del ensayo puede verse reducida si se congelan las muestras de forma sistemática o si se almacenan durante un período de tiempo mayor.

### 8.1.3 Transporte de las muestras

Como norma, el material de muestra debe transportarse en un recipiente de transporte inastillable. De esta manera puede evitarse el peligro potencial de infección a causa de una fuga de la muestra. Las muestras deben transportarse de acuerdo con las instrucciones locales y nacionales para el transporte de material patógeno.\*

Las muestras deben enviarse en el plazo de 6 horas. No se recomienda almacenar las muestras en el lugar de extracción. Es posible enviar por correo las muestras, siguiendo las instrucciones legales para el transporte de material patógeno. Recomendamos realizar el transporte de las muestras por mensajería. Las muestras de sangre deben enviarse refrigeradas (a una temperatura de 2 °C a 8 °C) y el plasma separado debe enviarse ultracongelado (−20 °C).

\* International Air Transport Association (IATA, Asociación internacional para el transporte aéreo). Dangerous Goods Regulations (Reglamentación sobre mercancías peligrosas), 41.ª edición, 2000.704.

### 8.1.4 Sustancias que pueden causar interferencias

Las concentraciones elevadas de bilirrubina ( $\leq 4,5$  mg/dl) y lípidos ( $\leq 1.100$  mg/dl) y las muestras hemolizadas no influyen en el sistema analítico del CMV. La heparina afecta a la PCR. No deben utilizarse muestras recogidas en tubos que contengan heparina como anticoagulante. Tampoco deben utilizarse muestras de pacientes tratados con heparina.

## 8.2 Aislamiento de ADN

Se recomienda utilizar el siguiente kit de aislamiento para aislar el ADN del CMV:

Material de muestra	Kit de aislamiento de ácidos nucleicos	Número de referencia	Fabricante	ARN transportador
Plasma conservado en EDTA	QIAamp® DSP Virus Kit (50)	60704	QIAGEN	incluido

- La utilización de ARN transportador es esencial para la eficiencia de la extracción y, por consiguiente, para el rendimiento en la obtención de ADN/ARN. Para mejorar la estabilidad del ARN transportador, que se suministra con el QIAamp DSP Virus Kit, siga las instrucciones para la manipulación y el almacenamiento del ARN transportador (consulte el apartado «Preparación de reactivos y tampones», en el manual del *QIAamp DSP Virus Kit*).
- El kit de aislamiento incluye tampones de lavado que contienen etanol. Asegúrese de realizar un paso de centrifugación adicional (3 minutos, 13 000 rpm) antes de la elución para eliminar los restos de etanol que pueda haber. Esto previene la posible inhibición de la PCR.

Importante: El *control interno* del *artus* CMV TM PCR Kit puede usarse directamente en el procedimiento de aislamiento. Asegúrese de incluir una muestra de plasma negativa en el procedimiento de aislamiento. La señal del *control interno* correspondiente constituye la base para la evaluación del aislamiento (consulte el apartado 8.3 Control interno).

## 8.3 Control interno

Se suministra un *control interno* (CMV TM IC). Esto permite al usuario controlar el procedimiento de aislamiento del ADN y comprobar una posible inhibición de la PCR (consulte la Fig. 1). Para esta aplicación, añada el *control interno* durante el aislamiento en una proporción de 0,1 µl por 1 µl de volumen de elución. Por ejemplo, si se usa el QIAamp DSP Virus Kit, el ADN se eluye en 60 µl de tampón AE. Por lo tanto, deben añadirse 6 µl del *control interno*. La cantidad de *control interno* utilizada depende únicamente del volumen de elución.

El *control interno* y el ARN transportador (consulte el apartado 8.2 Aislamiento de ADN) deben añadirse únicamente:

- a la mezcla de tampón de lisis y material de muestra o
- directamente al tampón de lisis.

El *control interno* no debe añadirse directamente al material de muestra. Si se añade al tampón de lisis, tenga en cuenta que la mezcla de *control interno* y tampón de lisis/ARN transportador debe prepararse en fresco y usarse inmediatamente (el almacenamiento de la mezcla a temperatura ambiente o en el frigorífico durante solamente unas horas puede causar el fallo del *control interno* y una reducción de la eficiencia de la extracción). No añada el *control interno* y el ARN transportador directamente al material de muestra.

Para considerar que la purificación ha tenido éxito, el valor de Ct del *control interno* de una muestra de plasma negativa que se ha procesado mediante purificación (QIAamp DSP Virus Kit) en los instrumentos *ABI PRISM 7000*, *7700* y *7900HT SDS* debe ser de Ct = 25,3 - 31,3 (*umbral en el ABI PRISM 7000*: 0,2; en el *ABI PRISM 7700* y en el *7900HT SDS*: 0,2). La dispersión indicada se debe a la varianza del instrumento y de la purificación. Una desviación mayor indica un problema en la purificación. En ese caso, la purificación debe comprobarse y, en caso necesario, validarse una segunda vez. Si tiene cualquier otra duda o si encuentra problemas, póngase en contacto con nuestro servicio técnico.

---

El *control interno* también puede utilizarse exclusivamente para comprobar una posible inhibición de la PCR (consulte la Fig. 2). Para esta aplicación, añada 2 µl del *control interno* y 5 µl de *CMV LC/RG/TM Mg-Sol* por reacción directamente a 25 µl de *CMV TM Master*. Utilice para cada reacción de PCR 30 µl de la mezcla maestra preparada tal como se ha descrito anteriormente\* y añada 20 µl de la muestra purificada. Si está preparando una serie de PCR para varias muestras, aumente el volumen de la *CMV TM Master*, de la *CMV LC/RG/TM Mg-Sol* y del *control interno* según el número de muestras (consulte el apartado 8.5 Preparación de la PCR).

## 8.4 Cuantificación

Los *estándares de cuantificación* (*CMV LC/RG/TM QS 1-4*) incluidos se tratan como muestras previamente purificadas y se utiliza el mismo volumen (20 µl). Para generar una curva de estándares en un *sistema de detección de secuencias ABI PRISM*, utilice los cuatro *estándares de cuantificación* y defínalos como estándares especificando las concentraciones correspondientes (consulte el apartado 8.6 Programación del *ABI PRISM SDS*). El software de los instrumentos *ABI PRISM 7000*, *7700* y *7900HT SDS* no permite importar curvas de estándares de series anteriores.

Si incluyó más de un sistema *artus* para virus del herpes en la serie de PCR, analice los diferentes sistemas con los *estándares de cuantificación* correspondientes por separado.

Atención: Para garantizar una cuantificación exacta se recomienda encarecidamente complementar la mezcla maestra utilizada para los *estándares de cuantificación* con la cantidad correspondiente del *control interno*. A tal fin, añada para cada *estándar de cuantificación* (*CMV LC/RG/TM QS 1-CMV LC/RG/TM QS 4*) 2 µl del *control interno* y 5 µl de *CMV LC/RG/TM Mg-Sol* directamente a 25 µl de *CMV TM Master* (en la Fig. 2 se presenta un resumen esquemático). Este esquema de pipeteo es aplicable en general para los *estándares de cuantificación* del CMV e independiente del número de *estándares de cuantificación* utilizados.

\* El aumento de volumen causado por la adición del *control interno* se ignora al preparar el ensayo de PCR. La sensibilidad del sistema de detección no se ve mermada.

Los *estándares de cuantificación* se definen como copias/ $\mu$ l. Se debe aplicar la siguiente ecuación para convertir los valores determinados utilizando la curva de estándares en copias/ml de material de muestra:

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

Tenga en cuenta que, como norma, debe introducirse en la ecuación anterior el volumen de muestra inicial. 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 reposición hasta el volumen necesario para el aislamiento).

Importante: Tiene a su disposición una guía para el análisis cuantitativo del sistema *artus* en el instrumento *ABI PRISM 7000 SDS* en [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## 8.5 Preparación de la PCR

Prepare el número necesario de tubos de reacción o una placa de reacción de 96 pocillos para las reacciones programadas. En la tabla siguiente se indican los materiales recomendados:

Artículo	Descripción	Número de referencia	Fabricante	Gradilla de retención	Almohadilla de compresión
Placa de reacción óptica de 96 pocillos	96 Well Optical Reaction Plate	4 306 737	Applied Biosystems	no	–
Láminas adhesivas ópticas	Optical Adhesive Covers	4 311 971	Applied Biosystems	–	sí
Tubos de reacción ópticos	ABI PRISM Optical Tubes, 8 Tubes/Strip	4 316 567	Applied Biosystems	sí	–
Tubos de reacción ópticos	MicroAmp® Optical Tubes	N8010933	Applied Biosystems	sí	–
Artículo	Descripción	Número de referencia	Fabricante	Gradilla de retención	Almohadilla de compresión
Placa de reacción óptica de 96 pocillos	96 Well Optical Reaction Plate	4 306 737	Applied Biosystems	no	–

Artículo	Descripción	Número de referencia	Fabricante	Gradilla de retención	Almohadilla de compresión
Láminas adhesivas ópticas	Optical Adhesive Covers	4 311 971	Applied Biosystems	–	sí
Tubos de reacción ópticos	ABI PRISM Optical Tubes, 8 Tubes/Strip	4 316 567	Applied Biosystems	sí	–

Atención: El uso de tubos de reacción para análisis ópticos con tapas convexas solamente está permitido con el instrumento *ABI PRISM 7700 SDS* y requiere un ajuste del tiempo de exposición (consulte el apartado 8.6.2 Programación del *ABI PRISM 7700 SDS*, 8.6.2.5 Ajustes adicionales importantes).

Al preparar la reacción de PCR, asegúrese de procesar al menos un *estándar de cuantificación* para cada serie de PCR, así como un control negativo (*agua de calidad para PCR*). Para generar una curva de estándares, utilice para cada serie de PCR todos los *estándares de cuantificación (CMV LC/RG/TM QS 1-4)* suministrados.

Atención: Para crear la curva de estándares es muy recomendable complementar la mezcla maestra utilizada para los *estándares de cuantificación* con la cantidad correspondiente del *control interno* (consulte el apartado 8.4 Cuantificación). 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 brevemente.

Si desea utilizar el *Control interno* para controlar el procedimiento de aislamiento de ADN y comprobar una posible inhibición de la PCR, ya se ha añadido en el proceso de aislamiento (consulte el apartado 8.3 Control interno). En ese caso, utilice el siguiente esquema de pipeteo (puede ver un resumen esquemático en la Fig. 1):

	Número de muestras	1	12
1. Preparación de la mezcla maestra	<i>CMV TM Master</i>	25 µl	300 µl
	<i>CMV LC/RG/TM Mg-Sol</i>	5 µl	60 µl
	<i>CMV TM IC</i>	0 µl	0 µl
	Volumen total	30 µl	360 µl
2. Preparación del ensayo de PCR	Mezcla maestra	30 µl	30 µl (cada una)
	Muestra	20 µl	20 µl (cada una)
	Volumen total	50 µl	50 µl (cada una)

Si desea usar el *control interno* exclusivamente para comprobar una posible inhibición de la PCR, debe añadirlo directamente a la *mezcla maestra CMV TM Master*. En ese caso, utilice el siguiente esquema de pipeteo (puede ver un resumen esquemático en la Fig. 2):

	Número de muestras	1	12
1. Preparación de la mezcla maestra	<i>CMV TM Master</i>	25 µl	300 µl
	<i>CMV LC/RG/TM Mg-Sol</i>	5 µl	60 µl
	<i>CMV TM IC</i>	2 µl	24 µl
	Volumen total	32 µl*	384 µl
2. Preparación del ensayo de PCR	Mezcla maestra	30 µl	30 µl (cada una)
	Muestra/ <i>CMV LC/RG/TM QS 1-4</i>	20 µl	20 µl (cada una)
	Volumen total	50 µl	50 µl (cada una)

\* El aumento de volumen causado por la adición del *control interno* se ignora al preparar el ensayo de PCR. La sensibilidad del sistema de detección no se ve mermada.

