

Octubre 2017

# Manual del kit *artus*<sup>®</sup> T. vaginalis QS-RGQ



Versión 1

Para utilizar con los instrumentos

QIASymphony<sup>®</sup> SP/AS y Rotor-Gene<sup>®</sup> Q

IVD

CE

REF

4571366



QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANIA

R1 MAT

1102416ES

---

# Contenido

Uso previsto .....	5
Resumen y descripción .....	5
Información sobre el patógeno.....	5
Principios del procedimiento .....	8
Materiales suministrados .....	9
Contenido del kit.....	9
Materiales necesarios pero no suministrados .....	10
Reactivos, materiales y consumibles para la preparación y la recogida de muestras .....	10
Adaptadores para QIASymphony SP .....	10
Reactivos y consumibles para QIASymphony SP.....	10
Adaptadores y soportes para reactivos para QIASymphony AS .....	11
Reactivos y consumibles para QIASymphony AS .....	12
Equipo .....	12
Advertencias y precauciones.....	13
Advertencias.....	13
Precauciones.....	14
Almacenamiento y manipulación de reactivos.....	16
Componentes del kit .....	16
Procedimiento .....	17
Recogida, almacenamiento y transporte de las muestras.....	17
Muestras vaginales y endocervicales .....	17

---

Orina (muestras de hombres y mujeres) .....	18
Almacenamiento de las muestras .....	18
Transporte de las muestras .....	18
Preparación de las muestras .....	19
Detección de ADN específico de <i>T. vaginalis</i> .....	20
Controles.....	21
Control positivo.....	21
Control negativo .....	21
Controles de proceso de muestras.....	21
Preparación del ARN transportador y del control interno (T. Vaginalis IC).....	22
Cálculo de la mezcla mediante la función “IC Calculator” .....	24
Juegos de controles de ensayo y conjuntos de parámetros de ensayo.....	24
Protocolo: Aislamiento del ADN y preparación de los ensayos en los instrumentos QIASymphony SP/AS .....	25
Cuestiones importantes antes de comenzar .....	25
Cosas que hacer antes de comenzar .....	26
Procedimiento .....	27
Protocolo: PCR en el instrumento Rotor-Gene Q.....	43
Cuestiones importantes antes de comenzar .....	43
Cosas que hacer antes de comenzar .....	43
Procedimiento .....	44
Interpretación de los resultados .....	48
Limitaciones .....	55
Control de calidad.....	55

---

Características de rendimiento .....	56
Límite de detección .....	56
Reactividad analítica (inclusividad) .....	57
Reactividad cruzada e interferencia microbiana.....	60
Precisión y reproducibilidad totales .....	63
Arrastre.....	66
Sustancias interferentes .....	66
Evaluación del rendimiento diagnóstico .....	70
Análisis discordante.....	76
Referencias .....	79
Símbolos .....	81
Guía para la resolución de problemas .....	84
Información para pedidos.....	91

## Uso previsto

El kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ es un ensayo de reacción en cadena de la polimerasa (polymerase chain reaction, PCR) en tiempo real e in vitro para la detección cualitativa directa de ADN de *Trichomonas vaginalis* en muestras vaginales, endocervicales y de orina (masculinas y femeninas) recogidas por un médico de pacientes sintomáticos y asintomáticos como ayuda en el diagnóstico de la tricomoniasis. Esta prueba diagnóstica ha sido desarrollada para la amplificación y detección de dianas con los instrumentos QIASymphony SP/AS y Rotor-Gene Q.

## Resumen y descripción

El kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ constituye un sistema listo para usar para la detección de ADN de *T. vaginalis* mediante la técnica de PCR en los instrumentos Rotor-Gene Q, con la preparación de las muestras y del ensayo en los instrumentos QIASymphony SP y AS.

## Información sobre el patógeno

La tricomoniasis es una infección de transmisión sexual (ITS) causada por el protozoo móvil *T. vaginalis*. Es una ITS frecuente (1, 2) y la Organización Mundial de la Salud sitúa la incidencia mundial de la infección por tricomoniasis en más de 170 millones de casos al año (3).

La alta prevalencia mundial de la infección por *T. vaginalis* y la coinfección con otras ITS hacen que la tricomoniasis sea un problema de salud pública importante. Las investigaciones han demostrado que la infección por *T. vaginalis* aumenta el riesgo de transmisión del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) tanto en hombres como en mujeres (1, 4). La tricomoniasis también se relaciona con desenlaces adversos del embarazo, infertilidad, infecciones posoperatorias y neoplasia cervicouterina (5).

---

La infección por *T. vaginalis* es una de las tres causas principales de aparición de vaginitis (6). Las mujeres con tricomoniasis pueden ser asintomáticas o pueden presentar varios síntomas, como una secreción vaginal espumosa de color amarillo verdoso o una irritación vaginal. Los hombres con tricomoniasis pueden presentar uretritis no gonocócica, pero normalmente son asintomáticos (6). Se cree que la tricomoniasis está ampliamente infradiagnosticada debido a diversos factores, como la falta de pruebas sistemáticas (2), la baja sensibilidad de la técnica de diagnóstico de microscopia en fresco utilizada frecuentemente (6, 7, 8) y la sintomatología inespecífica. Las otras dos causas más frecuentes de la secreción vaginal son el crecimiento excesivo de bacterias anaerobias en la microflora habitual y la candidosis causada por la infección por *Candida albicans* (6).

En las mujeres, la *T. vaginalis* se aísla en la vagina, el cuello uterino, la uretra, la vejiga y las glándulas de Bartolino y Skene. En los hombres, el microorganismo se encuentra en la uretra anterior, los genitales externos, la próstata, el epidídimo y el semen.

El ser humano es el único anfitrión conocido de la *T. vaginalis* y la transmisión se produce principalmente a través del coito. El microorganismo generalmente se aísla en las secreciones vaginales en mujeres y en las secreciones de la uretra en hombres. No se ha aislado en las zonas bucales y la prevalencia rectal parece ser baja en hombres que mantienen relaciones sexuales con hombres (5).

Los síntomas de la tricomoniasis normalmente se presentan después de un periodo de incubación de 4 a 28 días (9, 10). Mientras que en las mujeres la infección puede persistir durante meses o incluso años, en los hombres suele ser autolimitada y generalmente dura menos de 10 días (11, 12, 13). Como tal, es poco frecuente ver un resultado positivo en la prueba de una muestra recogida en un hombre.

---

Entre los factores de riesgo de la infección por *T. vaginalis* se incluyen:

- | Tener una pareja nueva o varias
- | Tener antecedentes de ITS
- | Tener una ITS en la actualidad
- | Tener contacto sexual con una persona infectada
- | Mantener relaciones sexuales a cambio de dinero o drogas
- | Tomar drogas inyectables
- | No utilizar ningún anticonceptivo de barrera

Se recomienda efectuar la prueba de *T. vaginalis* en todas las mujeres que necesiten un tratamiento para la secreción vaginal, así como efectuar una prueba de detección sistemática de *T. vaginalis* en mujeres con un alto riesgo de ITS (9, 10). Las parejas sexuales de mujeres infectadas también deben recibir tratamiento. Tanto la mujer como su pareja deben abstenerse de mantener relaciones sexuales hasta que finalice el tratamiento farmacológico de la infección por *T. vaginalis* y no presenten síntomas. Las mujeres infectadas que son sexualmente activas tienen una alta tasa de reinfección. Por lo tanto, se debería considerar repetir las pruebas de detección sistemática pasados 3 meses desde que se recibió el tratamiento (9, 14, 15). En la actualidad, no se dispone de información sobre la repetición de las pruebas de detección sistemática en hombres.

El metronidazol oral sigue siendo el tratamiento de elección para la tricomoniasis. En los casos en que este fármaco de primera línea sea ineficaz, pueden usarse otros nitroimidazoles o dosis más altas de metronidazol. El metronidazol tópico y otros antibióticos no son eficaces y no deben usarse para tratar la tricomoniasis. En la mayoría de los casos, el tratamiento de la infección dura de 7 a 10 días. Las parejas sexuales de las personas infectadas por *T. vaginalis* también deben recibir tratamiento.

---

## Principios del procedimiento


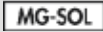



El kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ contiene reactivos y enzimas para la amplificación específica y la detección directa de una región de repetición múltiple en el ADN genómico de *T. vaginalis*. La diana de *T. vaginalis* se detecta mediante el canal de fluorescencia Cycling Green del instrumento Rotor-Gene Q.

Además, el kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ contiene un control interno (internal control, IC) exógeno que identifica una posible inhibición de la PCR y supervisa la integridad de los reactivos. El control interno se detecta en el canal de fluorescencia Cycling Orange del instrumento Rotor-Gene Q. De este modo se distingue el control interno de la diana de *T. vaginalis* detectada en el canal de fluorescencia Cycling Green.



# Materiales suministrados

## Contenido del kit

<b>artus T. vaginalis QS-RGQ Kit</b>			<b>(72)</b>
<b>Número de referencia</b>			<b>4571366</b>
<b>Número de reacciones</b>			<b>72</b>
Azul	T. vaginalis Master (Mezcla maestra T. vaginalis)		3 × 800 µl
Amarillo	T. vaginalis Magnesium Solution (Solución de magnesio T. vaginalis)		3 × 200 µl
Verde	T. vaginalis Internal Control (Control interno T. vaginalis)		3 × 500 µl
Rojo	T. vaginalis Positive Control (Control positivo T. vaginalis)		3 × 1500 µl
Blanco	T. vaginalis Negative Control (Control negativo T. vaginalis)		3 × 100 µl
	Handbook (Manual)		1

**Nota:** El contenido del kit *artus T. vaginalis QS-RGQ* es suficiente para 72 pruebas en uno, dos o tres lotes de 24 reacciones en el sistema QIA Symphony RGQ. El rotor del instrumento Rotor-Gene Q admite un máximo de 72 tubos de reacción.

# Materiales necesarios pero no suministrados

Antes de usar el producto, asegúrese de que los instrumentos hayan sido verificados y calibrados siguiendo las recomendaciones del fabricante. Este kit requiere el uso de QIASymphony SP y QIASymphony AS, el software QIASymphony versión 4.0 o superior y el instrumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM\* con Rotor-Gene AssayManager® versión 1.0.X, donde X es  $\geq 4$ .

## Reactivos, materiales y consumibles para la preparación y la recogida de muestras

- I eNAT® Collection Kit (kit eNAT® Collection) (300) que incluye tubo eNAT de 2 ml e hisopo FLOQSwab™ estándar en bolsa abrefácil y pipeta (ref. 4669848)
- I Recomendación: Materiales biológicos para controles positivos y negativos para procesamiento de muestras (consulte el apartado “Controles de proceso de muestras”, página 21)

## Adaptadores para QIASymphony SP

- I Elution Microtube Rack QS (gradilla para microtubos de elución QS) (adaptador de refrigeración, EMT, v2, Qsym, ref. 9020730) en combinación con el marco de transferencia de los instrumentos QIASymphony SP/AS
- I 13 mm Tube Insert 1A (inserto para tubos 1A de 13 mm) (ref. 9242058)
- I Optional 2.0 ml Tube Insert 3B (inserto para tubos 3B opcional de 2,0 ml) (ref. 9242083)

## Reactivos y consumibles para QIASymphony SP

- I QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi) (ref. 937055)

\* Los instrumentos Rotor-Gene Q 5plex HRM con fecha de producción de enero de 2010 o posterior pueden utilizarse como alternativa a los instrumentos Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM. La fecha de producción se puede obtener del número de serie situado en la parte posterior del equipo. El número de serie presenta el formato “mmaannn”, donde “mm” indica el mes de producción en dígitos, “aa” indica los dos últimos dígitos del año de producción y “nnn” indica el identificador exclusivo del equipo.