---

Pipetee 30 µl de la mezcla maestra en cada tubo de reacción necesario o en cada pocillo de la placa de reacción de 96 pocillos. A continuación, añada 20 µl del eluido del aislamiento del ADN. Mezcle bien la solución mediante pipeteo ascendente y descendente repetido. Cierre los tubos de reacción con las tapas apropiadas o, de forma alternativa, si utiliza una placa de reacción de 96 pocillos, con láminas adhesivas ópticas (*Adhesivo óptico*). Para recoger el volumen de reacción preparado en el fondo del tubo de reacción o en el fondo de los pocillos de la placa de reacción, centrifugue los tubos (en una gradilla de almacenamiento para tubos de PCR) o la placa de reacción de 96 pocillos en una centrifugadora con rotor para microplacas durante 30 segundos a 1780 x g (4000 rpm). Si no dispone de una centrifugadora de este tipo, asegúrese de pipetear tanto la mezcla maestra como el volumen de la muestra en el fondo de los tubos o de los pocillos. Almacene las reacciones preparadas a +4 °C hasta que se programe el instrumento *ABI PRISM SDS* (consulte el apartado 8.6 Programación del *ABI PRISM SDS*) y, a continuación, transfíralas al instrumento.

Atención: Si utiliza tubos de reacción ópticos en combinación con tapas ópticas, introduzca siempre una gradilla de retención (*96 Well Tray/Retainer Set*) en el instrumento (*ABI PRISM 7000, 7700 y 7900HT SDS*). Si se utiliza la gradilla de retención de dos piezas, es necesario abrir los tubos de reacción al introducirlos en la gradilla y al extraerlos de ella. Para evitar que se produzca una contaminación con este procedimiento, utilice exclusivamente la parte inferior de la gradilla de retención.

El uso de placas de reacción ópticas de 96 pocillos en combinación con láminas adhesivas ópticas requiere el uso de una almohadilla de compresión (*Optical Cover Compression Pads*).

Adición del *control interno* al procedimiento de purificación

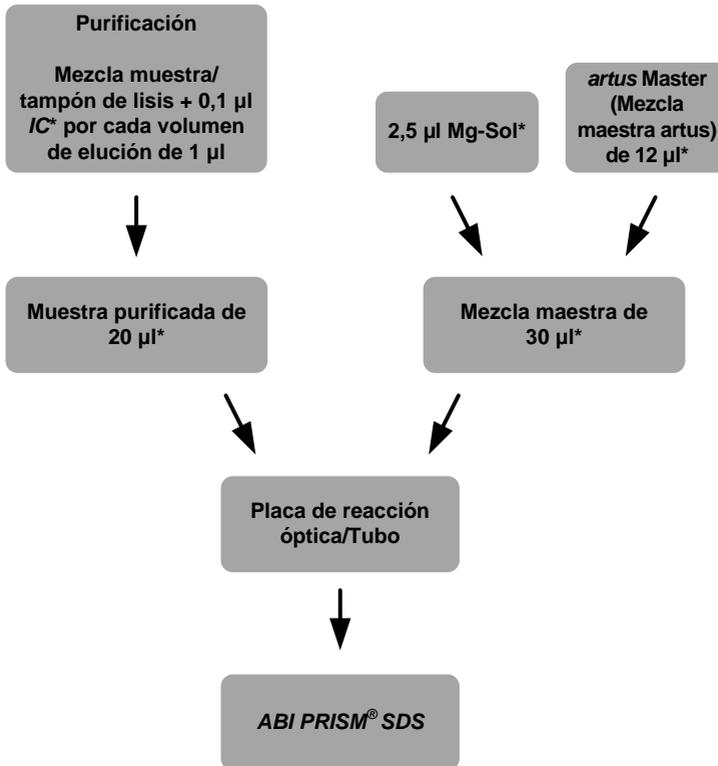


Fig. 1: Esquema del flujo de trabajo para el control del procedimiento de purificación y de la inhibición de la PCR.

\*Asegúrese de que las soluciones estén completamente descongeladas y bien mezcladas y de que hayan sido centrifugadas brevemente.

Adición del *control interno* a la mezcla maestra *artus*

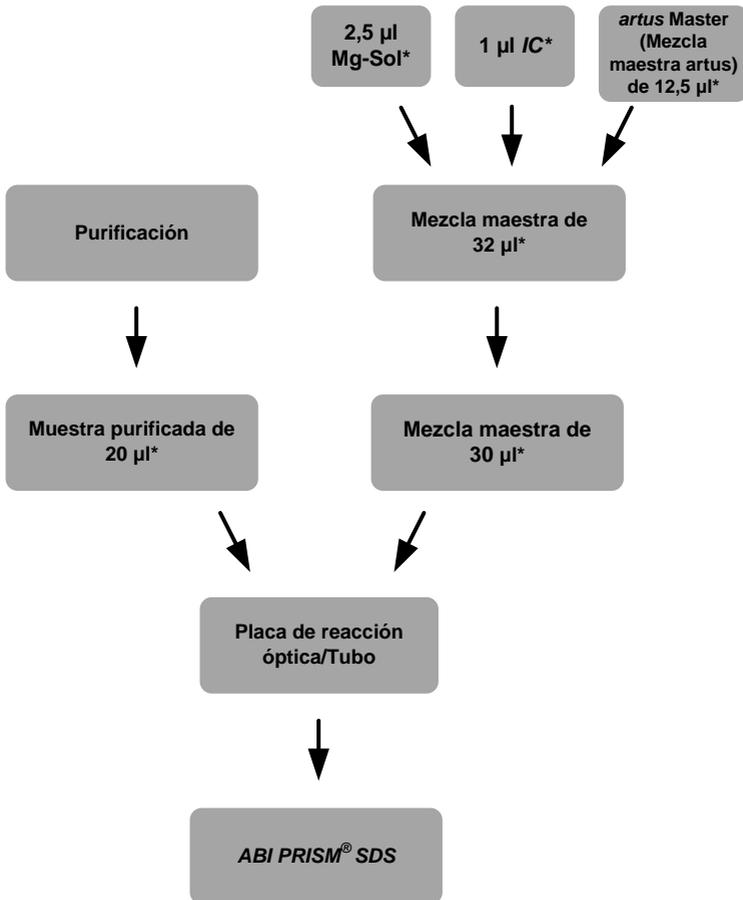


Fig. 2: Esquema del flujo de trabajo para el control de la inhibición de la PCR.

\*Asegúrese de que las soluciones estén completamente descongeladas y bien mezcladas y de que hayan sido centrifugadas brevemente.

## 8.6 Programación del *ABI PRISM SDS*

Antes de iniciar la serie de PCR, el software de los sistemas de detección de secuencias (*Sequence Detection Systems, SDS*) *ABI PRISM 7000, 7700* y *7900HT* requiere información adicional. Sin embargo, los procedimientos para programar los instrumentos difieren considerablemente entre sí, por lo que se tratarán en capítulos separados.

### 8.6.1 Programación del *ABI PRISM 7000 SDS*

Para la detección del ADN del CMV, cree un perfil en el instrumento *ABI PRISM 7000 SDS* siguiendo los seis pasos indicados a continuación (8.6.1.1-8.6.1.6). Todas las especificaciones hacen referencia al software *ABI PRISM 7000 SDS*, versión 1.0.1. Si desea obtener más información acerca de la programación del instrumento *ABI PRISM 7000 SDS*, consulte el manual *Guía del usuario del ABI PRISM 7000 SDS*. Para una mejor visualización, los ajustes de configuración del software aparecen recuadrados en negrita.

#### 8.6.1.1 Ajustes predefinidos para crear una nueva serie de PCR

Seleccione el elemento *New* (Nuevo) en el menú *File* (Archivo) del software *ABI PRISM 7000 SDS* y programe los siguientes ajustes iniciales para el nuevo documento (consulte la Fig. 3). Puede acceder a una plantilla de seguridad (*SDS Template* [Plantilla SDS] [*\*.sdt*]) en la lista *Template* (Plantilla) o seleccionándola por medio de la función *Browse* (Examinar) (consulte el apartado 8.6.1.5 Almacenamiento de la serie de PCR). Haga clic en *OK* (Aceptar) para confirmar los ajustes predefinidos.

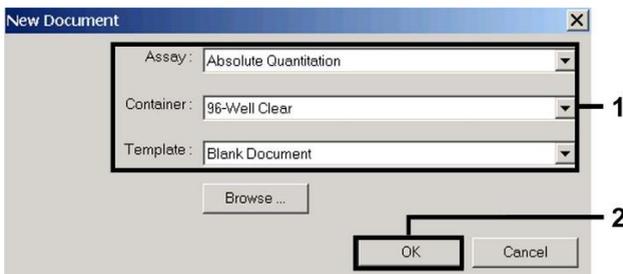


Fig. 3: Ajustes predefinidos para crear una nueva serie de PCR (New Document [Nuevo documento]).

### 8.6.1.2 Creación/selección de los detectores

Asigne al archivo los colorantes detectores correspondientes con la ayuda del submenú *Detector Manager* (Administrador de detectores) del menú *Tools* (Herramientas). Para la detección del ADN del CMV y del *control interno con el artus CMV TM PCR Kit*, deben definirse los indicadores/supresores de fluorescencia que aparecen en la tabla siguiente:

Detección	Reporter (Indicador)	Quencher (Supresor)
ADN del CMV	FAM	none (ninguno)
<i>Control interno (CMV TM IC)</i>	VIC	none (ninguno)

Para crear estos detectores, seleccione la opción *File* (Archivo) (en la parte inferior izquierda de la ventana *Detector Manager* [Administrador de detectores]) y, a continuación, la opción *New* (Nuevo).

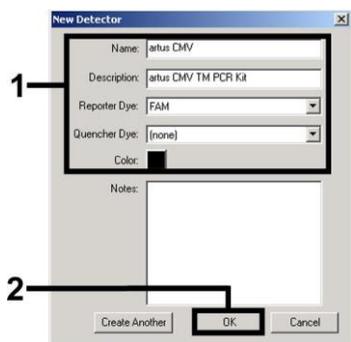


Fig. 4: Creación del detector específico del CMV (Detector Manager [Administrador de detectores]).

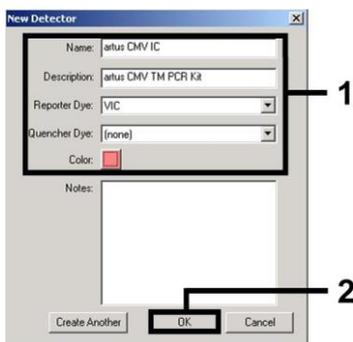


Fig. 5: Creación del detector específico del control interno (Detector Manager [Administrador de detectores]).

Para la detección del ADN del CMV, defina la combinación indicador/supresor de fluorescencia FAM/none (FAM/ninguno) en la nueva ventana. Para la detección del *control interno*, seleccione la combinación VIC/none (VIC/ninguno) (tal como se muestra en la Fig. 4 y en la Fig. 5). Haga clic en *OK* (Aceptar) para confirmar los datos introducidos y volver a la ventana *Detector Manager* (Administrador de detectores). Marque los detectores recién creados y transfiera cada selección a la ventana *Well Inspector* (Inspector de pocillos) haciendo clic en la opción *Add to Plate Document* (Añadir al documento de la placa) (consulte la Fig. 6). Cierre la ventana (*Done* [Hecho]).

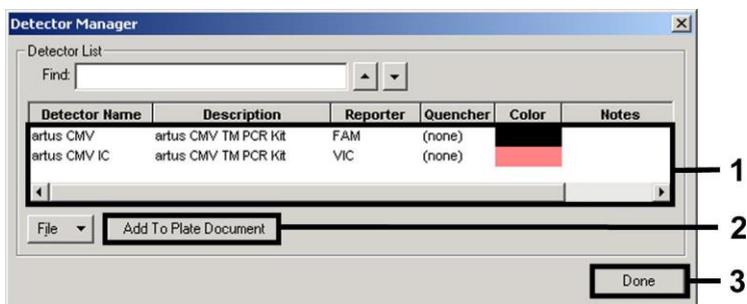


Fig. 6: Selección de los detectores (Detector Manager [Administrador de detectores]).

### 8.6.1.3 Asignación de la información necesaria a las posiciones de la placa

Abra la ventana *Well Inspector* (Inspector de pocillos) desde el menú *View* (Ver) para ver los detectores seleccionados en el apartado 8.6.1.2 (consulte la Fig. 7).

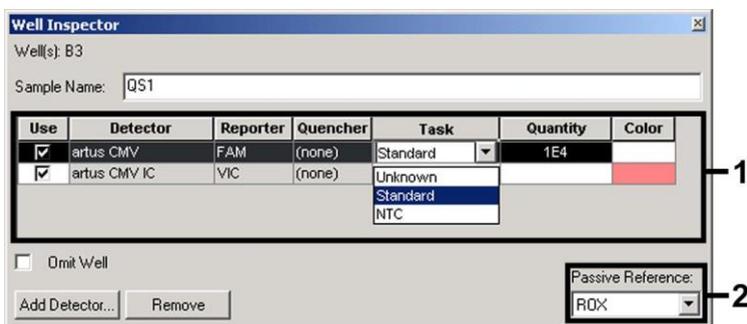


Fig. 7: Asignación de la información necesaria a las posiciones de la placa (Well Inspector [Inspector de plantillas]).

Marque las posiciones de la placa reservadas para la detección del ADN del CMV. Asigne los detectores seleccionados a estas posiciones activando la opción Use (Usar) para ambos detectores (aparecerá una marca de verificación). Para poner nombre a cada reacción, seleccione la posición correspondiente en la placa e introduzca el nombre en el campo Sample Name (Nombre de la muestra). Tenga en cuenta que el software identificará como

duplicados las preparaciones que tengan el mismo nombre (Sample Name [Nombre de la muestra]) y la misma asignación de detector y calculará su promedio con respecto a la carga patógena cuantificada. A continuación, seleccione la función correspondiente (Task [Tarea]) para cada tipo de muestra según la tabla siguiente:

Tipo de muestra	Función (Task [Tarea])	Concentración (Quantity [Cantidad])	Reporter (Indicador)	Quencher (Supresor)
Muestra	Unknown (Desconocida)	–	FAM	none (ninguno)
Control sin molde	NTC	–	FAM	none (ninguno)
Estándar	Standard (Estándar)	Consulte 1. Contenido	FAM	none (ninguno)

Para generar una curva de estándares, utilice para cada serie de PCR todos los *estándares de cuantificación* (CMV LC/RG/TM QS 1-4) suministrados e introduzca las concentraciones correspondientes (consulte el apartado 1. Contenido) para cada estándar (Quantity [Cantidad]). Tenga en cuenta que para una serie de PCR con el *artus CMV TM PCR Kit* debe configurarse ROX™ en el campo *Passive Reference* (Referencia pasiva). La distribución uniforme del colorante ROX en todas las preparaciones de PCR de un lote mezclando la *CMV TM Master* garantiza el reconocimiento y el cálculo de las variaciones entre tubos (diferencias de fluorescencia entre varias preparaciones de PCR) mediante el *software de detección de secuencias* (normalización).

#### 8.6.1.4 Creación del perfil de temperatura

Para crear un perfil de temperatura, pase del nivel *Setup* (Configuración) al nivel *Instrument* (Instrumento) en el software. Introduzca el perfil de temperatura específico para la detección del ADN del CMV de acuerdo con la Fig. 8. Para eliminar el paso de 50 °C almacenado en los ajustes predefinidos, selecciónelo con el botón izquierdo del ratón mientras pulsa simultáneamente la tecla Mayús y, a continuación, elimínelo pulsando la tecla Retroceso. Asegúrese de configurar el volumen de reacción en 50 µl. La opción *9600 Emulation* (Emulación 9600) debe estar activada y los ajustes predefinidos de la opción *Auto Increment* (Incremento automático) deben permanecer inalterados (*Auto Increment* [Incremento automático]: 0,0 °C, 0,0 segundos).

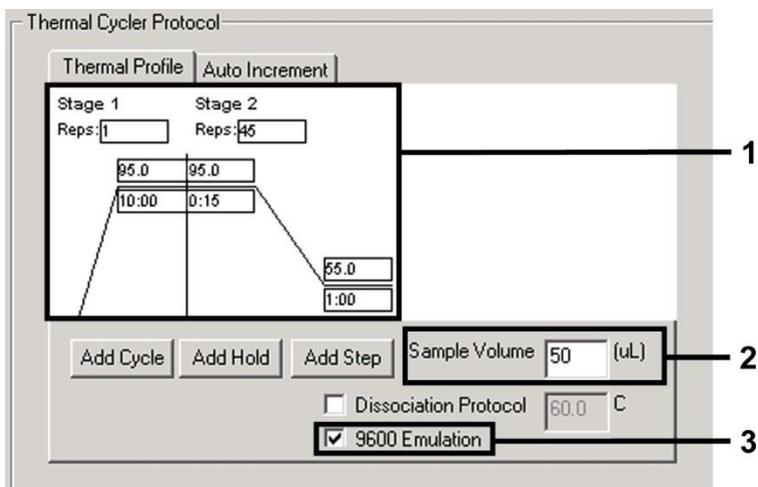


Fig. 8: Creación del perfil de temperatura.

#### 8.6.1.5 Almacenamiento de la serie de PCR

Guarde los ajustes (*Setup* [Configuración]) como plantilla para poder utilizarlos de nuevo posteriormente, ya sea modificados o sin modificar. Al guardar los ajustes con el formato *SDS Template* (Plantilla SDS) (\*.sd) en el *Template Directory* (Directorio de plantillas) (*Unidad de disco local* [C:] \Program Files \ABI PRISM 7000 \Templates creado por Applied Biosystems), este archivo puede seleccionarse directamente en la ventana *New Document* (Nuevo documento) en la lista desplegable *Template* (Plantilla). Las copias guardadas en otras carpetas deben abrirse a través de la opción *Browse* (Examinar). Antes de iniciar la serie de PCR, guárdela de nuevo con el formato *SDS Document* (Documento SDS) (\*.sds) para garantizar el almacenamiento de los datos que se recogerán durante el transcurso de la PCR.

#### 8.6.1.6 Inicio de la serie de PCR

Para iniciar la serie de PCR, seleccione la opción *Start* (Iniciar) en el elemento de menú *Instrument* (Instrumento) o el campo *Start* (Iniciar) en el nivel *Instrument* (Instrumento).

## 8.6.2 Programación del *ABI PRISM 7700 SDS*

Para la detección del ADN del CMV, cree un perfil en el *ABI PRISM 7700 SDS* conforme a los siete pasos indicados a continuación (8.6.2.1-8.6.2.7). Todas las especificaciones hacen referencia al software *ABI PRISM 7700 SDS*, versión 1.9.1. Si desea obtener más información acerca de la programación del instrumento *ABI PRISM 7700 SDS*, consulte el manual *Guía del usuario del ABI PRISM 7700 SDS*. Para una mejor visualización, los ajustes de configuración del software aparecen recuadrados en negrita.

### 8.6.2.1 Ajustes predefinidos para crear una nueva serie de PCR

Seleccione el elemento *New Plate* (Nueva placa) en el menú *File* (Archivo) del *ABI PRISM 7700 SDS* y programe los siguientes ajustes iniciales para el nuevo documento (consulte la Fig. 9). Haga clic en *OK* (Aceptar) para confirmar los ajustes predefinidos.

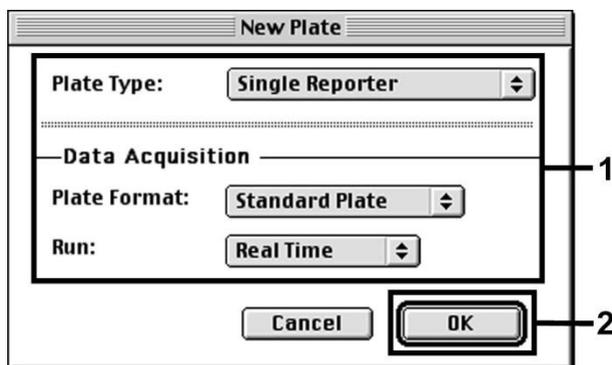


Fig. 9: Ajustes predefinidos para crear una nueva serie de PCR (New Plate [Nueva placa]).

### 8.6.2.2 Selección de los colorantes fluorescentes y asignación del tipo de muestra

Con la ayuda de la ventana *Sample Type Setup* (Configuración del tipo de muestra) (nivel *Setup* [Configuración]: *Sample Type* [Tipo de muestra]/*Sample Type Setup* [Configuración del tipo de muestra]), asigne los colorantes detectores correspondientes y el tipo de muestra correspondiente al archivo. Para la detección del ADN del CMV y del control interno con el artus CMV TM PCR Kit, deben definirse los indicadores/supresores de fluorescencia que aparecen en la tabla siguiente:

Detección	Reporter (Indicador)	Quencher (Supresor)
ADN del CMV	FAM	none (ninguno)
Control interno (CMV TM IC)	JOE	none (ninguno)

Para el análisis del ADN del CMV con el artus CMV TM PCR Kit, seleccione el colorante indicador FAM tal como se indica en la tabla. Esto es válido tanto para los estándares (STND) y las muestras (UNKN) como para los controles sin molde (UNKN). Para el análisis del control interno (IPC+), defina JOE como indicador. Configure none (ninguno) como supresor de fluorescencia. La asignación de los colorantes y de los tipos de muestra en la ventana *Sample Type Setup* (Configuración del tipo de muestra) aparece representada en la Fig. 10.