- | Buffer ATL (tampón ATL) (4 × 50 ml) (ref. 939016)
  - | 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 µl (puntas con filtro de 1500 µl) (ref. 997024)
  - | Filter-Tips, 200 µl (puntas con filtro de 200 µl) (ref. 990332)
  - | Elution Microtubes CL (microtubos de elución CL) (EMTR) (ref. 19588)
  - | Tip disposal bags (bolsas para la eliminación de puntas) (ref. 9013395)
  - | Microtubes 2.0 ml Type H, without skirted base (microtubos 2,0 ml de tipo H sin base de apoyo) (ref. 72 693) o Microtubes 2.0 ml Type I, with skirted base (microtubos 2,0 ml de tipo I con base de apoyo) (Sarstedt®, ref. 72 694) para uso con control interno
  - | Tubes 14 ml, 17 × 100 mm polystyrene round-bottom (tubos de poliestireno de fondo redondeado de 14 ml de 17 × 100 mm) (Corning®, ref. 352051) para uso con muestras y control interno
- Nota:** BD™ fue el proveedor anterior de este tubo
- | Empty eNAT Tube (tubo vacío eNAT) (p. ej., un tubo no lleno de medio de transporte eNAT), 12 × 80 mm, para cargar T. vaginalis Positive Control (control positivo T. vaginalis) (ref. 4670002)
  - | Screw-Cap for eNAT Tube (tapón de rosca para tubo eNAT), 12 mm, para cerrar el eNAT Collection Tube (tubo de recogida eNAT) (ref. 4670003)

## Adaptadores y soportes para reactivos para QIA Symphony AS

- | Reagent holder 1 QS (soporte para reactivos 1 QS) (adaptador de refrigeración, soporte para reactivos 1, Qsym, ref. 9018090)
- | RG Strip Tubes 72 QS (tubos en tira RG 72 QS) (adaptador de refrigeración, tubos en tira RG 72, Qsym, ref. 9018092)

## Reactivos y consumibles para 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 de 2 ml, Qsym AS) (ref. 997102)
- | Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (tubos cónicos de 5 ml, Qsym AS) (ref. 997104)
- | Filter-Tips, 1500  $\mu$ l (puntas con filtro de 1500  $\mu$ l) (ref. 997024)
- | Filter-Tips, 200  $\mu$ l (puntas con filtro de 200  $\mu$ l) (ref. 990332)
- | Filter-Tips, 50  $\mu$ l (puntas con filtro de 50  $\mu$ l) (ref. 997120)
- | Tip disposal bags (bolsas para la eliminación de puntas) (ref. 9013395)

## Equipo

- | Pipetas ajustables\* y puntas de pipeta estériles especiales con filtros
- | Agitador vorticial
- | Centrifugadora de mesa con rotor para tubos de reacción de 2 ml
- | Instrumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM<sup>†</sup> y Rotor-Gene AssayManager versión 1.0.X, donde X es  $\geq 4$
- | QIASymphony SP (ref. 9001297) o QIASymphony AS (ref. 9001301) y software QIASymphony versión 4.0 o superior

\* Compruebe que las pipetas hayan sido verificadas y calibradas siguiendo las recomendaciones del fabricante.

<sup>†</sup> Los instrumentos Rotor-Gene Q 5plex HRM con fecha de producción de enero de 2010 o posterior pueden utilizarse como alternativa a los instrumentos Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM. La fecha de producción se puede obtener del número de serie situado en la parte posterior del equipo. El número de serie presenta el formato "mmaannn", donde "mm" indica el mes de producción en dígitos, "aa" indica los dos últimos dígitos del año de producción y "nnn" indica el identificador exclusivo del equipo.

# Advertencias y precauciones

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Lea atentamente todas las instrucciones antes de utilizar la prueba.

Si desea obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad (safety data sheets, SDS) correspondientes. Puede obtenerlas en línea en el práctico y compacto formato PDF en [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), en donde también podrá buscar, ver e imprimir las fichas de datos de seguridad de todos los kits y componentes de los kits QIAGEN.

Para obtener información sobre seguridad relativa al kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi, consulte el manual de instrucciones de uso del kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen (*QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit Instructions for Use [Handbook]*) que se entrega con este kit. Para obtener información sobre seguridad relativa a los instrumentos, consulte el manual del usuario de QIASymphony RGQ MDx (*QIASymphony RGQ MDx User Manual*) y el manual de usuario del complemento Epsilon (*Epsilon Plug-in User Manual*).

## Advertencias

- I Siempre que trabaje con productos químicos, utilice una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras.
- I El uso de este producto está limitado a personal especialmente formado y cualificado en las técnicas de PCR en tiempo real y en procedimientos de diagnóstico *in vitro*.
- I Las muestras deben tratarse siempre como infecciosas y de riesgo biológico conforme a los procedimientos de seguridad del laboratorio.
- I Use guantes protectores desechables sin talco, una bata de laboratorio y protección para los ojos cuando manipule muestras.

- 
- I Evite la contaminación microbiana y con nucleasas (ADNasa/ARNasa) de la muestra y de los componentes del kit.
  - I Use siempre puntas de pipeta desechables libres de ADNasa/ARNasa con filtros para aerosoles.
  - I Use siempre guantes protectores desechables sin talco cuando manipule los componentes del kit.
  - I Use áreas de trabajo separadas y segregadas para la preparación de las muestras, la preparación de las reacciones y las actividades de amplificación/detección. El flujo de trabajo en el laboratorio debe tener lugar de manera unidireccional. Use siempre guantes desechables en cada área y cámbieselos antes de entrar en un área diferente.
  - I Dedique suministros y equipos específicamente a las áreas de trabajo separadas y no los lleve de un área a otra.
  - I Almacene el material positivo o potencialmente positivo separado de los demás componentes del kit.
  - I Debe evitarse efectuar ciclos repetidos de descongelación y congelación, ya que pueden reducir el rendimiento del ensayo.
  - I No abra los tubos de reacción después de la amplificación con objeto de evitar la contaminación con amplicones.
  - I Pueden analizarse controles adicionales conforme a las directrices o requisitos de las normativas locales o nacionales o de los organismos de acreditación.
  - I No use componentes del kit cuya fecha de caducidad haya pasado.
  - I Elimine los desechos de las muestras y del ensayo de conformidad con la normativa local en materia de seguridad.

## Precauciones

- I Asegúrese de prerrefrigerar a 2-8 °C los adaptadores requeridos.
- I Trabaje con rapidez y mantenga los reactivos de PCR en hielo o en el bloque de refrigeración antes de colocarlos en el instrumento.

- 
- | Descongele por completo todos los componentes a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de comenzar un ensayo.
  - | Utilice puntas de pipeta estériles con filtros.
  - | Durante los pasos manuales, mantenga los tubos cerrados siempre que sea posible y evite la contaminación.
  - | Una vez descongelados, mezcle los componentes (mediante pipeteo ascendente y descendente repetido o mediante agitación vorticial intermitente) y centrifugue brevemente. Asegúrese de que no haya espuma ni burbujas en los tubos de reactivos.
  - | Proceda sin pausa de una parte del flujo de trabajo a la siguiente. El tiempo de transferencia entre el instrumento QIASymphony AS y el instrumento Rotor-Gene Q no debe ser superior a 30 minutos.
  - | Todos los reactivos colocados en el instrumento QIASymphony AS son válidos para utilizarse únicamente en esa serie. No utilice los componentes residuales para una segunda PCR.
  - | No mezcle ni combine componentes de kits que tengan distintos números de lote.
  - | Siga las precauciones universales en materia de seguridad. Todas las muestras de pacientes deben considerarse potencialmente infecciosas y manipularse en correspondencia.
  - | Asegúrese de que se ha realizado el mantenimiento y se han vuelto a colocar las piezas reemplazables, como los protectores de puntas.
  - | Asegúrese de que están instalados los archivos de proceso de la aplicación y los complementos de Rotor-Gene AssayManager necesarios. Si no están instalados, consulte el manual del usuario correspondiente o póngase en contacto con el servicio técnico o el servicio de atención al cliente de QIAGEN.

---

# Almacenamiento y manipulación de reactivos

## Componentes del kit

Los componentes del kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ deben conservarse a una temperatura de  $-15\text{ °C}$  a  $-30\text{ °C}$  y son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. No descongele y congele los componentes más de tres veces, ya que esto podría reducir el rendimiento del ensayo. Todos los reactivos colocados en el instrumento QIASymphony AS son válidos para utilizarse únicamente en esa serie. No vuelva a utilizar los componentes residuales en una segunda PCR.



# Procedimiento

## Recogida, almacenamiento y transporte de las muestras

Se pueden utilizar muestras vaginales y endocervicales y muestras de orina de humanos con el kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ.

Las muestras deben recogerse con un kit eNAT Collection que incluya tubo eNAT de 2 ml e hisopo FLOQSwab estándar en bolsa abrefácil y pipeta.

### Muestras vaginales y endocervicales

1. Cada muestra vaginal/endocervical es recogida por un médico con un hisopo estéril incluido en el kit eNAT Collection.
2. Desenrosque y retire el tapón del tubo lleno con 2 ml de medio eNAT asépticamente. Tras recoger la muestra vaginal/endocervical, inserte el FLOQSwab en el tubo y doble la varilla del hisopo por el punto de rotura ejerciendo presión contra el tubo para romperla. Deseche la parte rota del mango de la varilla del hisopo en un recipiente aprobado para la eliminación de residuos médicos.

**Nota:** Al manipular el aplicador del hisopo durante la recogida de muestras, el operador no debe tocar el área situada debajo de la línea marcada indicadora del punto de rotura, ya que esto causará la contaminación de la varilla del aplicador y, por tanto, invalidará los resultados de la prueba. No aplique una fuerza o presión excesiva ni doble excesivamente al recoger muestras de hisopo, ya que esto podría causar la rotura accidental de la varilla del hisopo.

3. Vuelva a colocar el tapón en el tubo y ciérrelo bien. La acción de enroscado del tapón en el tubo mueve el extremo de la varilla rota del hisopo a un receptáculo de acoplamiento moldeado con forma de embudo del tapón. Este embudo moldeado captura el extremo de la varilla rota del aplicador y la fija firmemente en el receptáculo de acoplamiento mediante sujeción por fricción.

4. Escriba la información del paciente en la etiqueta del tubo o ponga la etiqueta de identificación del paciente.

### Orina (muestras de hombres y mujeres)

1. Cada muestra de orina es recogida por el paciente (primeros 20-30 ml del chorro de orina) y luego transferida al médico.
2. Desenrosque y retire el tapón del tubo lleno con 2 ml de medio eNAT asépticamente. Utilice la pipeta suministrada con el kit para transferir 4 ml de la muestra de orina al tubo eNAT en dos pasos de transferencia independientes de 2 ml.

**Nota:** Al transferir la muestra de orina, el operador no debe tocar la parte inferior a la pera de la pipeta de transferencia, ya que esto contaminará la pipeta e invalidará los resultados de la prueba.

3. Vuelva a colocar el tapón en el tubo y ciérrelo bien.
4. Escriba la información del paciente en la etiqueta del tubo o ponga la etiqueta de identificación del paciente.

### Almacenamiento de las muestras

Las muestras en eNAT, incluido el tiempo necesario para el transporte, son estables a 4-22 °C ( $\pm 2$  °C) hasta 4 semanas para la prueba *artus T. vaginalis* QS-RGQ.

### Transporte de las muestras

Al cabo de 1 semana de la recogida de muestras, envíelas en un medio de transporte irrompible. Envíe las muestras de hisopo y de orina etiquetadas de acuerdo con las instrucciones legales para el transporte de material patógeno.\*

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

---

## Preparación de las muestras

1. Mezcle bien cada muestra en el tubo eNAT con un agitador vorticial durante 10-15 segundos a alta velocidad.

**Nota:** Si no se dispone de un agitador vorticial, invierta los tubos eNAT 20 veces para mezclar la muestra.

2. Coloque los tubos eNAT (de orina o hisopo) en un portatubos del QIASymphony SP con un inserto para tubos 1A.
3. Retire y deseche con cuidado el tapón de cada muestra (orina) o el tapón y el hisopo (vaginal o endocervical, usando el tapón del tubo como mango) en cada muestra cargada en el portatubos y, a continuación, cárguela en el QIASymphony SP como se describe en "Protocolo: Aislamiento del ADN y preparación de los ensayos en los instrumentos QIASymphony SP/AS", página 25.

**Nota:** Cuando se desenrosca y se retira el tapón del tubo eNAT, la varilla del aplicador del hisopo está fijada firmemente al tapón. Esta característica permite al operador extraer cómodamente el hisopo utilizando el tapón del tubo como mango para sujetar y manipular el hisopo.

4. Una vez finalizado el protocolo de aislamiento de ADN y preparación del ensayo en el sistema QIASymphony SP/AS, vuelva a cerrar el tubo eNAT con un tapón nuevo de 12 mm y consérvelo a 4 °C por si fuera necesario repetir la prueba (consulte "Interpretación de los resultados", página 48).

## Detección de ADN específico de *T. vaginalis*

**Tabla 1. Información general**

<b>Kit</b>	<b><i>artus T. vaginalis</i> QS-RGQ Kit (kit <i>artus T. vaginalis</i> QS-RGQ) (ref. 4751366)</b>
Material de muestra	Orina humana, muestra vaginal humana o muestra endocervical humana recogida en el tubo eNAT, precargado con un medio eNAT de 2 ml
Purificación inicial	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi) (ref. 937055)
Volumen de muestra (incluido el volumen sobrante)	2000 µl para muestras vaginales o endocervicales 6000 µl para muestras de orina 1500 µl para el control positivo
Conjunto de parámetros de ensayo	artus_T.vag_swab/urine_V1
Juego de controles del ensayo predeterminado	Complex_T.vaginalis_V1
Volumen de elución	60 µl
Versión del software QIASymphony	Versión 4.0 o superior
Perfil de configuración del QIASymphony SP/AS	Default Profile 1 (Perfil predeterminado 1)
Volumen de mezcla maestra	25 µl
Volumen de molde	15 µl
Número de reacciones	24-72* (incluidos todos los controles)
Tiempo de procesamiento en el módulo QIASymphony SP/AS	Aproximadamente 105 minutos para 24 reacciones Aproximadamente 305 minutos para 72 reacciones
Tiempo de procesamiento en el instrumento Rotor-Gene Q	Aproximadamente 100 minutos

\* Asegúrese de no superar el límite de 72 reacciones y 1 adaptador de gradilla de ensayos. Evite un tiempo de incubación prolongado (> 30 minutos) entre el final de la serie de ensayo y la transferencia al instrumento Rotor-Gene Q.