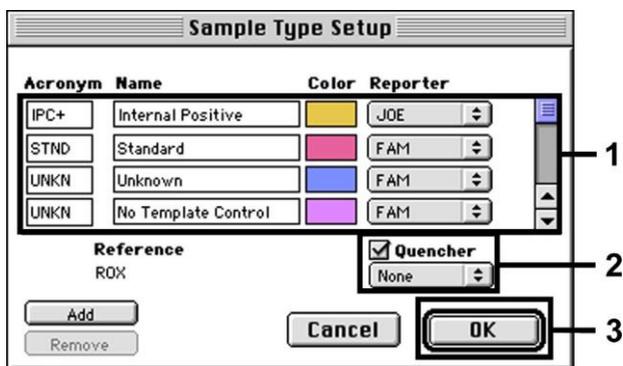


Fig. 10: Selección de los colorantes fluorescentes y asignación del tipo de muestra (*Sample Type Setup* [Configuración del tipo de muestra]).

Asigne el tipo de muestra a una función correspondiente (*Acronym* [Acrónimo]) conforme a la tabla siguiente:

Tipo de muestra	Función ( <i>Acronym</i> [Acrónimo])	Concentración ( <i>Quantity</i> [Cantidad])	Reporter (Indicador)	Quencher (Supresor)
Muestra	UNKN	–	FAM	none (ninguno)
Control sin molde	UNKN	–	FAM	none (ninguno)
Estándar	STND	Consulte 1. Contenido	FAM	none (ninguno)

### 8.6.2.3 Asignación de la información necesaria a las posiciones de la placa

Para asignar los detectores y los tipos de muestra a cada posición individual de la placa, seleccione los campos correspondientes. A continuación, abra la ventana de diálogo *Dye Layer* (Capa de colorante) en el nivel *Setup* (Configuración) y asigne el indicador correspondiente. Al activar el menú desplegable *Sample Type* (Tipo de muestra), encontrará los tipos de muestra asignados al indicador en la ventana *Sample Type Setup* (Configuración del tipo de muestra) en la lista que aparece (consulte la Fig. 11). Seleccione el tipo de muestra adecuado (consulte la tabla en el apartado 8.6.2.2) y asigne las posiciones restantes de la placa por medio de los menús *Dye Layer* (Capa de colorante) y *Sample Type* (Tipo de muestra). En el campo *Sample Name* (Nombre de la muestra) puede asignarse un nombre a cada muestra. El software calcula el promedio de los campos definidos como *Replicate* (Duplicado) (introduciendo el nombre de la muestra de referencia en la columna *Replicate* [Duplicado]) con respecto a la carga patógena cuantificada y calcula la desviación estándar.

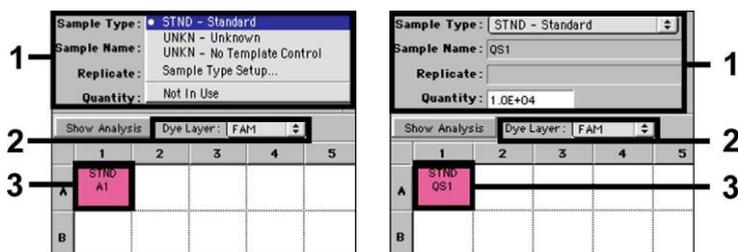


Fig. 11/12: Asignación de la información necesaria a las posiciones de la placa.

Para generar una curva de estándares, utilice para cada serie de PCR todos los *estándares de cuantificación (CMV LC/RG/TM QS 1-4)* suministrados e introduzca las concentraciones correspondientes (consulte el apartado 1. Contenido) para cada uno de los estándares en el campo *Quantity* (Cantidad) (consulte la Fig. 12). No obstante, esto solamente es posible si las posiciones reservadas para los estándares se han definido previamente como tales por medio del menú *Sample Type* (Tipo de muestra).

#### 8.6.2.4 Creación del perfil de temperatura

Para crear un perfil de temperatura, vaya al menú *Thermal Cycler Conditions* (Condiciones del termociclador) en el nivel *Setup* (Configuración). Introduzca el perfil de temperatura específico para la detección del ADN del CMV de acuerdo con la Fig. 13. Asegúrese de configurar el volumen de reacción en 50  $\mu\text{l}$ . Los ajustes predefinidos de *Ramp time* (Tiempo de rampa) y de *Auto Increment* (Incremento automático) no varían (*Ramp Time* (Tiempo de rampa): 0:00, *Auto Increment* (Incremento automático): 0,0  $^{\circ}\text{C}$ , 0,0 segundos).

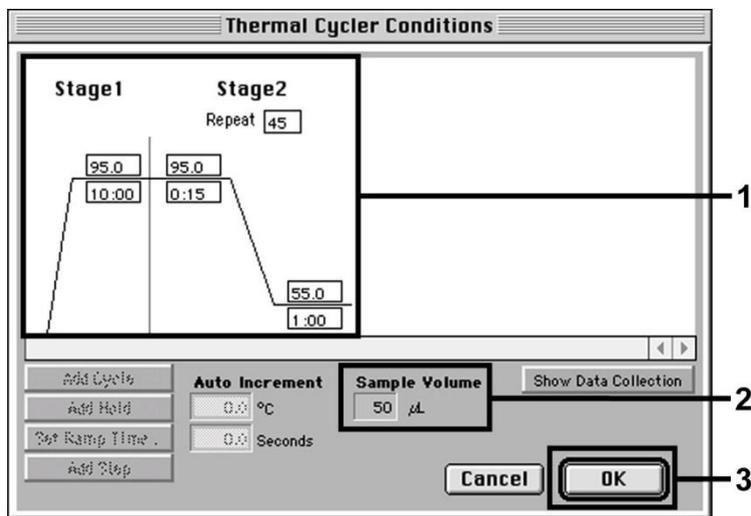


Fig. 13: Creación del perfil de temperatura.

Además, el menú *Thermal Cycler Conditions* (Condiciones del termociclador) contiene la opción *Show Data Collection* (Mostrar conjunto de datos). Al seleccionar esta opción se

mostrará la ventana representada en la Fig. 14. Cada temperatura de rampa y de meseta muestra un icono de *Data Collection* (Recogida de datos), que indica los datos recogidos en esta etapa de la serie. Elimine todos los símbolos a excepción del símbolo del paso *Annealing* (Apareamiento) (*Stage2/Step2*[*Etapa 2/Paso 2*]) para excluir mediciones de fluorescencia innecesarias. De esta manera se reducirá al mínimo el tiempo total de procesamiento y la cantidad de datos.

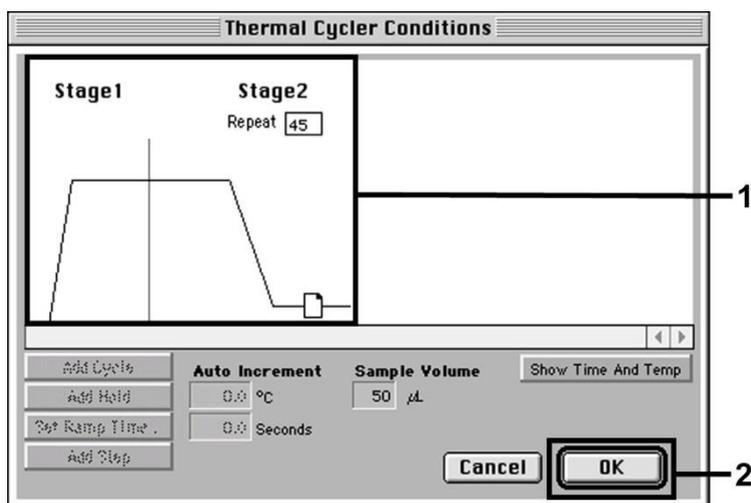


Fig. 14: Data collection (Recogida de datos).

#### 8.6.2.5 Ajustes adicionales importantes

Para ajustar el tiempo de exposición (excitación de los colorantes fluorescentes) y seleccionar los archivos Pure Spectra/Background (Espectros puros/fondo), pase del nivel Setup (Configuración) al nivel Analysis (Análisis). Seleccione el subelemento activado Advanced Options (Opciones avanzadas) en el menú Instrument (Instrumento) en Diagnostics (Diagnóstico). Configure los ajustes conforme a la Fig. 15. Al desactivar la función opcional Analysis: Spectra Components (Análisis: componentes espectrales), los archivos de calibración guardados en el archivo Spectra Components (Componentes espectrales) en el momento de la generación de los datos se utilizan automáticamente al reevaluar series ya analizadas. Para analizar series previas utilizando

componentes espectrales recién introducidos, active estos dos campos. Tenga en cuenta que para una serie de PCR con el artus CMV TM PCR Kit debe configurarse ROX como referencia pasiva (Reference [Referencia]). La distribución uniforme del colorante ROX en todas las preparaciones de PCR de un lote mezclando la CMV TM Master garantiza el reconocimiento y el cálculo de las variaciones entre tubos (diferencias de fluorescencia entre varias preparaciones de PCR) mediante el *software de detección de secuencias* (normalización).

Atención: Cuando se utilizan placas de reacción de 96 pocillos para mediciones ópticas en combinación con láminas adhesivas ópticas o tubos de reacción ópticos con tapas planas, el tiempo de exposición es de diez milisegundos. Si utiliza tubos de reacción ópticos con tapas convexas, ajuste el tiempo de exposición en 25 milisegundos.

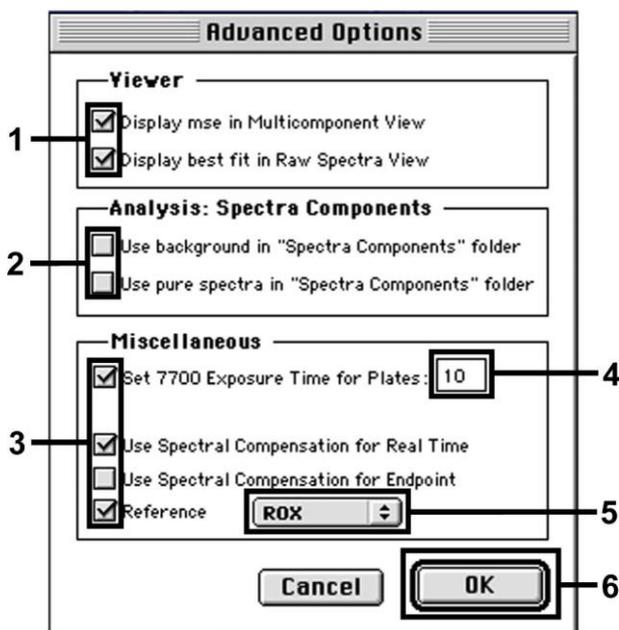


Fig. 15: Ajustes adicionales importantes (Advanced Options [Opciones avanzadas]).

### 8.6.2.6 Almacenamiento de la serie de PCR

Guarde los ajustes (*Setup* [Configuración]) como plantilla para poder utilizarlos de nuevo posteriormente, ya sea modificados o sin modificar. Para ello, guarde el archivo en el formato *Stationary File Format* (Formato de archivo estacionario). Antes de iniciar una serie de PCR recién programada, guárdela de nuevo en formato *Normal File Format* (Formato de archivo normal) para garantizar el almacenamiento de los datos que se recogerán durante el transcurso de la PCR.

### 8.6.2.7 Inicio de la serie de PCR

Inicie la serie de PCR seleccionando la opción *Run* (Procesar) del elemento de menú *Instrument* (Instrumento) o el campo *Run* (Procesar) del nivel *Analysis* (Análisis).