---

## Controles

### Control positivo

El control positivo *T. vaginalis* (suministrado con el kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ) vigila la eficiencia de la preparación de las muestras y de la posterior amplificación de la PCR. Este control positivo se carga en el instrumento QIAAsymphony SP antes de la purificación del ADN (consulte la página 32 para obtener más información sobre la carga del control positivo).

### Control negativo

El control negativo *T. vaginalis* (denominado "NTC", por "no template control" [control sin molde], en el software QIAAsymphony) se carga en el instrumento QIAAsymphony AS antes de la amplificación en lugar de una muestra extraída y permite supervisar la posible contaminación de la PCR (consulte la página 32, para obtener más información sobre la carga del control negativo).

### Controles de proceso de muestras

Deben analizarse sistemáticamente cepas de control positivo y negativo en cada laboratorio conforme a las directrices o a los requisitos establecidos por la normativa local o nacional o por los organismos de acreditación para supervisar el rendimiento total del proceso. El control de proceso de muestras positivo (Positive Specimen Process Control, PSPC) se utiliza para supervisar todo el proceso. El control de proceso de muestras negativo (Negative Specimen Process Control, NSPC) detecta la contaminación del reactivo o la contaminación ambiental por ADN de *T. vaginalis*. Como control de proceso de muestras positivo, se recomienda utilizar una muestra negativa vaginal o de orina inoculada con aproximadamente  $1 \times 10^3$  tricomonádidas/ml de *T. vaginalis* (por ejemplo, American Type Culture Collection, ATCC® 30001) o una cepa clínica bien caracterizada de *T. vaginalis*. Asimismo, como control de proceso de muestras negativo, se recomienda utilizar una muestra negativa vaginal o de orina inoculada con aproximadamente  $1 \times 10^5$  tricomonádidas/ml de *Pentatrichomonas hominis* (por ejemplo, ATCC 30000) o cualquier otro organismo que no sea *T. vaginalis*. Al utilizar un kit eNAT Collection, cada

---

muestra de PSPC y NSPC debe transferirse a un tubo eNAT etiquetado con un FLOQSwab para muestras vaginales/endocervicales o a la pipeta para muestras de orina antes de cargarla en el portatubos de QIASymphony SP. Los controles del proceso de muestras deben analizarse en el QIASymphony de la misma manera que las muestras de ensayo. Si desea obtener más información sobre la carga de muestras de ensayo, consulte la página 34.

## Preparación del ARN transportador y del control interno (T. Vaginalis IC)

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

El control interno (T. vaginalis IC), suministrado con el kit *artus* T. vaginalis QS-RGQ, debe añadirse a la mezcla de ARN transportador (CARRIER)-tampón AVE (AVE). El volumen total de la mezcla de control interno-ARN transportador (CARRIER)-tampón AVE (AVE) es de 120 µl por muestra.

Para preparar la mezcla de ARN transportador (CARRIER)-tampón AVE (AVE), agregue 1350 µl de tampón AVE (AVE), suministrado con el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi, para poner de nuevo en suspensión el ARN transportador (CARRIER) liofilizado. Invierta el tubo 20 veces para mezclar su contenido.

Para calcular el control interno (IC) se empleará la función "IC Calculator" (Calculadora del IC) del programa QIASymphony Management Console (QMC).

La tabla 2 representa la preparación del control interno por muestra en una razón de 0,1 µl por 1 µl de volumen de elución. Recomendamos preparar mezclas frescas para cada serie justo antes del uso.

**Tabla 2. Preparación del ARN transportador y del control interno (*T. vaginalis* IC)**

Componente	Reacciones	
	Volumen (µl) para n ≤ 13 en tubos Sarstedt*	Volumen (µl) para n > 13 en tubos BD†
ARN transportador (CARRIER) de partida	$(n + 3) \times 3$	$(n + 5) \times 3$
Control interno (control interno de <i>T. vaginalis</i> )	$(n + 3) \times 9$	$(n + 5) \times 9$
Tampón AVE	$(n + 3) \times 108$	$(n + 5) \times 108$
Volumen final por muestra (excluido el volumen muerto)	120	120
Volumen total para n muestras	$(n + 3) \times 120$	$(n + 5) \times 120$

\* Microtubos de 2,0 ml de tipo H o microtubos de 2,0 ml de tipo I (Sarstedt, ref. 72 693 y 72 694). Si se prepara el control interno como solución de partida en un tubo más grande, multiplique el volumen total de cada componente por el número de tubos de control interno utilizados.

Se requiere una mezcla de control interno correspondiente a 3 muestras adicionales (es decir, 360 µl). No debe superarse un volumen total de llenado de 1,92 ml (que corresponde a un máximo de 13 muestras). Si se utilizan más de 13 reacciones en microtubos de 2,0 ml, prepare las reacciones en un tubo más grande y cárguelas en varios tubos. Asegúrese de que se añade para cada tubo el volumen sobrante necesario de 3 reacciones adicionales.

† Tubos de poliestireno de fondo redondeado de 14 ml de 17 × 100 mm (Corning, ref. 352051). BD era el proveedor anterior de estos tubos; Corning, Inc. es el nuevo proveedor). Se requiere una mezcla de control interno correspondiente a 5 muestras adicionales (es decir, 600 µl). No debe superarse un volumen total de llenado de 13,92 ml (que corresponde a un máximo de 111 muestras).

## Cálculo de la mezcla mediante la función "IC Calculator"

1. Abra el programa QMC.
2. Seleccione el icono IC Calculator.
3. Seleccione "Complex\_T.vaginalis\_V1" en la lista desplegable ACS.
4. Introduzca el número necesario de muestras.
5. Seleccione el material de laboratorio utilizado para el control interno.
6. Seleccione un volumen de elución de 60 µl.
7. Seleccione "Internal Control/Eluate" (Control interno/eluido) y "0.1 µl" para el modo de control interno.
8. Pulse "Calculate" (Calcular) para iniciar el cálculo de la mezcla de control interno.

El IC Calculator muestra los diferentes volúmenes de reactivos que deben mezclarse para la mezcla de control interno y el tipo de tubo que debe utilizarse en el lado derecho de la pantalla.

## Juegos de controles de ensayo y conjuntos de parámetros de ensayo

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

Los conjuntos de parámetros de ensayo son la combinación de una definición de ensayo con parámetros adicionales definidos, como el número de duplicados y el número de estándares de ensayo, para la preparación de los ensayos con el instrumento QIASymphony AS.

Para la serie integrada en los instrumentos QIASymphony SP/AS, el conjunto de parámetros del ensayo artus\_T.vag swab/urine\_V1 está directamente vinculado al juego de controles del ensayo Complex\_T.vaginalis\_V1 predeterminado, y se especifica el proceso de purificación de las muestras asociado.



## Protocolo: Aislamiento del ADN y preparación de los ensayos en los instrumentos QIASymphony SP/AS

### Cuestiones importantes antes de comenzar

- I Asegúrese de que sabe manejar bien los instrumentos QIASymphony SP/AS. Consulte los manuales del usuario que se entregan con los instrumentos y las versiones más actuales de los mismos disponibles *online* en [www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx](http://www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx) para ver las instrucciones de uso.
- I Descargue el paquete de la aplicación en "Protocol Files" (Archivos del protocolo) en la ficha "Resources" (Recursos) de la página del catálogo web del kit *artus* T. vaginalis QS-RGQ en [www.qiagen.com/products/artustvaginalisqsrqgitce](http://www.qiagen.com/products/artustvaginalisqsrqgitce).
- I Antes de usar un cartucho de reactivos (reagent cartridge, RC) por primera vez, asegúrese de que las disoluciones amortiguadoras QSL2 y QSB1 del RC no contengan un precipitado. En caso necesario, retire del RC los recipientes que contienen las disoluciones amortiguadoras QSL2 y QSB1 e incúbelos a 37 °C durante 30 minutos agitando de vez en cuando para disolver el precipitado. Asegúrese de volver a colocar los recipientes en las posiciones correctas. Si un RC ya está perforado, asegúrese de que los recipientes están sellados con tiras de sellado para reutilización e incube el RC durante 30 minutos a 37 °C agitándolo ocasionalmente en un baño de agua. \* Deje que se enfríen los reactivos a temperatura ambiente (15-25 °C).
- I Compruebe que el tampón ATL (ATL) no contenga un precipitado. Si se ha formado un precipitado, disuélvalo calentando el tampón a 70 °C al tiempo que se agita suavemente en un baño María. †† aspire las burbujas de la superficie y deje que se enfríe el tampón a temperatura ambiente (15-25 °C).
- I Evite agitar energicamente el cartucho de reactivos (reagent cartridge, RC) y el frasco de tampón ATL (ATL). De lo contrario, podría formarse espuma, que puede causar problemas para la detección del nivel de líquido.

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

- 
- I Trabaje con rapidez y mantenga los reactivos de PCR en hielo o en el bloque de refrigeración antes de colocarlos en el instrumento.
  - I Los volúmenes de reactivos están optimizados para 3 lotes de 24 reacciones por kit y por serie.
  - I Asegúrese de que los eluidos generados en la preparación de las muestras y todos los componentes del kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ no permanezcan en el QIASymphony SP/AS más del tiempo normal necesario para la purificación de las muestras y la preparación del ensayo para 72 muestras, incluido un tiempo de transferencia máximo de 30 minutos entre el instrumento QIASymphony AS y el instrumento Rotor-Gene Q.

**Nota:** No utilice una gradilla Elution Microtubes CL que se haya usado en un instrumento QIASymphony SP diferente. No introduzca manualmente un identificador de gradilla.

### Cosas que hacer antes de comenzar

- I Antes de cada uso, hay que descongelar completamente todos los reactivos de ensayo del kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ, mezclarlos (mediante pipeteado ascendente y descendente repetido o mediante agitación vorticial rápida) y centrifugarlos durante al menos 3 segundos. Evite que se formen burbujas o espuma en los reactivos.
- I Prepare todas las mezclas necesarias. Prepare las mezclas que contienen ARN (CARRIER) y los controles internos justo antes de comenzar. Para obtener más información, consulte el apartado “Preparación del ARN transportador y del control interno (*T. Vaginalis* IC)”, página 22.
- I Antes de comenzar una serie integrada, asegúrese de que todos los instrumentos estén limpios y de que se hayan colocado las piezas reemplazables (p. ej., protectores de puntas) tal como se describe en las instrucciones de mantenimiento del manual del usuario de QIASymphony SP/AS, apartado de descripción general (*QIASymphony SP/AS User Manual — General Description*), el manual del usuario de QIASymphony SP/AS, apartado de funcionamiento del QIASymphony SP (*QIASymphony SP/AS User Manual — Operating the QIASymphony SP*) y el manual del usuario de QIASymphony SP/AS, apartado de funcionamiento del QIASymphony AS (*QIASymphony SP/AS User Manual — Operating*

the QIASymphony AS), así como el manual del usuario de la QIASymphony Management Console (QIASymphony Management Console User Manual) suministrados. Asegúrese de realizar las tareas de mantenimiento con regularidad para reducir al mínimo el riesgo de contaminación cruzada.

- I Asegúrese de que está activo el perfil de proceso del QIASymphony "Default Profile 1" (Perfil predeterminado 1). El perfil seleccionado se muestra en la esquina inferior derecha de la pantalla táctil. Un usuario que haya iniciado la sesión como "Supervisor" puede cambiar el perfil en el menú "Configuration" (Configuración) de la ficha "Tools" (Herramientas).

## Procedimiento

### Preparación del cajón "Waste" (Desechos)

1. Cierre todos los cajones y las tapas del módulo QIASymphony SP/AS.
2. Encienda el instrumento. Espere hasta que aparezca la pantalla "Sample Preparation" (Preparación de las muestras) y haya finalizado el procedimiento de inicialización.

**Nota:** El botón de encendido está ubicado en la esquina inferior izquierda del módulo QIASymphony SP.

3. Inicie sesión en el QIASymphony.
4. Prepare el cajón "Waste" del módulo QIASymphony SP.
5. Abra el cajón "Waste".
6. Vacíe e instale el frasco de desechos líquidos. Asegúrese de retirar la tapa antes de colocar el frasco de desechos líquidos en el cajón.
7. Introduzca el conducto para puntas.

**Nota:** Deben utilizarse conductos para puntas diferentes para el uso en una mesa de trabajo y en el armario QIASymphony Cabinet SP/AS.

8. Introduzca la estación de almacenamiento de puntas.

9. Inserte cajas unitarias vacías (consulte la tabla 3 y la figura 1). Asegúrese de que hay al menos una caja unitaria vacía en la ranura 4 (la más próxima a usted).

10. Coloque una bolsa vacía para la eliminación de puntas.

**Nota:** La bolsa para eliminación de puntas vacía se instala debajo del cajón de desechos para el uso en una mesa de trabajo o en el contenedor de desechos para el uso en el armario QIA Symphony Cabinet SP/AS.

11. Cierre el cajón "Waste" y realice un examen de inventario.

**Tabla 3. Material de plástico necesario para 1-3 lotes de muestras**

	1 lote, 24 muestras	2 lotes, 48 muestras	3 lotes, 72 muestras
Cajas unitarias vacías	2	3	4



**Figura 1. Posición de las cajas unitarias**

---

### **Carga del cajón “Eluate”**

1. Coloque el adaptador Elution Microtubes Rack QS en el marco de transferencia.
2. Abra el cajón “Eluate” (Eluidos).
3. Coloque el adaptador y el marco de transferencia en la ranura 1 del cajón “Eluate”.
4. Seleccione “Elution Slot 1” (Ranura de elución 1) en la pantalla táctil.
5. Quite el fondo de una gradilla Elution Microtubes CL nueva girando la gradilla hasta que se suelte el fondo.
6. Escanee el código de barras de la gradilla Elution Microtubes CL por medio del escáner de códigos de barras de mano.
7. Inserte la gradilla Elution Microtubes CL en el adaptador en la ranura “Elution Slot 1”.
8. Quite la tapa de la gradilla Elution Microtubes CL.
9. Cierre el cajón “Eluate”.
10. Pulse “OK” (Aceptar).
11. Espere hasta que haya finalizado el examen.

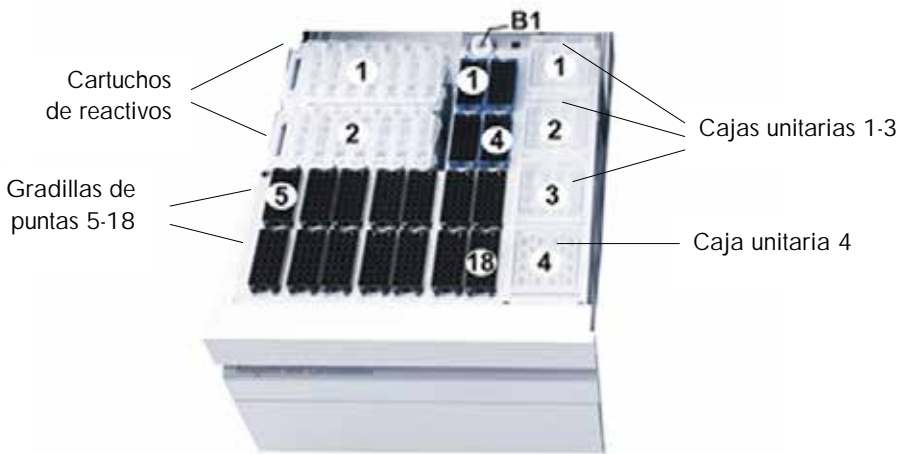
### **Preparación del cartucho de reactivos (RC).**

1. Coloque el cartucho de reactivos (RC) en el soporte del cartucho de reactivos gris.
2. Retire el recipiente que contiene las partículas magnéticas del cartucho de reactivos (RC).
3. Mezcle enérgicamente mediante agitación vorticial el recipiente que contiene las partículas magnéticas durante al menos 3 minutos para poner de nuevo en suspensión las partículas magnéticas.
4. Coloque de nuevo el recipiente que contiene las partículas magnéticas en el cartucho de reactivos (RC).
5. Retire la cubierta del recipiente que contiene las partículas magnéticas.
6. Retire los tapones de los tubos de enzimas y coloque dichos tapones en los soportes para tapones en el soporte del cartucho de reactivos gris.

7. Asegúrese de que los tubos de enzimas no contengan burbujas de aire. Si existen burbujas de aire, aspire las burbujas desde la superficie.
8. Monte la gradilla de enzimas (enzyme rack, ER) en el cartucho de reactivos (RC).
9. Monte la tapa de perforación (piercing lid, PL) en el cartucho de reactivos (RC) y presione suavemente hasta que encaje en posición (se oye un clic).

**Carga del cajón “Reagents and Consumables”**

1. Abra el cajón “Reagents and Consumables” (Reactivos y consumibles).
2. Coloque el cartucho o los cartuchos de reactivos preparados (RC) en las posiciones RC 1 y/o RC 2. Un cartucho de reactivos (RC) nuevo es suficiente para un máximo de 48 muestras.
3. Cierre el cajón “Reagents and Consumables”.
4. Pulse el botón “R+C” en la pantalla táctil.
5. Pulse el botón “Bottle ID” (Identificador del frasco).
6. Pulse el campo de texto y escanee el código de barras del frasco de tampón ATL (ATL) con el escáner de códigos de barras de mano.



**Figura 2. Posición de los reactivos y consumibles en el instrumento QIASymphony SP**

7. Abra el frasco de tampón ATL (ATL) y asegúrese de que no contiene un precipitado. Si el tampón ATL (ATL) contiene un precipitado, siga las instrucciones indicadas en la página 25.
8. Coloque el frasco del tampón ATL (ATL) en la posición B1.  
**Nota:** La posición B1 está junto a la ranura 1 del cartucho de reactivos (RC 1).  
**Nota:** Procure no agitar enérgicamente el frasco de tampón, ya que podría formarse espuma. Esto puede causar problemas para la detección del nivel de líquido.
9. Cargue un número suficiente de gradillas de puntas con filtro desechables de 200 µl en las posiciones 1-4 del soporte de gradillas de puntas (consulte la Tabla 4, página 32). Asegúrese de encajar en posición todas las gradillas (se oye un clic).  
**Nota:** Hay 32 puntas con filtro por gradilla de puntas.
10. Cargue un número suficiente de gradillas de puntas con filtro desechables de 1500 µl en las posiciones 5-18 del soporte de gradillas de puntas (consulte la Tabla 4, página 32). Asegúrese de encajar en posición todas las gradillas (se oye un clic).  
**Nota:** Hay 32 puntas con filtro por gradilla de puntas.  
**Recomendación:** Cargue un número superior al necesario de puntas con filtro de cada tamaño con objeto de disponer de suficientes puntas con filtro para la resolución automática de errores.
11. Quite la tapa de los cartuchos de preparación de muestras y cargue un número suficiente de cartuchos de preparación de muestras en las posiciones 1-3 del soporte de cajas unitarias (consulte la Tabla 4, página 32).  
**Nota:** Hay 28 cartuchos de preparación de muestras por caja unitaria.  
**IMPORTANTE:** Los consumibles de plástico pueden moverse durante el tránsito o el almacenamiento. Compruebe que todos los materiales de plástico estén correctamente alineados en el interior de la caja unitaria antes de cargarla en el instrumento QIASymphony SP.
12. Quite la tapa de las cubiertas para 8 barras y cargue un número suficiente de cubiertas para 8 barras en la posición 4 del soporte de cajas unitarias (consulte la Tabla 4, página 32).

**Nota:** Hay doce cubiertas para 8 barras por caja unitaria.

**IMPORTANTE:** Los consumibles de plástico pueden moverse durante el tránsito o el almacenamiento. Compruebe que todos los materiales de plástico estén correctamente alineados en el interior de la caja unitaria antes de cargarla en el instrumento QIASymphony SP.

13. Pulse “OK” en la pantalla de consumibles.

14. Cierre el cajón “Reagents and Consumables” y realice un examen de inventario.

**Tabla 4. Material de plástico necesario para los lotes de muestras**

	<b>1 lote, 24 muestras*</b>	<b>2 lotes, 48 muestras*</b>	<b>3 lotes, 72 muestras*</b>
Puntas con filtro desechables, 200 µl*†	34 (2 gradillas)	60 (2 gradillas)	86 (3 gradillas)
Puntas con filtro desechables, 1500 µl*†	123 (4 gradillas)	205 (7 gradillas)	295 (10 gradillas)
Cartuchos de preparación de muestras	18 (1 caja unitaria)	36 (2 cajas unitarias)	54 (2 cajas unitarias)
Cubiertas para 8 barras	3 (1 caja unitaria)	6 (1 caja unitaria)	9 (1 caja unitaria)

\* Para realizar más de un examen de inventario se requieren puntas con filtro desechables adicionales.

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

### **Carga del portatubos con controles**

1. Utilice un tubo eNAT vacío, 12 × 80 mm, que no contenga ningún medio de transporte y pipetee 1,5 ml del control positivo *T. vaginalis* suministrado con el kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ.

**IMPORTANTE:** Asegúrese de que el tubo eNAT utilizado en este paso esté vacío y no contenga ningún medio de transporte eNAT.



2. Coloque el tubo que tiene el control positivo *T. vaginalis* en la posición 1 del primer soporte de muestras.

**IMPORTANTE:** Asegúrese de cargar el control positivo en la posición correcta. Rotor-Gene AssayManager no importará el archivo de resultados si el control positivo está colocado en cualquier otra posición. No cargue el control positivo en soportes adicionales para el mismo lote AS.

**Nota:** La posición de las muestras y de los controles en la gradilla de ensayos puede visualizarse antes del comienzo de la serie. Una vez creado el lote AS (página 36), pulse el botón del cajón “Assays” (Ensayos) en la pantalla táctil y seleccione la ranura “Assay” (Ensayo) correspondiente. Se mostrará el tipo de muestra de cada posición (“Type” [Tipo]) si se pulsa el botón de conmutación “Sample” (Muestra).

3. Cargue el portatubos con controles de proceso de muestras si se utiliza en la serie (consulte la página 34 si desea obtener más información).
4. Abra un kit eNAT Collection para cada control de proceso de muestras. Tome un control de proceso de muestras positivo (PSPC) de *T. vaginalis* conocido o un control de proceso de muestras negativo (NSPC) de *T. vaginalis* y transfiera el PSPC o el NSPC en un tubo cargado con 2 ml de solución eNAT.
5. Cargue los controles de proceso de muestras para cada tipo de muestra de acuerdo con el paso a o b como se indica a continuación:
  - 5a. En el control de proceso de muestras para cada muestra (vaginal/endocervical) (PSPC y NSPC), desenrosque y retire el tapón del tubo eNAT. A continuación, uno por uno, transfiera ~0,1 ml de la muestra PSPC o NSPC a cada tubo utilizando el hisopo estéril para absorber (~0,1 ml) y transfiera la muestra al tubo eNAT y, a continuación, doble la varilla del hisopo en el punto de rotura ejerciendo presión contra el tubo para romper la varilla y sustituir el tapón. Invierta los tubos o mezcle para homogeneizar los controles de procesamiento de muestras en la solución eNAT. Desenrosque el tapón del tubo eNAT y retire la varilla del aplicador del hisopo que está fijada firmemente al tapón, antes de cargar los tubos en el portatubos de QIA Symphony SP.

5b. Para el control de proceso de muestras de cada muestra de orina (PSPC y NSPC), desenrosque y retire el tapón del tubo eNAT. A continuación, uno por uno, transfiera 4 ml (2 ml × 2 pasos de transferencia) de la muestra PSPC o NSPC en cada tubo eNAT mediante la pipeta y, a continuación, sustituya el tapón. Invierta los tubos o mezcle para homogeneizar los controles de procesamiento de muestras en la solución eNAT. Desenrosque y retire el tapón del tubo eNAT antes de cargar los tubos en el portatubos de QIA Symphony SP.

6. Coloque el tubo que contiene el control de proceso de muestras positivo (PSPC) conocido en la siguiente posición disponible, por ejemplo, la posición 2 del primer soporte de muestras.
7. Coloque el tubo que contiene el control de proceso de muestras negativo (NSPC) conocido en la siguiente posición disponible, por ejemplo, la posición 3 del primer soporte de muestras.

**Nota:** Los controles de proceso de muestras se analizarán como muestras estándar. Aunque los resultados se notificarán para cada PSPC y NSPC, un resultado incorrecto no invalidará automáticamente la serie por parte de Rotor Gene AssayManager. Los resultados de todos los controles de proceso completo requieren la interpretación del usuario.

**Nota:** Si la serie de la muestra contiene muestras vaginales/endocervicales y muestras de orina, se pueden incluir PSPC y NSPC en representación de todos los tipos de muestras. Los controles de proceso completo adicionales se pueden colocar en las siguientes posiciones disponibles, por ejemplo, las posiciones 4 y 5 del primer soporte de muestras.

### Carga del cajón "Sample" con las muestras

1. Cargue muestras preparadas (consulte la página 19) en tubos eNAT en el portatubos de muestras que ya contiene los controles.
2. En caso necesario, prepare más portatubos de muestras de la misma forma, pero sin controles. No añada más controles a los portatubos de muestras para combinarlos en el mismo lote AS.

**Nota:** Si las muestras contienen códigos de barras, oriéntelas en el portatubos de manera que los códigos de barras sean completamente visibles.

3. Compruebe que los tubos de muestras y de controles estén correctamente cargados y encajados en posición (se oye un clic).

4. Introduzca todos los soportes de muestras en las ranuras 1-4 del cajón "Sample" (Muestra). (El diodo luminoso se ilumina en color naranja si la carga es correcta).

**Nota:** Cargue primero en la ranura 1 el portatubos de muestras que contiene los controles y las muestras. No cargue más de 71 muestras y controles en una misma serie. Un control negativo (NTC), que debe cargarse en el instrumento QIASymphony AS, causará una reacción adicional y, por tanto, requiere una posición de salida.