## 8.6.3 Programación del *ABI PRISM 7900HT SDS*

Para la detección del ADN del CMV, cree un perfil en el instrumento *ABI PRISM 7900HT SDS* siguiendo los seis pasos indicados a continuación (8.6.3.1-8.6.3.6). Todas las especificaciones hacen referencia al software *ABI PRISM 7900HT SDS*, versión 2.1. Si desea obtener más información acerca de la programación del instrumento *ABI PRISM 7900HT SDS*, consulte la *Guía del usuario del ABI PRISM 7900HT SDS*. Para una mejor visualización, los ajustes de configuración del software aparecen recuadrados en negrita.

### 8.6.3.1 Ajustes predefinidos para crear una nueva serie de PCR

Seleccione el elemento *New* (Nuevo) del menú *File* (Archivo) en el *ABI PRISM 7900HT SDS* y programe los siguientes ajustes iniciales para el nuevo documento (consulte la Fig. 16). Puede acceder a una plantilla de seguridad (*ABI PRISM SDS Template Document* [Documento de plantilla *ABI PRISM SDS*] [*\*.sdf*]) en la lista *Template* (Plantilla) o seleccionándola por medio de la función *Browse* (Examinar) (consulte el apartado 8.6.3.5 Almacenamiento de la serie de PCR). Haga clic en *OK* (Aceptar) para confirmar los ajustes predefinidos.

**Atención:** El *artus CMV TM PCR Kit* no se puede utilizar con el formato de placa de 384 pocillos del instrumento *ABI PRISM 7900HT SDS*.

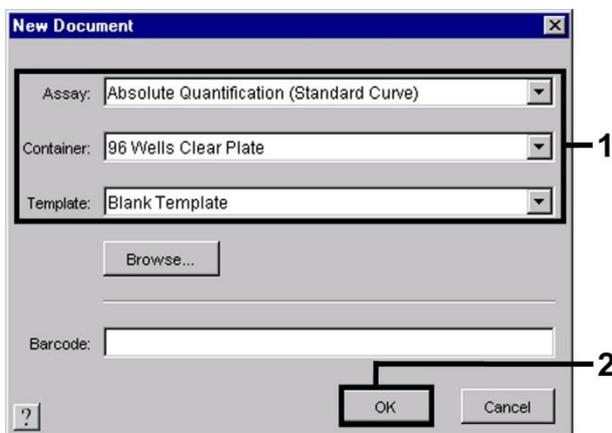


Fig. 16: Ajustes predefinidos para crear una nueva serie de PCR (New Document [Nuevo documento]).

### 8.6.3.2 Creación/selección de los detectores

Por medio del submenú *Detector Manager* (Administrador de detectores) del menú *Tools* (Herramientas) (de forma alternativa: nivel *Setup* [Configuración]/función *Add Detector* [Añadir detector]), asigne al archivo los colorantes detectores correspondientes. Para la detección del ADN del CMV y del control interno con el artus CMV TM PCR Kit, deben definirse los indicadores/supresores de fluorescencia que aparecen en la tabla siguiente:

Detección	Reporter (Indicador)	Quencher (Supresor)
ADN del CMV	FAM	Non Fluorescent (No fluorescente)
<i>Control interno (CMV TM IC)</i>	VIC	Non Fluorescent (No fluorescente)

Para crear estos detectores, seleccione la opción *New* (Nuevo) (en la parte inferior izquierda de la ventana *Detector Manager* [Administrador de detectores]).

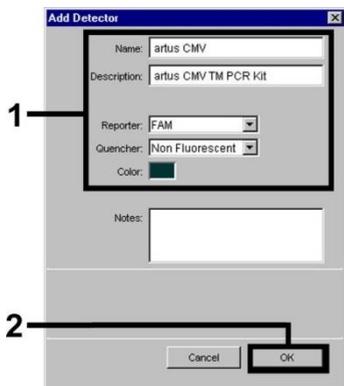


Fig. 17: Creación del detector específico del CMV (Detector Manager [Administrador de detectores]).

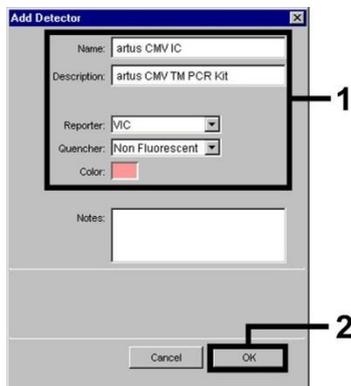


Fig. 18: Creación del detector específico del control interno (Detector Manager [Administrador de detectores]).

Para la detección del ADN del CMV, defina la combinación indicador/supresor de fluorescencia FAM/Non Fluorescent (FAM/No fluorescente) en la nueva ventana. Para la detección del *control interno*, seleccione la combinación VIC/Non Fluorescent (VIC/No fluorescente) (tal como se muestra en la Fig. 17 y en la Fig. 18). Haga clic en *OK* (Aceptar) para confirmar los datos introducidos y volver a la ventana *Detector Manager* (Administrador de detectores). Marque los detectores recién creados y transfiera cada selección al nivel *Setup* (Configuración) haciendo clic en la opción *Copy to Plate Document* (Copia en el documento de la placa) (consulte la Fig. 19). Cierre la ventana (*Done* [Hecho]).

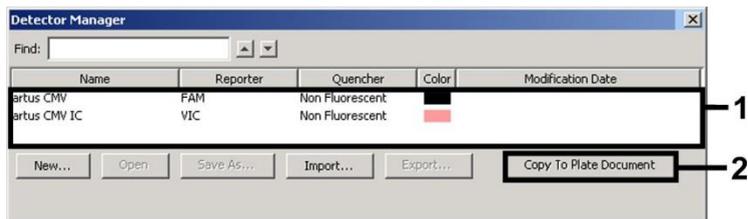


Fig. 19: Selección de los detectores (Detector Manager [Administrador de detectores]).

### 8.6.3.3 Asignación de la información necesaria a las posiciones de la placa

Tras cerrar la ventana *Detector Manager* (Administrador de detectores) (*Done* [Hecho]), podrá visualizar en el nivel *Setup* (Configuración) una tabla en la que aparecen listados los detectores seleccionados en el apartado 8.6.3.2 (consulte la Fig. 20).

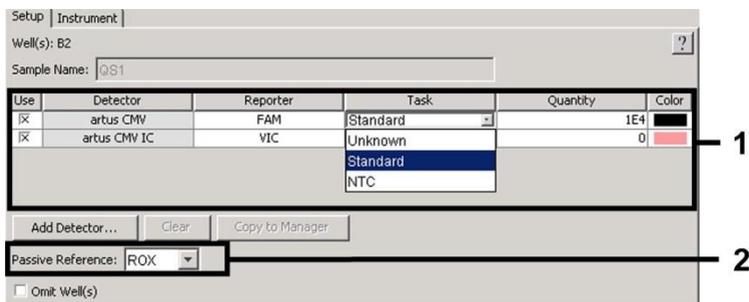


Fig. 20: Asignación de la información necesaria a las posiciones de la placa.

Marque las posiciones de la placa reservadas para la detección del ADN del CMV. Asigne los detectores seleccionados a estas posiciones activando la opción *Use* (Usar) para ambos detectores (aparecerá una cruz). Para poner nombre a cada reacción, seleccione la posición correspondiente en la placa e introduzca el nombre en el campo *Sample Name* (Nombre de la muestra). Tenga en cuenta que el software identificará como duplicados las preparaciones que tengan el mismo nombre (*Sample Name* [Nombre de la muestra]) y la misma asignación de detector y calculará su promedio con respecto a la carga patógena cuantificada. A continuación, seleccione la función correspondiente (*Task* [Tarea]) para cada tipo de muestra según la tabla siguiente:

Tipo de muestra	Función ( <i>Task</i> [Tarea])	Concentración (Quantity [Cantidad])	Reporter (Indicador)	Quencher (Supresor)
Muestra	Unknown (Desconocida)	–	FAM	Non Fluorescent (No fluorescente)
Control sin molde	NTC	–	FAM	Non Fluorescent (No fluorescente)
Estándar	Standard (Estándar)	Consulte 1. Contenido	FAM	Non Fluorescent (No fluorescente)

Tipo de muestra	Función ( <i>Task</i> [Tarea])	Concentración (Quantity [Cantidad])	Reporter (Indicador)	Quencher (Supresor)
-----------------	--------------------------------	--	-------------------------	------------------------

Para generar una curva de estándares, utilice para cada serie de PCR todos los estándares de cuantificación (CMV LC/RG/TM QS 1-4) suministrados e introduzca las concentraciones correspondientes (consulte el apartado 1 Contenido) para cada estándar (*Quantity* [Cantidad]). Tenga en cuenta que para una serie de PCR con el *artus* CMV TM PCR Kit debe configurarse ROX en el campo *Passive Reference* (Referencia pasiva). La distribución uniforme del colorante ROX en todas las preparaciones de PCR de un lote mezclando la *CMV TM Master* garantiza el reconocimiento y el cálculo de las variaciones entre tubos (diferencias de fluorescencia entre varias preparaciones de PCR) mediante el *software de detección de secuencias* (normalización).

#### 8.6.3.4 Creación del perfil de temperatura

Para crear un perfil de temperatura, pase del nivel *Setup* (Configuración) al nivel *Instrument* (Instrumento) en el software. Introduzca el perfil de temperatura válido para la detección del ADN del CMV de acuerdo con la Fig. 21. Asegúrese de configurar el volumen de reacción en 50 µl. La opción *9600 Emulation* (Emulación 9600) debe estar activada; los ajustes predefinidos de los parámetros *Ramp time* (Tiempo de rampa) y *Auto Increment* (Incremento automático) no deben variar (*Ramp Time* [Tiempo de rampa]: 0:00, *Auto Increment* [Incremento automático]: 0,0 °C, 0,0 segundos).

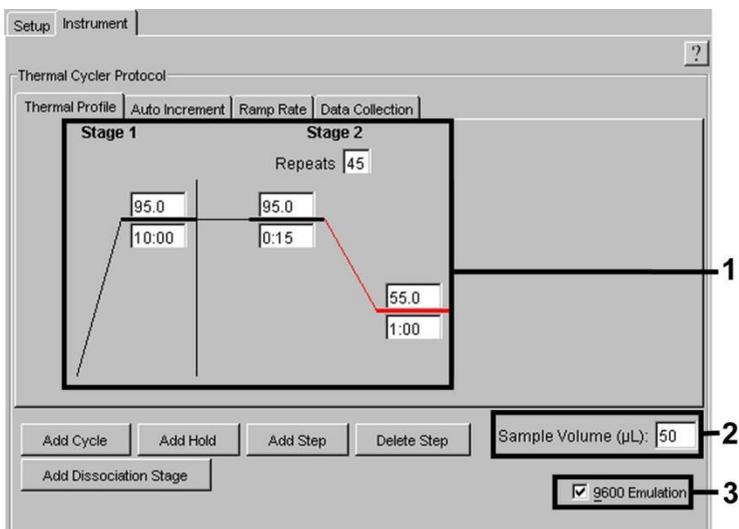


Fig. 21: Creación del perfil de temperatura.

Además, el nivel *Instrument* (Instrumento) contiene la opción *Data Collection* (Recogida de datos). Al seleccionar esta opción se mostrará la ventana representada en la Fig. 22. Cada temperatura de rampa y de meseta muestra un icono de *Data Collection* (Recogida de datos), que indica los datos recogidos en esta etapa de la serie. Elimine todos los símbolos a excepción del símbolo del paso *Annealing* (Apareamiento) (*etapa 2/paso 2*) haciendo clic en ellos para excluir mediciones de fluorescencia innecesarias. De esta manera se reducirá al mínimo el tiempo total de procesamiento y la cantidad de datos.