5. Mediante la configuración "Integrated run" (Serie integrada) en la pantalla táctil del QIASymphony, introduzca la información requerida para cada lote de muestras que se vaya a procesar.

6. Pulse la ficha "Integrated Run" en la pantalla táctil.

7. Pulse "Define run" (Definir serie).

8. Seleccione "SP Batch 1" (Lote SP 1) (o el número de lote apropiado del soporte de muestras con "Full Process Controls" [Controles de proceso completo], si se realiza una carga continua).

9. Pulse "Edit samples" (Editar muestras).

**Nota:** Asegúrese de que se ha asignado a las muestras el material de laboratorio correcto ("COP#606C eNAT Tube"). En caso necesario, corrija la asignación del material de laboratorio.

10. Pulse "ID/Type" (Identificador/tipo).

11. Seleccione la primera posición y pulse "Sample ID" (Identificador de muestra).

12. Pulse el campo de texto y escriba "T. vaginalis Positive Control" (Control positivo T. vaginalis); a continuación, pulse "OK".

13. Seleccione la primera posición y pulse "EC+" (control externo positivo).

14. En caso necesario, resuelva los errores de códigos de barras que pueda haber en relación con los identificadores de muestras e insertos.

15. Pulse "OK".

**IMPORTANTE:** No asigne el tipo de muestra "EC+" a tubos que no contengan el control positivo suministrado con el kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ. Rotor-Gene AssayManager rechazará las series que tengan patrones de controles incorrectos. No asigne el tipo de muestra "EC+" al control de proceso de muestras positivo (PSPC). No asigne el tipo de muestra "EC-" al control de proceso de muestras negativo (NSPC). Asegúrese de que el tipo de muestra "Sample" se asigne a PSPC y NSPC.

16. Defina los ensayos que se van a procesar.

17. Pulse el botón "SP Batch" correspondiente.

18. Pulse "Define assays" (Definir ensayos).

19. Seleccione las muestras que se van a procesar con el ensayo.

20. Seleccione el ensayo "artus\_T.vag swab/urine\_V1" en la categoría "artus QS-RGQ".

21. Pulse "OK".

22. Repita el paso 17 con todos los lotes y muestras que vayan a procesarse.

23. Defina el lote del QIASymphony AS.

24. Seleccione todos los lotes que deberían procesarse en una serie integrada del QIASymphony RGQ.

25. Pulse "Create AS batch" (Crear lote AS).

**Nota:** Todos los lotes del QIASymphony SP asignados al mismo lote del QIASymphony AS (serie integrada del QIASymphony RGQ) se procesarán en el mismo procedimiento de preparación de ensayos.

26. Pulse "OK" para poner la serie en cola de espera.

27. Cargue el cajón "Sample" con la mezcla de control interno.

28. Coloque los tubos previamente preparados de mezcla de control interno (consulte la página 21) en el soporte de muestras (utilice el inserto para tubos 3B para microtubos de 2 ml).

29. Inserte el soporte de muestras en la ranura A del cajón "Sample".

**Nota:** Para determinados niveles de líquido en tubos de 14 ml no etiquetados (consulte "Reactivos y consumibles para QIASymphony SP", página 10), pueden producirse errores de escaneo debido a que el tubo y el líquido son transparentes. Para evitar esto, adhiera una etiqueta en blanco al tubo o marque con un rotulador de tinta permanente el área del tubo orientada hacia el escáner de códigos de barras.

30. Defina las posiciones de control interno.

31. Pulse el botón "Define ICs" (Definir controles internos).

32. Seleccione las posiciones de la mezcla de control interno.

33. Seleccione el control interno "Complex\_T.vaginalis\_V1" correspondiente en la carpeta "Required" (Necesario).

34. Asegúrese de que se ha asignado el material de laboratorio correcto. Si no es así, corrija la asignación del material de laboratorio pulsando "IC Tubes" (Tubos de control interno).

35. Pulse "OK".

36. Inicie la serie.

37. Para iniciar la serie, pulse el botón "Run" (Ejecutar).

38. Lea y confirme el mensaje que se muestra.

39. Recomendamos esperar junto al instrumento hasta que este haya realizado la detección del nivel de líquido de los tubos de control interno (el estado del soporte del QIASymphony SP cambia a "running" [en ejecución]).

**IMPORTANTE:** No ponga en pausa ni detenga la serie durante el procesamiento (a menos que se produzca una emergencia), ya que ello hará que se señalen como "unclear" (dudosas) las muestras y las reacciones de ensayo respectivas. Rotor-Gene AssayManager invalidará las reacciones de ensayo clasificadas como "unclear".

**Nota:** Es posible cargar continuamente muestras y añadirlas a esta serie (hasta que se carguen los reactivos) o a una nueva serie del QIASymphony RGQ.

## Carga de los cajones del instrumento QIASymphony AS para la preparación del ensayo

1. Coloque una bolsa para la eliminación de puntas vacía y conductos para puntas.
2. Coloque una bolsa para eliminación de puntas vacía debajo del cajón "Waste" para el uso en una mesa de trabajo o en el contenedor de desechos para el uso en el armario QIASymphony Cabinet SP/AS.
3. Abra el cajón "Eluate and Reagents" (Eluidos y reactivos) y el cajón "Assays" del instrumento QIASymphony AS.
4. Abra la tapa e introduzca el conducto para puntas dentro del instrumento.

**Nota:** Deben utilizarse conductos para puntas diferentes para el uso en una mesa de trabajo y en el armario QIASymphony Cabinet SP/AS.

5. Cierre la tapa y lea y confirme el mensaje.
6. Cargue el cajón "Assays" con la gradilla de ensayos.
7. Pulse la ranura 5 "Assay" (amarilla).
8. Llene el número necesario de tubos en tira (4 tubos = 1 segmento) en un adaptador de refrigeración para tubos en tira Rotor-Gene 72 QS prerrefrigerado según se indica en la pantalla táctil.

**Nota:** Cargue tiras de tubos completas. No divida las tiras de tubos.

9. Cargue el adaptador con tubos en tira en la ranura 5 del cajón "Assays".
10. Pulse "Rack ID" (Identificador de gradilla) en la pantalla táctil, introduzca un identificador de gradilla definido por el usuario y pulse "OK".

**Nota:** También se puede usar la función de identificación automática.

11. Pulse "Load" (Cargar).
12. Cargue los cajones "Assays" y "Eluate and Reagents" con puntas con filtro.
13. Cargue al menos el número de puntas con filtro indicado en la pantalla "Assay Setup | Loading Information" (Preparación de ensayos | Información de carga).

---

**Nota:** Recomendamos cargar un número superior al necesario de puntas con filtro de cada tamaño con objeto de disponer de suficientes puntas con filtro para la resolución automática de errores. Utilice las posiciones de gradillas de puntas junto a las ranuras de refrigeración en los dos cajones de QIASymphony AS solamente.

14. Cargue el cajón "Eluate and Reagents" con reactivos.
15. Antes de cada uso, es preciso descongelar completamente, mezclar y centrifugar durante al menos 3 segundos todos los reactivos de ensayo. Evite que se formen burbujas o espuma en los reactivos (consulte el procedimiento descrito en el apartado "Cuestiones importantes antes de comenzar", página 25).
16. Pulse la ranura 3 "Reagent" (Reactivo) (amarilla) en la pantalla táctil.
17. Prepare un soporte de reactivos prerrefrigerado según se indica en la pantalla táctil.
18. Seleccione las posiciones de tubos en la pantalla táctil, cargue un tubo vacío para la mezcla maestra y transfiera al menos el volumen necesario de los reactivos correctos y del control negativo (NTC) a los tubos necesarios en las posiciones correspondientes según se indica en la pantalla táctil.

**Nota:** Puede que sea necesario combinar los mismos tipos de reactivo (T. vaginalis Master o Mg-Sol) en el mismo tubo si el volumen necesario es superior al volumen de llenado de los reactivos correspondientes. Un tubo de T. vaginalis Master y un tubo de Mg-Sol son suficientes para 24 eluidos del QIASymphony SP (incluidos los controles) más un NTC.

**Nota:** Puede resultar difícil manipular reactivos viscosos con pipetas manuales. Asegúrese de que transfiere el volumen completo de la T. vaginalis Master al tubo respectivo.

**Nota:** De forma alternativa, seleccione "List View" (Vista de listas) en la pantalla táctil y prepare el adaptador de reactivos en correspondencia. También puede descargarse un "archivo de información de carga" a través del programa QMC o del puerto USB (e imprimirse) una vez definido y puesto en cola de espera el lote del QIASymphony AS.

19. Pulse el botón "Scan Kit Barcode" (Escanear código de barras del kit) en la pantalla táctil y pulse la línea azul claro del código de barras del kit.

---

20. Pulse el campo de texto y escanee el código de barras del kit que aparece en el lado superior del kit *artus* T. vaginalis QS-RGQ con el escáner de códigos de barras de mano.

**IMPORTANTE:** Si no se escanea en este paso el código de barras del kit, el Rotor-Gene AssayManager rechazará el archivo de resultados del QIASymphony AS durante la importación.

21. Cargue el adaptador de reactivos preparado en la ranura 3 del cajón “Eluate and Reagents”.

22. Pulse el botón “Load”.

23. Cierre los dos cajones.

24. Pulse “Scan” (Examinar) para entrar en el cuadro de diálogo de examen.

25. Pulse “Scan” para realizar un examen de inventario de todos los componentes del instrumento QIASymphony AS.

**Nota:** Recomendamos esperar junto al instrumento hasta que finalice el examen.

26. La preparación de ensayos comenzará automáticamente cuando haya finalizado la preparación de las muestras en el instrumento QIASymphony SP.

27. Compruebe el tiempo para la finalización del lote del QIASymphony AS para retirar la gradilla de ensayos.

28. Una vez finalizado el examen del instrumento QIASymphony AS, se muestra el tiempo calculado de la serie integrada en la pantalla “Integrated Run Overview” (Resumen de la serie integrada). El tiempo máximo permitido desde el final de la serie del instrumento QIASymphony AS hasta el comienzo de la serie del Rotor-Gene Q es de 30 minutos. Asegúrese de transferir la gradilla de ensayos al instrumento Rotor-Gene Q en los 30 minutos siguientes a la finalización de la serie de ensayo.

## **Retirada de la gradilla de ensayos y transferencia del archivo de resultados**

1. Retire el lote del QIASymphony AS y la gradilla de ensayos.

2. Abra los cajones “Assays” y “Eluate and Reagents”.



3. Retire el adaptador con los tubos en tira y cierre los tubos con los tapones correspondientes.
4. Pulse la ranura 5 "Assay".
5. Pulse el botón "Remove" (Retirar).
6. Retire el adaptador de reactivos y deseche los reactivos conforme a la normativa local en materia de seguridad.
7. Pulse la ranura 3 "Reagent".
8. Pulse el botón "Remove".
9. Cierre los cajones "Assays" y "Eluate and Reagents".
10. Pulse "Scan" (Examinar) para entrar en el cuadro de diálogo de examen.
11. Pulse "Scan" para realizar un examen de inventario para los adaptadores situados en los cajones izquierdo y derecho (generalmente preseleccionados).
12. Pulse el botón "Integrated Batch" (Lote integrado) (verde) para retirar la serie integrada.
13. Lea y confirme el mensaje.
14. Se crea el archivo de resultados final del QIASymphony AS, que puede transferirse a un lápiz USB o a una carpeta definida (\log\Results\AS) a través del programa QMC.
15. Transfiera el archivo de resultados a una carpeta definida. Para transferir el archivo de resultados por medio del lápiz USB, siga el paso 15a. Para transferir el archivo de resultados por medio del programa QMC, siga el paso 15b.
  - 15a. Transfiera el archivo de resultados por medio del lápiz USB.
    - I. Inserte el lápiz USB.
    - II. Seleccione "Tools".
    - III. Seleccione "File Transfer" (Transferencia de archivos).
    - IV. Seleccione "Result Files" (Archivos de resultados) en la columna "Save to USB Stick" (Guardar en lápiz USB).
    - V. Pulse el botón "Transfer" (Transferir).
    - VI. Lea y confirme el mensaje.

- VII. Una vez realizada con éxito la transferencia, pulse "OK" y extraiga el lápiz USB.
  - VIII. Continúe en el apartado "Protocolo: PCR en el instrumento Rotor-Gene Q", página 43.
- 15b. Transfiera el archivo de resultados por medio del programa QMC.
- I. Inicie una sesión en el QIASymphony SP/AS correcto.
  - II. Seleccione el icono de transferencia de archivos.
  - III. Seleccione el formato de archivo "Result File AS" (Archivo de resultados AS).
  - IV. Seleccione el archivo de resultados con la fecha/hora y el identificador de lote correctos en la lista de archivos "Remote Site" (Sitio remoto) (columna derecha).
  - V. Transfiera el archivo de resultados al "Local Site" (Sitio local) (el archivo se guarda en la ruta definida en "Tools", "Options" [Opciones], "File Transfer", en la carpeta \log\Results\AS).
  - VI. Continúe en el apartado "Protocolo: PCR en el instrumento Rotor-Gene Q", página 43.