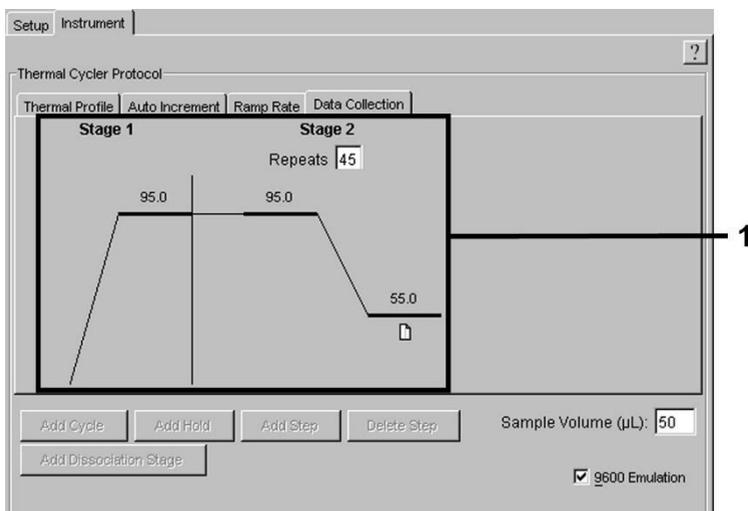


Fig. 22: Data collection (Recogida de datos).

### 8.6.3.5 Almacenamiento de la serie de PCR

Guarde los ajustes (*Setup* [Configuración]) como plantilla para poder utilizarlos de nuevo posteriormente, ya sea modificados o sin modificar. Al guardar los ajustes con el formato *ABI PRISM SDS Template Document* (Documento de plantilla ABI PRISM SDS) (\*.sdt) en el *Template Directory* (Directorio de plantillas) ([D:] \Program Files\Applied Biosystems\SDS 2.1\Templates creado por Applied Biosystems), este archivo puede seleccionarse directamente en la ventana *New Document* (Nuevo documento) en la lista *Template* (Plantilla). Las copias guardadas en otras carpetas deben abrirse a través de la opción *Browse* (Examinar). Antes de iniciar la serie de PCR, guárdela de nuevo con el formato *ABI PRISM SDS Document* (Documento ABI PRISM SDS) (\*.sds) para garantizar el almacenamiento de los datos que se recogerán durante el transcurso de la PCR.

### 8.6.3.6 Inicio de la serie de PCR

Inicie la serie de PCR seleccionando la opción *Start* (Iniciar) del elemento de menú *Instrument* (Instrumento).

## 9. Análisis de los datos

Al poner en funcionamiento los instrumentos es necesario realizar una calibración válida de los colorantes (*Pure Spectra Component File* [Archivo de componentes espectrales puros]) y de la señal de fondo (*Background Component File* [Archivo de componentes de fondo]). Estos archivos de calibración son necesarios para que se realice un cálculo exacto de los resultados del siguiente modo:

Todas las señales de interferencia generadas por los instrumentos que influyen en la medición son eliminadas por el *software de detección de secuencias* de los *sistemas de detección de secuencias ABI PRISM* por medio del *Background Component File* (Archivo de componentes de fondo).

Además, en los análisis multicolor aparecen interferencias entre los espectros de emisión de los colorantes fluorescentes. El software de los instrumentos *ABI PRISM SDS* compensa estas interferencias mediante cálculos utilizando los datos espectrales de cada uno de los colorantes almacenados en el archivo *Pure Spectra Component File* (Archivo de componentes espectrales puros). El software utiliza el mismo archivo para la asignación de los datos de fluorescencia correspondientes a todo el espectro medible en el transcurso de la PCR a los detectores programados. A continuación, los datos de fluorescencia de cada colorante son divididos entre el valor de la señal de la referencia pasiva (ROX) para tener en cuenta las variaciones entre tubos (diferencias en la fluorescencia entre varias preparaciones de PCR). A continuación, las señales normalizadas de este modo pueden ser evaluadas por medio del *Amplification Plot* (Gráfico de amplificación).

Los archivos de calibración utilizados para la evaluación de una serie de PCR se almacenan automáticamente al guardar la serie. Si no se instala ningún archivo de calibración, cree estos archivos tal como se indica en las instrucciones del documento *Guía/manual del usuario del ABI PRISM SDS*.

Si hay más de un sistema *artus*™ PCR integrado en la serie de PCR (tenga en cuenta el perfil de temperatura), estos ensayos deben analizarse por separado. El programa *ABI PRISM 7000* y *7900HT SDS Software* identificará automáticamente como duplicados las muestras que tengan el mismo nombre (*Sample Name* [Nombre de la muestra]) y la misma asignación de detector y calculará su promedio con respecto a la carga patógena cuantificada.

---

Para el análisis de series cuantitativas, siga las instrucciones indicadas en el apartado 8.4 Cuantificación y en el documento Nota técnica para la cuantificación en el instrumento *ABI PRISM 7000 SDS* (Technical Note for quantitation on the *ABI PRISM 7000 SDS*) en [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Si incluyó más de un sistema *artus* para virus del herpes en la serie de PCR, analice los diferentes sistemas con los *estándares de cuantificación* correspondientes por separado. Seleccione las posiciones de las muestras para el análisis en correspondencia.

Pueden obtenerse los siguientes resultados:

1. Se detecta una señal fluorescente FAM.

El resultado del análisis es positivo: la muestra contiene ADN del CMV.

En este caso, la detección de una señal fluorescente VIC/JOE (*control interno*) no es imprescindible, ya que concentraciones iniciales elevadas de ADN del CMV (señal fluorescente FAM positiva) pueden dar lugar a una reducción o a la ausencia de la señal fluorescente del *control interno* (competición).

2. No se detecta ninguna señal de fluorescencia FAM. Al mismo tiempo aparece una señal fluorescente VIC/JOE del *control interno*.

En la muestra no hay ADN del CMV detectable. Puede considerarse negativa.

En el caso de una PCR del CMV negativa, la señal detectada del *control interno* descarta la posibilidad de inhibición de la PCR.

3. No se detecta ni una señal fluorescente FAM ni una señal fluorescente VIC/JOE.

No es posible realizar el diagnóstico.

Puede encontrar información acerca de las fuentes de error y su solución en el apartado 10 Resolución de problemas.

Encontrará ejemplos de reacciones de PCR positivas y negativas en las figuras 23/24 (ABI PRISM 7000 SDS), 25/26 (ABI PRISM 7700 SDS) y 27/28 (ABI PRISM 7900HT SDS).

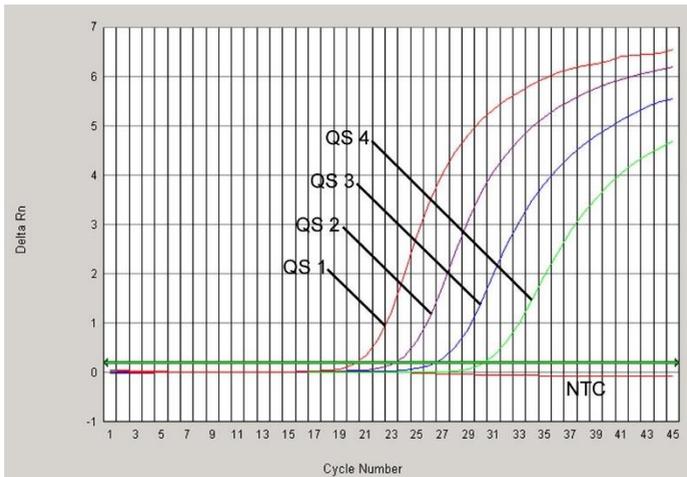


Fig. 23: Detección de los estándares de cuantificación (CMV LC/RG/TM QS 1-4) mediante la medición de la señal fluorescente FAM (ABI PRISM 7000 SDS). NTC: control sin molde (control negativo).

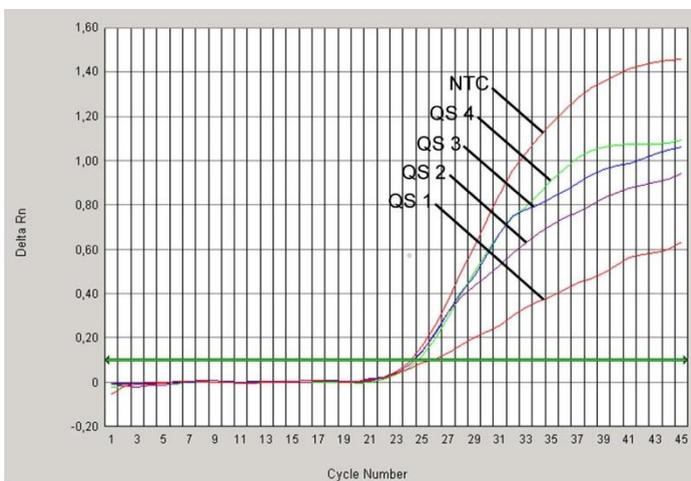


Fig. 24: Detección del control interno (IC) mediante la medición de la señal fluorescente VIC (ABI PRISM 7000 SDS) con amplificación simultánea de los estándares de cuantificación (CMV LC/RG/TM QS 1-4). NTC: control sin molde (control negativo).

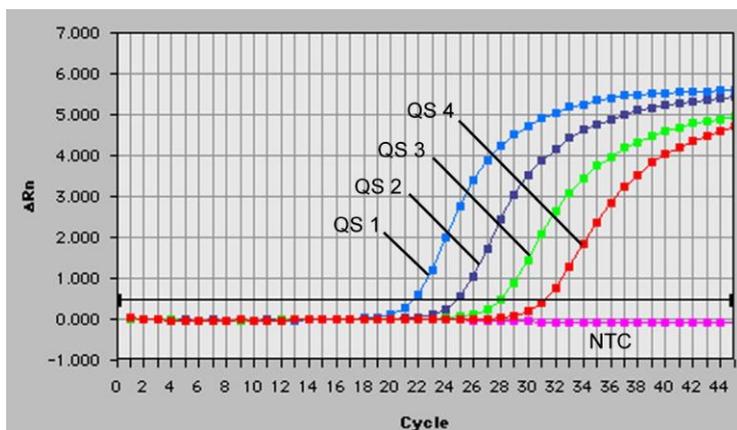


Fig. 25: Detección de los estándares de cuantificación (CMV LC/RG/TM QS 1-4) mediante la medición de la señal fluorescente FAM (ABI PRISM 7700 SDS). NTC: control sin molde (control negativo).

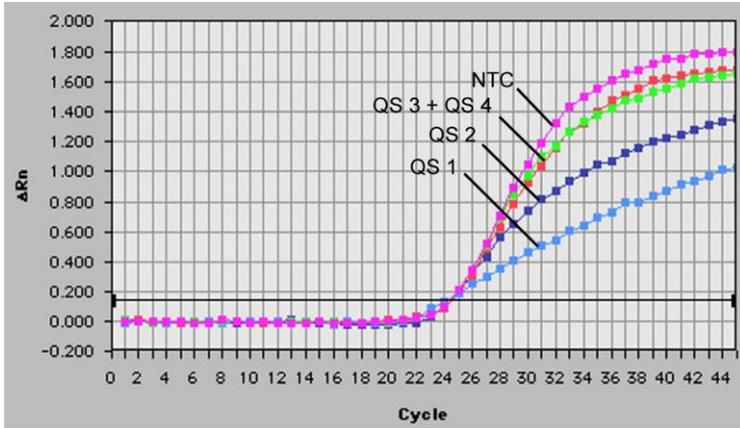


Fig. 26: Detección del control interno (IC) mediante la medición de la señal fluorescente JOE (ABI PRISM 7700 SDS) con amplificación simultánea de los estándares de cuantificación (CMV LC/RG/TM QS 1-4). NTC: control sin molde (control negativo).