**Nota:** Si en una serie integrada se han configurado varios lotes en el instrumento QIASymphony AS, compruebe la capacidad restante de la bolsa para eliminación de puntas y vuelva a cargar los cajones del instrumento QIASymphony AS; para ello, comience a partir del paso 1 en las instrucciones de Carga de los cajones del instrumento QIASymphony AS para la preparación del ensayo.

**Nota:** Recomendamos marcar los tapones de los tubos en tira para garantizar que su posición sea correcta y utilizar un marco de transporte refrigerado para evitar la contaminación.

**Nota:** Realice el mantenimiento preventivo diario, semanal y anual tal como se describe en el manual del usuario de los instrumentos QIASymphony SP/AS, apartado de descripción general (*QIASymphony SP/AS User Manual — General Description*).

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

### Cuestiones importantes antes de comenzar

- I Dedique tiempo suficiente a familiarizarse con el instrumento Rotor-Gene Q antes de iniciar el protocolo. Consulte el manual del usuario específico de su instrumento para obtener más detalles.
- I El kit *artus* T. vaginalis QS-RGQ debe procesarse en el instrumento Rotor-Gene Q utilizando la interpretación automatizada de resultados con Rotor-Gene AssayManager. Los parámetros de ciclado están bloqueados para la serie.
- I Después de instalar el complemento y de importar el perfil de ensayo (consulte el apartado “Cosas que hacer antes de comenzar”, a continuación), Rotor-Gene AssayManager puede usar la información contenida en el archivo de resultados del QIASymphony AS para preparar una serie para amplificación de PCR en tiempo real y para la subsiguiente interpretación automatizada de los resultados.

### Cosas que hacer antes de comenzar

- I Para garantizar la seguridad del proceso en los sistemas, es necesario asegurarse de que los siguientes ajustes para el modo cerrado están activados en el Rotor-Gene AssayManager: “Material number required” (Número de material necesario), “Valid expiry date required” (Fecha de caducidad válida necesaria) y “Lot number required” (Número de lote necesario) (en “Configuration”, “Settings” [Ajustes], “Global Settings” [Ajustes globales], “Work List” [Lista de trabajo]); se requiere la función de usuario “Administrator” [Administrador] para acceder al menú “Configuration”).
- I Para la interpretación automatizada de los resultados utilizando el kit *artus* T. vaginalis QS-RGQ con Rotor-Gene AssayManager, debe haberse instalado el complemento Epsilon más reciente en su Rotor-Gene AssayManager. Inicie el proceso de instalación del complemento haciendo doble clic en el archivo de instalación msi y siguiendo las instrucciones de instalación. Si desea ver una descripción detallada, consulte el manual

---

del usuario de la Rotor-Gene AssayManager Core Application suministrado, apartado de instalación de complementos (*Rotor-Gene AssayManager Core Application User Manual, Installing Plug-ins*).

- 1 Para utilizar el kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ, debe importarse el archivo AP\_artus\_Tvag\_swab\_urine800\_QS\_V1\_0\_x.iap (con  $x \geq 0$ ) en Rotor-Gene AssayManager. Para importar el perfil de ensayo en Rotor-Gene AssayManager, acceda al entorno "Configuration" (Configuración) y cambie a la ficha "Assay Profile" (Perfil de ensayo). Haga clic en "Import" (Importar) y seleccione el archivo AP\_artus\_Tvag\_swab\_urine800\_QS\_V1\_0\_x.iap en el cuadro de diálogo para abrir archivos. Haga clic en "Open" (Abrir); el perfil de ensayo se cargará y se añadirá a la lista de perfiles de ensayo disponibles.

**Nota:** No se puede importar dos veces la misma versión de un perfil de ensayo.

## Procedimiento

1. Para preparar el rotor e iniciar la serie en el instrumento Rotor-Gene Q, primero coloque un rotor de 72 pocillos en el soporte del rotor.
2. Llene el rotor de tubos en tira. Asegúrese de comenzar en la posición 1 y de colocar los tubos en tira en la orientación correcta.
3. Compruebe visualmente el control negativo (NTC) para confirmar que la transferencia del NTC se ha realizado correctamente (última posición de los tubos en tira de la serie del instrumento QIASymphony RGQ).
4. Utilice tubos en tira vacíos tapados para ocupar todas las posiciones no utilizadas.
5. Coloque el anillo de fijación.
6. Cargue el instrumento Rotor-Gene Q con el rotor y el anillo de fijación.
7. Si se utiliza un lápiz USB para la transferencia de datos directamente desde los instrumentos QIASymphony SP/AS, descomprima el archivo de resultados procedente del instrumento QIASymphony AS. Los archivos de resultados se almacenan en la carpeta log/Results/AS.

---

**Nota:** En la mayoría de los ordenadores, los archivos pueden descomprimirse haciendo clic con el botón derecho del ratón en el archivo y, a continuación, haciendo clic en “Extract” (Extraer) en el menú que se abre. Deben descomprimirse los archivos para poder importarlos a Rotor-Gene AssayManager.

8. Inicie Rotor-Gene AssayManager.
9. Inicie una sesión en el modo cerrado.
10. Seleccione el entorno “Setup” (Preparación) si no está ya preseleccionado.
11. Importe el archivo de resultados del QIASymphony AS en la parte inferior de la pantalla. Seleccione el origen “QIASymphony” para “Import type” (Tipo de importación).
12. En el cuadro de diálogo “Select file” (Seleccionar archivo), abra el archivo de resultados del QIASymphony AS correspondiente y haga clic en “Open”.
13. Lea y confirme el mensaje.
14. Una vez realizada con éxito la importación, seleccione la lista de trabajo correspondiente en la lista de administración de listas de trabajo y, a continuación, haga clic en el botón “Apply” (Aplicar).
15. Introduzca un nombre de experimento.
16. Seleccione en el cuadro de diálogo “Cycler selection” (Selección de termocicladores) el termociclador que vaya a utilizarse.
17. Compruebe si el anillo de fijación se ha colocado correctamente y confirme en la pantalla que está colocado.
18. Cierre la tapa del instrumento Rotor-Gene Q.
19. Haga clic en el botón “Start run” (Iniciar serie).

**Nota:** Si se utiliza más de una serie de termociclador, cambie al entorno del termociclador correspondiente para ver el progreso de la serie.
20. Cuando la serie haya finalizado, haga clic en “Finish run...” (Finalizar serie).
21. Para los usuarios que han iniciado sesión con la función de Operator (Operador): Haga clic en “Release” (Desbloquear).

- 
22. Para los usuarios que han iniciado sesión con la función de Approver (Aprobador):  
Haga clic en "Release and go to approval" (Desbloquear y pasar a aprobación).
  23. Publique y genere un informe de los resultados.
  24. Si ha utilizado la función "Release" previamente, seleccione el entorno "Approval" (Aprobación).
  25. Pulse "Apply filter" (Aplicar filtro) (o seleccione sus propias opciones de filtro de antemano).
  26. Seleccione el experimento.
  27. Haga clic en "Start Approval" (Iniciar aprobación).
  28. Apruebe los resultados de cada muestra de ensayo. Utilice el botón "Accepted" (Aceptada) para las muestras de ensayo con cuyos resultados analizados por Rotor-Gene AssayManager esté usted de acuerdo. Utilice el botón "Rejected" (Rechazada) si el resultado de la muestra de ensayo evaluado por Rotor-Gene AssayManager no es aceptable por cualquier motivo.  
**Nota:** Un resultado definido automáticamente como "INVALID" (No válido) por Rotor-Gene AssayManager ya no puede convertirse en un resultado válido aunque se rechace el resultado.
  29. Opcional: Introduzca comentarios sobre los ensayos o las muestras.
  30. Haga clic en "Release/report data..." (Publicar/generar informe de datos).
  31. Haga clic en "OK". Se generará y se guardará automáticamente el informe.  
**Nota:** El usuario requiere derechos de aprobación para aprobar un ciclo.
  32. Descargue el instrumento Rotor-Gene Q y deseche los tubos en tira conforme a la normativa local en materia de seguridad.
  33. Realice el mantenimiento.

Una vez que hayan finalizado todos los lotes del QIASymphony AS de la serie integrada del QIASymphony SP/AS, realice el mantenimiento periódico tal como se describe en el manual del usuario de los instrumentos QIASymphony SP/AS, apartado de descripción general (*QIASymphony SP/AS User Manual — General Description*). Esto se puede realizar durante la serie del instrumento Rotor-Gene Q.

---

**Nota:** Esto puede hacerse en cualquier momento antes del comienzo de la siguiente serie integrada como parte de un programa de mantenimiento periódico, conforme a la normativa local o a las prioridades locales. Realice el mantenimiento preventivo diario, semanal y anual tal como se describe en el manual del usuario de los instrumentos QIASymphony SP/AS, apartado de descripción general (*QIASymphony SP/AS User Manual — General Description*).

# Interpretación de los resultados

En este apartado se describe la interpretación de los resultados en el instrumento Rotor-Gene Q. Revise también la información sobre el estado de las muestras en los archivos de resultados de los instrumentos QIAAsymphony SP/AS para el análisis del flujo de trabajo completo desde la muestra hasta el resultado.

**Nota:** Únicamente deben utilizarse muestras con un estado válido.

El perfil de ensayo del kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ contiene reglas para interpretar automáticamente los resultados del ensayo.

Cada muestra y control expone un resultado independiente para cada diana\* de *T. vaginalis* (T.vag) y control interno (IC/IC\_Control). Cada resultado se notifica como "Signal detected" (Señal detectada), "No signal" (Sin señal) o "INVALID".

Resultados de los controles positivos y negativos:

- I Todas las dianas para el control positivo (EC+) y para el control negativo (NTC) deben ser válidas para poder confirmar que el estado del ensayo es satisfactorio y que puede generarse un informe de los resultados del ensayo. Si alguna diana del control positivo o del control negativo no es válida, los resultados de todas las muestras de la serie mostrarán "INVALID". Deberá analizarse de nuevo toda la serie de ensayo.
- I El control positivo (EC+) debe notificar un resultado "Signal detected" para *T. vaginalis* y el control interno.
- I El control negativo (NTC) debe notificar un resultado "No signal" para *T. vaginalis* y el control interno.

\* Todas las dianas relacionadas con las muestras y los controles se exponen en líneas independientes de la columna "Output" (Salida) en el entorno "Approval" y "Archive" (Archivo) del Rotor-Gene AssayManager y en el informe.



---

Resultados del control de proceso de muestras positivo (PSPC)/control de proceso de muestras negativo (NSPC):

El PSPC y el NSPC no están incluidos, pero sí son controles necesarios (consulte “Controles de proceso de muestras”, página 21). Por lo tanto, el perfil de ensayo del kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ no contiene reglas para el análisis automático del PSPC y del NSPC. El usuario debe comprobar manualmente los resultados del PSPC y del NSPC.

- I El PSPC debe notificar “Signal detected” para la diana de *T. vaginalis*.
- I El NSPC debe notificar “No signal” para la diana de *T. vaginalis* y “Signal detected” para la diana del control interno.

**Nota:** Si el estado para alguno de los controles de proceso es diferente del estado anteriormente indicado, deberá tratarse como no válida toda la serie de ensayo y deberá repetirse el análisis.

Resultados de las muestras:

- I Consulte la tabla 5 para ver un resumen de la interpretación de los resultados.
- I Una muestra se considera positiva para *T. vaginalis* si el resultado para *T. vaginalis* diana se notifica como “Signal detected” (escenario A).
- I El resultado de diana del control interno puede notificarse como “No signal” en las muestras en las que se detecte *T. vaginalis*. En estos casos, se notificarán todas las dianas de la muestra. No es necesario repetir el análisis (escenario A).

**Nota:** Se prevé que en algunas muestras positivas para *T. vaginalis* puede estar inhibida la PCR del control interno, debido a la competencia de amplificar *T. vaginalis*, lo cual causará un resultado de diana “No signal” para el control interno (escenario A).

- I Una muestra se considera negativa para *T. vaginalis* si el resultado para *T. vaginalis* diana se notifica como “No signal” y el resultado para el control interno diana se notifica como “Signal detected” (escenario B).

- I La señal del control interno debe detectarse en las muestras en las que no se detecta señal de *T. vaginalis* (escenario B). Si no se detecta la señal del control interno o el resultado es "INVALID" en las muestras en las que no se detecta señal de *T. vaginalis*, todos los resultados de diana para la muestra se mostrarán como "INVALID". Deberá repetirse el análisis de la muestra (escenario C).
- I Si el resultado de diana para *T. vaginalis* se notifica como "INVALID", deberá volver a analizarse la muestra (escenario C).

**Tabla 5. Interpretación de los resultados**

Escenario	Resultado de la diana		Detección de <i>T. vaginalis</i> en la muestra
	<i>T. vaginalis</i>	Control interno	
A	Señal detectada	Señal detectada / Sin señal	Sí
B	Sin señal	Señal detectada	No
C	No válido	No válido	Error/reanalizar la muestra*

\* Repita la serie del QIASymphony RGQ con nuevas muestras o con muestras previamente recogidas y manipuladas conforme a las instrucciones descritas en la página 17. Si ya se han procesado muestras una vez en el sistema QIASymphony RGQ, asegúrese de que el tubo de recogida eNAT todavía contiene al menos 1050 µl de líquido

Se asignará a las dianas notificadas como "INVALID" una o más señales de advertencia que explican por qué no es válida esta diana. El análisis automatizado puede proporcionar las siguientes señales de advertencia correspondientes, consulte Tabla 6.