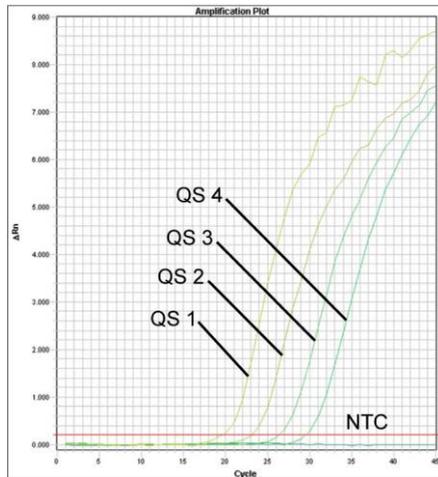


Fig. 27: Detección de los estándares de cuantificación (CMV LC/RG/TM QS 1-4) mediante la medición de la señal fluorescente FAM (ABI PRISM 7900HT SDS). NTC: control sin molde (control negativo).

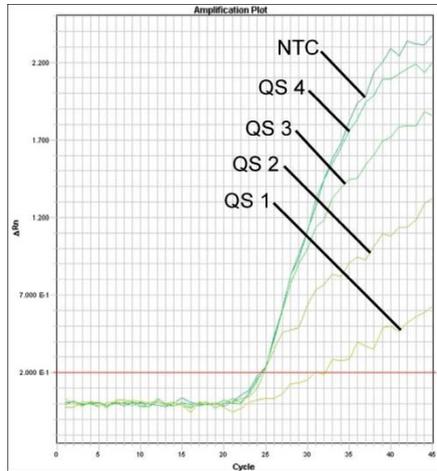


Fig. 28: Detección del control interno (IC) mediante la medición de la señal fluorescente VIC (ABI PRISM 7900HT SDS) con amplificación simultánea de los estándares de cuantificación (CMV LC/RG/TM QS 1-4). NTC: control sin molde (control negativo).

## 10. Resolución de problemas

Ausencia de señal fluorescente FAM con los controles positivos (CMV LC/RG/TM QS 1-4):

- El colorante de detección seleccionado para el análisis de los datos de PCR no cumple el protocolo.
  - ➔ Para el análisis de los datos, seleccione el colorante de detección FAM para la PCR analítica del CMV y el colorante de detección VIC/JOE para la PCR del *control interno*.
- Los ajustes utilizados para el análisis de los datos en *Options* (Opciones) (*Extension Phase Data Extraction* [Extracción de datos de la fase de extensión]) no se corresponden con los ajustes de *Data Collection* (Recogida de datos) (Consulte el apartado 8.6.2.4 Creación del perfil de temperatura para el instrumento *ABI PRISM 7700 SDS*; consulte el apartado

8.6.3.4 Creación del perfil de temperatura para el instrumento *ABI PRISM 7900HT SDS*.

- ➔ Analice la serie de PCR con los ajustes corregidos y repita el análisis de los datos (*Analysis* [Análisis]).
- Programación incorrecta del perfil de temperatura del *sistema de detección de secuencias ABI PRISM*.
  - ➔ Compare el perfil de temperatura con el protocolo (consulte el apartado 8.6 Programación del *ABI PRISM SDS*).
- Configuración incorrecta de la reacción de PCR.
  - ➔ Compruebe los pasos de trabajo por medio del esquema de pipeteo (consulte el apartado 8.5 Preparación de la PCR) y repita la PCR en caso necesario.
- Las condiciones de almacenamiento para uno o más componentes del kit no cumplían las instrucciones proporcionadas en el apartado 2. Almacenamiento o el *artus CMV TM PCR Kit* había 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 que se ha purificado (QIAamp DSP Virus Kit) (señal fluorescente VIC/JOE, desviación superior al intervalo de Ct = 25,3-31,3; (*umbral en el ABI PRISM 7000*: 0,2; en el *ABI PRISM 7700* y en el *7900HT SDS*: 0,2) con ausencia simultánea de una señal fluorescente FAM para la PCR específica del CMV:

- 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.
- Se produjo la inhibición de la PCR.

- Asegúrese de que está utilizando el método de aislamiento recomendado (consulte el apartado 8.2 Aislamiento de ADN) y siga exactamente las instrucciones del fabricante.
- Asegúrese de que durante el aislamiento del ADN se ha realizado el paso adicional de centrifugación recomendado antes de la elución para eliminar los restos de etanol (consulte el apartado 8.2 Aislamiento de ADN).
- Se perdió ADN durante la extracción.
  - Si se añadió el *control interno* a la extracción, la ausencia de una señal del *control interno* puede indicar la pérdida de ADN durante la extracción. Asegúrese de que está utilizando un método de aislamiento recomendado (consulte el apartado 8.2 Aislamiento de ADN) y siga exactamente las instrucciones del fabricante.
- Las condiciones de almacenamiento para uno o más componentes del kit no cumplían las instrucciones proporcionadas en el apartado 2. Almacenamiento o el *artus CMV TM PCR Kit* había 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 fluorescente FAM de la PCR analítica con los controles negativos:

- 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.
  - Pipetee estrictamente los controles positivos en último lugar.
  - Asegúrese de descontaminar el espacio de trabajo y los instrumentos a intervalos regulares.
- 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.

Si tiene cualquier otra duda o si encuentra problemas, póngase en contacto con nuestro servicio técnico.

## 11. Especificaciones

### 11.1 Sensibilidad analítica

Se evaluaron el límite de detección analítica y el límite de detección analítica teniendo en cuenta la purificación (límites de sensibilidad) para el *artus* CMV TM PCR Kit. El límite de detección analítica teniendo en cuenta la purificación se determina utilizando muestras clínicas positivas para el CMV con un método de extracción concreto. Por el contrario, el límite de detección analítica se determina sin muestras clínicas e independientemente del método de extracción seleccionado utilizando ADN del CMV con una concentración conocida.

Para determinar la sensibilidad analítica del *artus* CMV TM PCR Kit se realizaron diluciones seriadas de ADN genómico del CMV desde 10 hasta un valor nominal de 0,00316 copias del CMV/ $\mu$ l y se analizaron con el *artus* CMV TM PCR Kit usando los *sistemas de detección de secuencias ABI PRISM 7000, 7700 y 7900HT*. Los ensayos para todos los instrumentos se realizaron en tres días diferentes por octuplicado. Los resultados se determinaron mediante un análisis probit.

Límite de detección ( $p = 0,05$ )	
ABI PRISM 7000 SDS	0,20 copias/ $\mu$ l

Límite de detección ( $p = 0,05$ )	
<i>ABI PRISM 7700 SDS</i>	0,20 copias/ $\mu$ l
<i>ABI PRISM 7900HT SDS</i>	0,17 copias/ $\mu$ l

Esto significa que existe una probabilidad del 95% de que se detecten 0,20 copias/ $\mu$ l (*ABI PRISM 7000 SDS*), 0,20 copias/ $\mu$ l (*ABI PRISM 7700 SDS*) y 0,17 copias/ $\mu$ l (*ABI PRISM 7900HT SDS*).

La sensibilidad analítica teniendo en cuenta la purificación (*QIAamp DSP Virus Kit*) del *artus CMV TM PCR Kit* se determinó mediante diluciones seriadas de material del CMV desde 1000 hasta un valor nominal de 0,316 copias del CMV/ml añadido a muestras clínicas de plasma. Estas se sometieron a extracción de ADN con el *QIAamp DSP Virus Kit* (volumen de extracción: 0,5 ml, volumen de elución: 70  $\mu$ l). Cada una de las ocho diluciones fue analizada en tres días diferentes por octuplicado con el *artus CMV TM PCR Kit* en los instrumentos *ABI PRISM 7000*, *7700* y *7900HT SDS*. Los resultados se determinaron mediante un análisis probit y se presentan en la tabla siguiente:

Límite de detección ( $p = 0,05$ ) teniendo en cuenta la purificación		
<i>ABI PRISM 7000 SDS</i>	64,2	copias/ml
<i>ABI PRISM 7700 SDS</i>	100,5	copias/ml
<i>ABI PRISM 7900HT SDS</i>	53,5	copias/ml

En la Fig. 29 se presenta la ilustración gráfica para el instrumento *ABI PRISM 7000 SDS*. El límite de detección analítica teniendo en cuenta la purificación del *artus CMV TM PCR Kit* es de 64,2 copias/ml ( $p = 0,05$ ). Esto significa que existe una probabilidad del 95 % de que se detecten 64,2 copias/ml.

## Análisis probit: Citomegalovirus (ABI PRISM 7000 SDS)

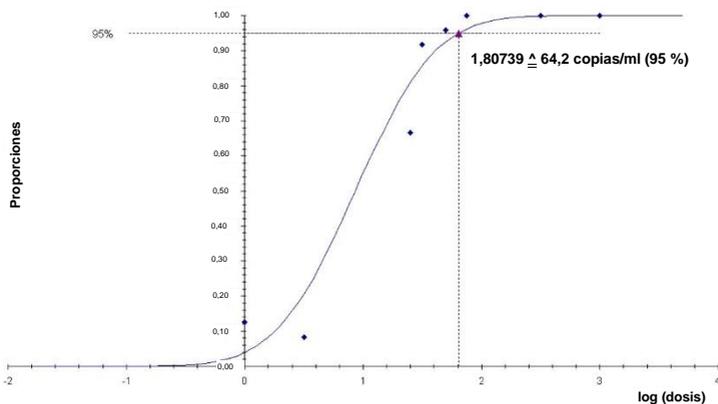


Fig. 29: Sensibilidad analítica teniendo en cuenta la purificación (QIAamp DSP Virus Kit) del artus CMV TM PCR Kit (ABI PRISM 7000 SDS).

## 11.2 Especificidad

La especificidad del *artus* CMV TM PCR Kit se asegura ante todo mediante la selección de los (cebadores) y de las sondas, así como mediante la selección de condiciones estrictas para la reacción. Los cebadores y las sondas se comprobaron con respecto a posibles homologías con todas las secuencias publicadas en los bancos de genes por medio de un análisis de comparación de secuencias. De este modo se ha garantizado la capacidad de detección de todas las cepas relevantes.

Además, la especificidad se validó con 100 muestras diferentes de plasma negativas para el CMV. Estas no generaron ninguna señal con los cebadores y las sondas específicos del CMV incluidos en la *CMV TM Master*.

Para determinar la especificidad del *artus* CMV TM PCR Kit se ha analizado la reactividad cruzada del grupo de control indicado en la tabla siguiente (consulte la Tabla 1). Ninguno de los patógenos analizados mostró reactividad. No se produjo ninguna reactividad cruzada en el caso de infecciones mixtas.

Tabla 1: Análisis de la especificidad del kit con patógenos con posible reactividad cruzada.