**Tabla 6. Señales de advertencia asignadas durante el análisis automático**

Señal de advertencia	Comportamiento	Descripción
ASSAY_INVALID	Invalid	El ensayo se ha definido como no válido debido a que al menos un control externo no es válido.
AUDAS_CONFLICT	Invalid	Los resultados del escaneo automático de datos (AUDAS) no coinciden con los resultados del análisis fundamental. No es posible realizar una valoración automática no ambigua de la validez de los datos.
CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE	Invalid	El valor de $C_T$ detectado es superior al valor de $C_T$ de corte definido.
CT_BELOW_ACCEPTED_RANGE	Invalid	El valor de $C_T$ detectado es inferior al valor de $C_T$ de corte definido.
CURVE_SHAPE_ANOMALY	Invalid	La curva de amplificación de datos iniciales muestra una forma que se desvía del comportamiento establecido para este ensayo. Existe una probabilidad elevada de obtener resultados incorrectos o de efectuar una interpretación errónea de los resultados.
FLAT_BUMP	Invalid	La curva de amplificación muestra una forma similar a un badén aplanado que se desvía del comportamiento establecido para este ensayo. Existe una probabilidad elevada de obtener resultados incorrectos o de efectuar una interpretación errónea de los resultados (p. ej., determinación incorrecta del valor de $C_T$ ).
IC_INVALID	Invalid	El control interno no es válido. La diana y el control interno comparten el mismo tubo.
IC_NO_SIGNAL	Invalid	No se ha detectado ninguna señal de control interno. La diana y el control interno comparten el mismo tubo.

Señal de advertencia	Comportamiento	Descripción
MULTI_THRESHOLD_CROSSING	Invalid	La curva de amplificación excede el umbral en más de una ocasión. No se puede determinar un valor de $C_T$ inequívoco.
NO_BASELINE	Invalid	No se ha encontrado ninguna línea basal inicial. No se puede realizar el análisis posterior.
NO_CT_DETECTED	Invalid	No se detecta ningún $C_T$ para esta diana.
NORM_FACTOR_ALTERATION	Warning	<p>Curva no normalizada correctamente debido a una señal baja.</p> <p><b>Nota:</b> Si se marca una muestra válida con esta señal de advertencia, el aprobador deberá prestar especial atención a la información proporcionada por esta señal antes de decidir aceptar o rechazar el resultado.</p>
OTHER_TARGET_INVALID	Invalid	Otra diana para la misma muestra no es válida.
SATURATION	Invalid	La fluorescencia de los datos iniciales presenta una saturación elevada antes del punto de inflexión de la curva de amplificación.
SATURATION_IN_PLATEAU	Warning	<p>La fluorescencia de los datos iniciales muestra saturación en la fase de meseta de la curva de amplificación.</p> <p><b>Nota:</b> Si se marca una muestra válida con esta señal de advertencia, el aprobador deberá prestar especial atención a la información proporcionada por esta señal antes de decidir aceptar o rechazar el resultado.</p>

Señal de advertencia	Comportamiento	Descripción
SPIKE	Warning	<p>Se ha detectado un pico en la fluorescencia de los datos iniciales en la curva de amplificación, pero fuera de la región en la que se determina el valor de <math>C_T</math>.</p> <p><b>Nota:</b> Si se marca una muestra válida con esta señal de advertencia, el aprobador deberá prestar especial atención a la información proporcionada por esta señal antes de decidir aceptar o rechazar el resultado.</p>
SPIKE_CLOSE_TO_CT	Invalid	Se ha detectado un pico en la curva de amplificación próximo al valor de $C_T$ .
STEEP_BASELINE	Invalid	Se ha detectado una línea basal con crecimiento abrupto para la fluorescencia de los datos iniciales en la curva de amplificación.
STRONG_BASELINE_DIP	Invalid	Se ha detectado en la curva de amplificación un descenso pronunciado de la línea basal para la fluorescencia de los datos iniciales.
STRONG_NOISE	Invalid	Se ha detectado un ruido intenso fuera de la fase de crecimiento (exponencial) de la curva de amplificación.
STRONG_NOISE_IN_GROWTH_PHASE	Invalid	Se ha detectado una señal de ruido fuerte en la fase de crecimiento (exponencial) de la curva de amplificación.

Señal de advertencia	Comportamiento	Descripción
UPSTREAM	Variable	<p>El estado de la muestra se ajustó como no válido o como dudoso debido a un proceso anterior (p. ej., preparación del ensayo en QIA Symphony).</p> <p>Nota: Para las muestras señaladas como "Unclear", el comportamiento de Rotor-Gene AssayManager se define en el entorno "Configuration" del software AssayManager. Las señales de advertencia "Invalid" de procesos previos siempre dan lugar a una muestra no válida correspondiente en Rotor-Gene AssayManager.</p>
WAVY_BASE_FLUORESCENCE	Invalid	<p>Se ha detectado en la curva de amplificación una línea basal ondulada para la fluorescencia de los datos iniciales.</p>

---

## Limitaciones

- | Todos los reactivos deben utilizarse exclusivamente para 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.
- | Es importante que el operador lea atentamente las instrucciones de uso antes de utilizar el sistema.
- | El kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ será utilizado por profesionales del laboratorio formados en el uso del sistema QIAGEN QIASymphony RGQ, el Rotor-Gene AssayManager y el sistema *artus T. vaginalis*.
- | Para obtener resultados óptimos con la PCR es necesario un cumplimiento estricto de las instrucciones de uso.
- | Debe prestar especial atención a las fechas de caducidad impresas en las cajas y etiquetas de todos los componentes. No utilice componentes caducados.
- | Aunque poco frecuentes, las mutaciones dentro de las regiones altamente conservadas del genoma diana cubiertas por la sonda o por los *primers* del kit pueden hacer que no se detecte la presencia de la diana en estos casos. La validez y el rendimiento del diseño del ensayo se evalúan a intervalos regulares.
- | Todo resultado diagnóstico que se genere debe interpretarse en combinación con otros datos clínicos o de laboratorio.

## Control de calidad

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

---

# Características de rendimiento

## Límite de detección

El límite de detección del kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ (junto con el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi) se evaluó utilizando dos cepas de *T. vaginalis*: una cepa sensible al metronidazol (ATCC 30001) y una cepa resistente al metronidazol (ATCC 50143). Ambas cepas se propagaron en una estación de trabajo anaeróbica y se cuantificaron para detectar la presencia de células viables e inviables. A continuación, se agregaron las cantidades conocidas de cada cepa de *T. vaginalis* en las dos (2) matrices de muestra: Matriz con muestra de orina humana negativa para *T. vaginalis* y matriz con fluido vaginal natural negativo para *T. vaginalis*.

Se evaluaron seis niveles distintos de concentración y se realizaron 24 duplicados para cada nivel de dilución. Se prepararon todos los duplicados en cada nivel de dilución utilizando el instrumento QIASymphony SP/AS con el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi y, a continuación, se analizaron en el Rotor-Gene Q MDx. Se analizaron datos combinados (cuantificación con hemocitómetro y resultados de PCR) mediante el análisis probit con el software R. En la Tabla 7, se muestra el límite de detección (LD) de cada cepa. Esto significa que existe una probabilidad del 95 % de que se detecte el valor cuantitativo indicado para cada cepa. Se calculó el error estándar y también se indica en la Tabla 7. Se verificó con éxito el LD determinado para cada cepa con 20 duplicados adicionales para cada matriz.



**Tabla 7. Límite de detección**

Cepa de <i>T. vaginalis</i> de la ATCC	Matriz del estudio	LD (C <sub>95</sub> ) (célula/muestra)	Error estándar	LD (C <sub>95</sub> ) (célula/ml)	Verificación (positiva/20)
30001	Orina	0,149	0,034	0,025	20/20
	FVN	0,088	0,021	0,044	20/20
50143	Orina	0,123	0,032	0,021	20/20
	FVN	0,530	0,138	0,265	20/20

ATCC: asociación American Type Culture Collection; LD: límite de detección; FVN: fluido vaginal natural.

## Reactividad analítica (inclusividad)

La reactividad analítica del kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ se evaluó analizando un panel de 43 cepas distintas de *T. vaginalis* (consulte la Tabla 8) a aproximadamente  $2\text{-}3 \times \text{LD}$  en duplicados de tres (3). El kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ detectó las 43 cepas y la inclusividad fue del 100 %.

Nota: después del plan de estudio, si se obtenía un resultado negativo de un duplicado, se volvían a analizar otros tres duplicados. El microorganismo se consideraba “detectable” si todos los resultados de la repetición del análisis eran positivos (100 %).

**Tabla 8. Genotipos relevantes analizados en los estudios de reactividad analítica (inclusividad)**

N.º de muestra*	N.º de panel	Cepa	N.º detectado/3 (orina)	N.º detectado/3 (FVS)	Comentarios
1	30001	C-1:NIH	3/3	3/3	
2	30092	11769	3/3	3/3	
3	30093	45422	3/3	3/3	
4	30184	123414	3/3	3/3	
5	30185	129155-8	3/3	5/6 <sup>†</sup>	Análisis repetido <sup>†</sup>
6	30186	123413	3/3	5/6 <sup>†</sup>	Análisis repetido <sup>†</sup>
7	30187	165307-1	3/3	3/3	
8	30188	RP	3/3	3/6 <sup>†</sup>	Análisis repetido <sup>†</sup>
9	30235	JH 30A #4	3/3	3/3	
10	30236	JH 31A #4	3/3	3/3	
11	30237	JH 32A #2	3/3	3/3	
12	30238	JH 32A #4	3/3	3/3	
13	30239	JH 34A #4	3/3	3/3	
14	30240	JH 37A #2	3/3	3/3	
15	30241	JH 37A #4	3/3	3/3	
16	30242	JH 161A #4	3/3	3/3	
17	30243	JH 162A #4	3/3	3/3	
18	30244	JH 191A #4	3/3	3/3	
19	30245	TVC	3/3	3/3	
20	30246	TVC1	3/3	5/6 <sup>†</sup>	Análisis repetido <sup>†</sup>
21	30248	TV 3	3/3	3/3	
22	30488	RFC-1	3/3	3/3	
23	50138	IR 78	3/3	3/9 <sup>†</sup>	Análisis repetido <sup>†</sup>

N.º de muestra*	N.º de panel	Cepa	N.º detectado/3 (orina)	N.º detectado/3 (FVS)	Comentarios
24	50139	RU 357	3/3	3/3	
25	50140	RU 384	3/3	5/6 <sup>†</sup>	Análisis repetido <sup>†</sup>
26	50141	RU 382	3/3	3/3	
27	50142	RU 393	3/3	3/3	
28	50143	CDC 085	3/3	3/3	
29	50144	CDC 337	3/3	3/3	
30	50145	CDC 409	3/3	3/3	
31	50146	NYH 209	3/3	3/3	
32	50147	NYH 272	3/3	5/6 <sup>†</sup>	Análisis repetido <sup>†</sup>
33	50148	NYH 286	3/3	5/6 <sup>†</sup>	Análisis repetido <sup>†</sup>
34	50167	B7RC2	3/3	3/3	
35	50183	HsD:NIH	3/3	3/3	
36	50747		3/3	3/3	
37	PRA-91	JRS-TV-120	3/3	3/3	
38	PRA-92	JRS-TV-141	3/3	3/3	
39	PRA-95	JRS-TV-VB102	3/3	3/3	
40	PRA-96	MT87	3/3	3/3	
41	PRA-97	BL++	3/3	3/3	
42	PRA-98	G3	3/3	3/3	
43	801805	Z070	3/3	3/3	

ATCC: asociación American Type Culture Collection; n.º: número; FVS: fluido vaginal simulado.

\* Los números de muestra del 1 al 42 se obtuvieron de la ATCC y el n.º de panel de la tabla se corresponde con el número de la ATCC. El número de muestra 43 lo proporcionó Zeptomatrix y el n.º de panel es su propio n.º de referencia.

<sup>†</sup> Después del plan de estudio, si se obtenía un resultado negativo de un duplicado, se volvían a analizar otros tres duplicados. El microorganismo se consideraba "detectable" si todos los resultados de la repetición del análisis eran positivos (100 %).

## Reactividad cruzada e interferencia microbiana

Se analizaron la posible reactividad cruzada y la interferencia microbiana con el kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ utilizando un panel de bacterias, hongos, protozoos o virus (Tabla 9). En el estudio de reactividad cruzada, se enriquecieron los microorganismos a  $1 \times 10^6$  CFU/ml con bacterias y levaduras,  $1 \times 10^5$  PFU/ml con virus y  $1 \times 10^5$  células/ml con protozoos en matriz con orina humana negativa o con fluido vaginal natural y se analizaron. En el estudio de interferencia microbiana, se agregaron los mismos microorganismos a una muestra que contenía *T. vaginalis* (ATCC 30001) a un nivel próximo a un límite de detección ( $3 \times$  LD). Ninguno de los patógenos analizados mostró reactividad cruzada. Ninguno de los patógenos analizados causó interferencia.