Grupo de control	CMV (FAM)	Control interno (VIC)
Virus del herpes humano 1 (virus del herpes simple 1)	–	+
Virus del herpes humano 2 (virus del herpes simple 2)	–	+
Virus del herpes humano 3 (virus de la varicela-zóster)	–	+
Virus del herpes humano 4 (virus de Epstein-Barr)	–	+
Virus del herpes humano 6A	–	+
Virus del herpes humano 6B	–	+
Virus del herpes humano 7	–	+
Virus del herpes humano 8 (virus del herpes asociado al sarcoma de Kaposi)	–	+
Virus de la hepatitis A	–	+
Virus de la hepatitis B	–	+
Virus de la hepatitis C	–	+
Virus de la inmunodeficiencia humana 1	–	+
Virus de la leucemia de células T humana de tipo 1	–	+
Virus de la leucemia de células T humana de tipo 2	–	+
Virus del Nilo Occidental	–	+
Enterovirus	–	+
Parvovirus B19	–	+

---

## 11.3 Precisión

Los datos de precisión del *artus* CMV TM PCR Kit se han obtenido con el instrumento *ABI PRISM 7000 SDS* y permiten determinar la varianza total del ensayo. La varianza total consta de la variabilidad intranalítica (variabilidad de múltiples resultados de muestras de la misma concentración en un único experimento), la variabilidad interanalítica (variabilidad de múltiples resultados del ensayo generados en diferentes instrumentos del mismo tipo por diferentes operadores en un mismo laboratorio) y la variabilidad interlote (variabilidad de múltiples resultados del ensayo con diferentes lotes). Los datos obtenidos se utilizaron para determinar la desviación estándar, la varianza y el coeficiente de variación para la PCR específica del patógeno y para la PCR del *control interno*.

Se han recogido datos de precisión del *artus* CMV TM PCR Kit utilizando el *estándar de cuantificación* de menor concentración (QS 4; 10 copias/μl). El análisis se realizó por octuplicado. Los datos de precisión se calcularon en función de los valores de Ct de las curvas de amplificación (Ct: *ciclo umbral*, consulte la Tabla 2). Además, se determinaron los datos de precisión para los resultados cuantitativos en copias/μl utilizando los valores de Ct correspondientes (consulte la Tabla 3). En función de estos resultados, la dispersión estadística total de cualquier muestra dada con la concentración mencionada es del 1,06% (Ct) o del 12,93% (conc.), mientras que para la detección del *control interno* es del 1,14% (Ct). Estos valores se basan en la totalidad de los valores individuales de la variabilidad determinada.

Tabla 2: Datos de precisión basados en los valores de Ct.

	Desviación estándar	Varianza	Coefficiente de variación [%]
Variabilidad intranalítica:			
<i>CMV LC/RG/TM QS 4</i>	0,10	0,01	0,33
Variabilidad intranalítica:			
<i>Control interno</i>	0,12	0,01	0,50
Variabilidad interanalítica:			
<i>CMV LC/RG/TM QS 4</i>	0,21	0,04	0,67
Variabilidad interanalítica:			
<i>Control interno</i>	0,30	0,09	1,23
Variabilidad interlote:			
<i>CMV LC/RG/TM QS 4</i>	0,32	0,10	1,01
Variabilidad interlote:			
<i>Control interno</i>	0,26	0,07	1,05
Varianza total:			
<i>CMV LC/RG/TM QS 4</i>	0,33	0,11	1,06
Varianza total:			
<i>Control interno</i>	0,28	0,08	1,14

Tabla 3: Datos de precisión según los resultados cuantitativos (en copias/ $\mu$ l).

	Desviación estándar	Varianza	Coefficiente de variación [%]
Variabilidad intranalítica:			
<i>CMV LC/RG/TM QS 4</i>	0,72	0,52	7,20
Variabilidad interanalítica:			
<i>CMV LC/RG/TM QS 4</i>	1,25	1,57	12,45
Variabilidad interlote:			
<i>CMV LC/RG/TM QS 4</i>	1,53	2,33	15,10
Varianza total:			
<i>CMV LC/RG/TM QS 4</i>	1,30	1,70	12,93

---

## 11.4 Robustez

La verificación de la robustez permite determinar la tasa de fracaso total del *artus* CMV TM PCR Kit. Se añadió ADN del CMV con una concentración final de 170 copias/ml (aproximadamente tres veces la concentración del límite de sensibilidad analítica) a 100 muestras de plasma negativas para el CMV. Tras la extracción con el QIAamp DSP Virus Kit (consulte el apartado 8.2 Aislamiento de ADN), estas muestras se analizaron con el *artus* CMV TM PCR Kit. La tasa de fracaso para todas las muestras de CMV fue del 0%. Además, la robustez del *control interno* se evaluó mediante la purificación y el análisis de 100 muestras de plasma negativas para el CMV. Así, la robustez del *artus* CMV TM PCR Kit es  $\geq 99$  %.

## 11.5 Reproducibilidad

Los datos de reproducibilidad permiten evaluar de forma regular el rendimiento del *artus* CMV TM PCR Kit y comparar su eficiencia con la de otros productos. Estos datos se obtienen por medio de la participación en programas de competencia establecidos.

## 11.6 Evaluación diagnóstica

El *artus* CMV TM PCR Kit se evaluó en un estudio. Se analizaron de forma retrospectiva y prospectiva 154 muestras clínicas de plasma con EDTA comparando el *artus* CMV TM PCR Kit con el COBAS® AMPLICOR® CMV MONITOR® Test. Todas las muestras se analizaron previamente con un resultado positivo o negativo utilizando el COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test para diagnóstico sistemático.

Las muestras para el análisis con el *artus* CMV TM PCR Kit se aislaron añadiendo el *control interno* del *artus* CMV TM PCR Kit utilizando el QIAamp DSP Virus Kit y posteriormente se analizaron con el instrumento ABI PRISM 7000 SDS. Las muestras para el análisis con el COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test se aislaron y analizaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante proporcionadas en el prospecto.

Las 11 muestras que tuvieron un resultado positivo con el COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test tuvieron también un resultado positivo con el *artus* CMV TM PCR Kit. Las 125 muestras que tuvieron un resultado negativo con el *artus* CMV TM PCR Kit tuvieron también un resultado negativo con el COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test. Se obtuvieron 18 resultados discordantes. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4: Resultados del estudio de validación comparativo.

		COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test		
		+	-	Total
<i>artus</i> CMV TM PCR Kit	+	11	18	29
	-	0	125	125

Si se toman como referencia los resultados del COBAS AMPLICOR CMV MONITOR Test, la sensibilidad diagnóstica de todas las muestras del *artus* CMV TM PCR Kit es del 100%, mientras que la especificidad diagnóstica es del 87,4%.

Un posterior análisis de las 18 muestras con resultados discordantes confirmó los resultados de los *artus* PCR Kit. Por consiguiente, cabe suponer que la discrepancia se basa en la mayor sensibilidad del *artus* CMV TM PCR Kit.

---

## 12. Limitaciones del uso del producto

- Todos los reactivos deben utilizarse exclusivamente para el diagnóstico *in vitro*.
- Este producto debe ser utilizado exclusivamente por personal que haya recibido 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 cebadores del kit y/o de la sonda 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.

## 13. Información de seguridad

Cuando trabaje con productos químicos, use siempre una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección adecuados. Para obtener más información, consulte las hojas de datos sobre seguridad (Safety Data Sheet, SDS) correspondientes. Puede obtenerlas en línea en el práctico y compacto formato PDF en [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) donde también podrá encontrar, consultar e imprimir las SDS de todos los kits y componentes de los kits QIAGEN®.

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

---

## 14. Control de calidad

En cumplimiento del sistema de gestión de calidad total de QIAGEN, cada lote del *artus* CMV TM PCR Kit se analiza en relación con las especificaciones predeterminadas para garantizar la uniformidad de la calidad de los productos.

## 15. Referencias

Mackay IM. Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004; 10 (3): 190 – 212.

## 16. Explicación de los símbolos



Fecha de caducidad



Código de lote



Fabricante



Número de referencia



Número de material



Número mundial de artículo comercial



<N>

Contenido suficiente para <n> ensayos



Limitación de temperatura

**QS**

*Estándar de cuantificación*

**IC**

*Control interno*

## 17. Información para pedidos

Producto	Contenido	N.º de catálogo
<i>artus</i> <sup>®</sup> CMV TM PCR Kit (24)	Para 24 reacciones: 2 mezclas maestras, 4 estándares de cuantificación, control interno y agua (de calidad para PCR)	4503163
<i>artus</i> <sup>®</sup> CMV TM PCR Kit (96)	Para 96 reacciones: 8 mezclas maestras, 4 estándares de cuantificación, 2 controles internos y agua (de calidad para PCR)	4503165
QIAamp <sup>®</sup> DSP Virus Kit (50)	Para 50 preparaciones: Columnas de centrifugación QIAamp MinElute <sup>®</sup> , tampones, reactivos, tubos, extensores de columna y conectores VacConnectors	60704

Para obtener información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual o la guía del usuario del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales y los manuales 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 a su distribuidor local.

---

Notas

---

Notas

---

Notas

## Historial de revisiones del documento

R4 11/2018	Especificaciones de la versión de CC actualizadas para IC. Se ha añadido el apartado Información para pedidos. Actualizaciones de diseño.
---------------	---

Acuerdo de licencia limitada para el Manual del *artus* CMV TM PCR Kit

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

1. El producto debe utilizarse exclusivamente de acuerdo con los protocolos proporcionados con el producto y este manual de uso, así como con los componentes contenidos en el kit. QIAGEN no ofrece licencia alguna bajo ninguna de sus propiedades intelectuales para utilizar o incorporar los componentes suministrados en este kit con componentes no incluidos en el mismo, excepto según se describe en los protocolos proporcionados con el producto, este manual de uso y otros protocolos disponibles en [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Algunos de estos protocolos adicionales han sido proporcionados por usuarios de QIAGEN para usuarios de QIAGEN. QIAGEN no ha probado ni optimizado estos protocolos en profundidad. Por ello, QIAGEN no los garantiza ni asegura que no infrinjan los derechos de terceros.
2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, QIAGEN no garantiza que este kit y/o su uso no infrinjan los derechos de terceros.
3. Este kit y sus componentes tienen licencia para un solo uso y no se pueden reutilizar, reacondicionar ni revender.
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 llevar a cabo ni permitir que otros lleven a cabo medidas que puedan conducir a acciones prohibidas en las especificaciones anteriores o que puedan 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 gastos judiciales, incluidas las costas procesales, 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/o con sus componentes.

Para consultar los términos actualizados de la licencia, visite [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Marcas comerciales: QIAGEN®, QIAamp®, *artus*® (QIAGEN Group); ABI PRISM® (Applied Biosystems); AMPLICOR®, COBAS®, MONITOR® (Roche Diagnostics GmbH); FAM™, GeneAmp®, JOETM, MicroAmp®, ROXTM, VIC® (Life Technologies).

Los nombres registrados, las marcas comerciales, etc. utilizados en este documento, incluso cuando no aparecen marcados como tales, están protegidos por la legislación.

11/2018 HB-0069-006 1115297ES © 2018 QIAGEN. Reservados todos los derechos.

---

Pedidos [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Asistencia técnica [support.qiagen.com](mailto:support.qiagen.com) | Sitio web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)