**Tabla 9. Panel de microorganismos analizado para determinar la interferencia microbiana y la reactividad cruzada**

Especies de microorganismo	Reacciones cruzadas Si/No	Interferencias Si/No
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	No	No
<i>Acinetobacter baumannii</i>	No	No
<i>Actinomyces israelii</i>	No	No
<i>Atopobium vaginae</i>	No	No
<i>Bacteroides (Parabacteroides) merdae</i>	No	No
<i>Bacteroides fragilis</i>	No	No
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	No	No
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	No	No
<i>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</i>	No	No
<i>Campylobacter jejuni</i>	No	No
<i>Candida albicans</i>	No	No
<i>Candida glabrata</i>	No	No
<i>Candida parapsilosis</i>	No	No

<b>Especies de microorganismo</b>	<b>Reacciones cruzadas Sí/No</b>	<b>Interferencias Sí/No</b>
<i>Candida tropicalis</i>	No	No
<i>Chlamydia trachomatis</i>	No	No
<i>Clostridium difficile</i>	No	No
<i>Clostridium perfringens</i>	No	No
<i>Corynebacterium genitalium</i>	No	No
<i>Cryptococcus neoformans</i>	No	No
<i>Entamoeba histolytica</i>	No	No
<i>Enterobacter aerogenes</i>	No	No
<i>Enterococcus faecalis</i>	No	No
<i>Escherichia coli</i>	No	No
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	No	No
<i>Gardnerella vaginalis</i>	No	No
<i>Haemophilus ducreyi</i>	No	No
Virus del herpes simple de tipo 1 (VHS-1)	No	No
Virus del herpes simple de tipo 2 (VHS-2)	No	No
Virus del papiloma humano 16 (VPH-16, SiHa)	No	No
Virus del papiloma humano 18 (VPH-18)	No	No
VIH tipo 1 (VIH-1)	No	No
<i>Klebsiella oxytoca</i>	No	No
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	No	No
<i>Lactobacillus jensenii</i>	No	No
<i>Lactobacillus vaginalis</i>	No	No
<i>Listeria monocytogenes</i>	No	No
<i>Mobiluncus curtisii</i>	No	No

<b>Especies de microorganismo</b>	<b>Reacciones cruzadas Sí/No</b>	<b>Interferencias Sí/No</b>
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	No	No
<i>Mycoplasma hominis</i>	No	No
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	No	No
<i>Pentatrichomonas hominis</i>	No	No
<i>Peptococcus niger</i>	No	No
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	No	No
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	No	No
<i>Prevotella bivia</i>	No	No
<i>Prevotella melaninogenica</i>	No	No
<i>Propionibacterium acnes</i>	No	No
<i>Proteus mirabilis</i>	No	No
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	No	No
<i>Salmonella enterica (typhimurium)</i>	No	No
<i>Shigella flexneri</i>	No	No
<i>Staphylococcus aureus SARM</i>	No	No
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	No	No
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	No	No
<i>Streptococcus agalactiae</i>	No	No
<i>Streptococcus pyogenes</i>	No	No
<i>Trichomonas tenax</i>	No	No
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	No	No
<i>Veillonella parvula</i>	No	No

SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina; NP: no procede

**Tabla 10. Panel de microorganismos analizados con medios informáticos (*in silico*) para determinar la reactividad cruzada**

Especies de microorganismo	Reacciones cruzadas Sí/No
<i>Mycoplasma genitalium</i>	No

Nota: Esta cepa no estaba disponible para su análisis y, por lo tanto, se realizó un análisis de reactividad cruzada con medios informáticos. No se pudo evaluar la interferencia microbiana.

## Precisión y reproducibilidad totales

Se evaluaron la precisión y la reproducibilidad intermedias del kit *artus* T. vaginalis QS-RGQ con un panel de 8 componentes formado por la cepa de *T. vaginalis* ATCC 30001. Los componentes del panel se formularon bien en la matriz con orina humana o con fluido vaginal simulado (FVS) (17) con *T. vaginalis* a una concentración de 3 × LD, 1 × LD y por debajo del LD. Los componentes del panel negativo, R1 y R5, se prepararon utilizando solamente la matriz. Para la reproducibilidad, se analizó el panel de 8 componentes con triplicados en 3 instrumentos y 3 centros con 2 series analíticas al día durante 5 días, con 3 lotes del kit *artus* T. vaginalis QS-RGQ y 3 lotes del kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi. Los resultados se resumen en la Tabla 11 de la página 64.

También se evaluaron la precisión y la reproducibilidad totales en términos de valores Ct para cada objetivo detectado. La desviación estándar (DE), el coeficiente de varianza (CV) y la varianza entre series analíticas, días, lotes, centros (reproducibilidad) y dentro de la serie analítica (repetibilidad) se incluyen en la Tabla 12 de la página 65.

**Tabla 11. Resumen de la reproducibilidad entre centros para el kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ**

Descripción del panel	Matriz	ID	Dup. totales	Centro 1 n.º+	Centro 2 n.º+	Centro 3 n.º+	Total + (%)	Criterios de aceptación
T. vaginalis ATCC 30001	Orina	PSPC-1	30	10	10	10	100	Positividad del 100 %
PSPC	FVS	PSPC-2	30	10	10	10	100	Positividad del 100 %
P. hominis Hs-3:NIH ATCC 30000	Orina	NSPC-1	30	0	0	0	0	Negatividad del 100 %
NSPC	FVS	NSPC-2	30	0	0	0	0	Negatividad del 100 %
Negativo	Orina	R1	90	0	0	0	0	Negatividad del 100 %
Por debajo del LD	Orina	R2	90	9	16	16	45,60	Positividad del 20-80 %
1 × LD	Orina	R3	90	30	30	30	100	Positividad ≥95 %
3 × LD	Orina	R4	90	30	30	30	100	Positividad del 100 %
Negativo	FVS	R5	90	0	0	0	0	Negatividad del 100 %
Por debajo del LD	FVS	R6	90	9	19	13	45,60	Positividad del 20-80 %
1 × LD	FVS	R7	90	30	30	30	100	Positividad ≥95 %
3 × LD	FVS	R8	90	30	30	30	100	Positividad del 100 %

LD: límite de detección; dup.: duplicado; n.º: número; NSPC: (Negative Specimen Process Control) control de proceso de muestras negativo; PSPC: (Positive Specimen Process Control) control de proceso de muestras positivo; FVS: fluido vaginal simulado; Total+ %: porcentaje total de muestras positivas.



**Tabla 12. Componentes de precisión del kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ y precisión total**

Prueba	Parámetro	PSPC-1	PSPC-2	R2	R3	R4	R6	R7	R8
	C <sub>ipromedio</sub>	30,12	30,49	35,09	31,09	29,91	35,74	31,64	30,40
	N.º	30	30	81	90	90	81	90	90
En la serie analítica	DE	0,202	0,176	0,991	0,410	0,441	1,121	0,232	0,207
	% CV	0,67	0,58	2,82	1,32	1,47	3,14	0,73	0,68
	Var <sub>tot</sub>	0,041 (89,69)	0,031 (52,10)	0,981 (78,42)	0,168 (78,37)	0,194 (74,32)	1,256 (95,65)	0,054 (67,28)	0,043 (65,81)
Entre series analíticas op.	DE	0,000	0,000	0,485	0,000	0,000	0,185	0,097	0,000
	% CV	0,00	0,00	1,38	0,00	0,00	0,52	0,31	0,00
	Var <sub>tot</sub>	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,236 (18,82)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,034 (2,62)	0,009 (11,74)	0,000 (0,00)
Entre días	DE	0,000	0,090	0,000	0,151	0,000	0,000	0,000	0,011
	% CV	0,00	0,30	0,00	0,49	0,00	0,00	0,00	0,04
	Var <sub>tot</sub>	0,000 (0,00)	0,008 (13,70)	0,000 (0,00)	0,023 (10,68)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,000 (0,18)
Entre lotes	DE	0,000	0,137	0,000	0,099	0,019	0,000	0,000	0,030
	% CV	0,00	0,45	0,00	0,32	0,06	0,00	0,00	0,10
	Var <sub>tot</sub>	0,000 (0,00)	0,019 (31,78)	0,000 (0,00)	0,010 (4,57)	0,000 (0,14)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,001 (1,35)
Entre centros	DE	0,069	0,038	0,186	0,117	0,258	0,151	0,130	0,146
	% CV	0,23	0,12	0,53	0,38	0,86	0,42	0,41	0,48
	Var <sub>tot</sub>	0,005 (10,32)	0,001 (2,41)	0,035 (2,76)	0,014 (6,38)	0,067 (25,54)	0,023 (1,73)	0,017 (20,98)	0,021 (32,66)
Precisión total	DE	0,213	0,243	1,119	0,463	0,511	1,146	0,283	0,255
	% CV	0,71	0,80	3,19	1,49	1,71	3,21	0,90	0,84
	Var <sub>tot</sub>	0,045 (100,0)	0,059 (100,0)	1,252 (100,0)	0,215 (100,0)	0,262 (100,0)	1,313 (100,0)	0,080 (100,0)	0,065 (100,0)

CV: coeficiente de variación; N.º: Cantidades totales de duplicados con valores de C<sub>i</sub> distintos de cero; op.: operador; PSPC: (Positive Specimen Process Control) control de proceso de muestras positivo; DE: desviación estándar; Var<sub>tot</sub>: varianza (varianza total en %).

---

## Arrastre

Este estudio incluía una serie de cinco series analíticas de PCR que contenía 34 muestras positivas altas y 34 negativas en posiciones alternas (patrón de tablero de damas). Las 5 series analíticas con patrón de tablero de damas (utilizadas para evaluar la contaminación cruzada entre series) se interrumpieron con series de PCR negativas que contenían muestras completamente negativas para evaluar el posible arrastre entre series analíticas. La muestra positiva alta utilizada en este estudio de *T. vaginalis* (ATCC 30001) se diluyó en matrices con orina y fluido vaginal simulado para lograr una concentración de  $1 \times 10^5$  células/ml. Esta concentración estaba diseñada para representar al menos el 95 % de los resultados obtenidos de muestras de pacientes infectados en la población de uso previsto.

Todas las muestras positivas se comunicaron como “Señal detectada” y todas las negativas como “Señal no detectada”. No se observó arrastre ni contaminación cruzada en todo el flujo de trabajo.

## Sustancias interferentes

Se analizó un panel de sustancias exógenas y endógenas (indicadas en la Tabla 13) que pueden estar presentes en muestras de pacientes para determinar si estas sustancias causaban una reactividad cruzada o interferían en el rendimiento del kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ. Las sustancias se analizaron con concentraciones de importancia clínica con presencia (interferencia) y ausencia (reactividad cruzada) de la diana de *T. vaginalis* (ATCC 30001) en  $3 \times$  LD en matrices con orina humana y fluido vaginal natural, respectivamente, en triplicado para cada sustancia. Ninguna de las sustancias mostró interferencia ni reactividad cruzada con la detección de *T. vaginalis* mediante el kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ.

**Tabla 13. Sustancias objeto del análisis de posible interferencia o reactividad cruzada**

<b>Categoría de la sustancia interferente</b>	<b>N.º</b>	<b>Posible principio activo interferente</b>	<b>Conc. analizada</b>	<b>Reacciones cruzadas Sí/no</b>	<b>Interferencia Sí/no</b>
Lubricantes vaginales p. ej., gel lubricante personal K-Y	1	Glicerina con propilenglicol	1 % v/v	No	No
Lavados vaginales como Summer's Eve Douche Extra Cleansing Vinegar & Water	2	Vinagre, benzoato de sodio	1 % v/v	No	No
Sangre humana total	3	Sangre total	10% v/v	No	No
Leucocitos humanos	4	Leucocitos humanos	1 × 10 <sup>6</sup> células/ml (orina) 2,5 × 10 <sup>6</sup> células/ml (FVN)	No	No
Células HeLa	5	Células HeLa	1 × 10 <sup>5</sup> células/ml	No	No
ADN genómico humano	6	ADNg humano	500 ng/ml	No	No
Espemicidas, como el gel anticonceptivo vaginal Options Gynol II	7	Nonoxinol 9, 4 %	1 % p/v	No	No

<b>Categoría de la sustancia interferente</b>	<b>N.º</b>	<b>Posible principio activo interferente</b>	<b>Conc. analizada</b>	<b>Reacciones cruzadas Sí/no</b>	<b>Interferencia Sí/no</b>
Medicamentos antimicóticos para tratamientos de hongos vaginales, medicamentos contra el prurito	8	Clotrimazol, 1 %	1 % p/v	No	No
	9	Nitrato de miconazol, 2 %	1 % p/v	No	No
	10	Crema de nistatina (100 000 USP)	1 % p/v	No	No
	11	Fenazopiridina hidrocloreuro 200 mg	1 % p/v	No	No
	12	Itraconazol 100 mg	1 % p/v	No	No
	13	Tinidazol 250 mg	1 % p/v	No	No
	14	Terconazol 80 mg	1 % p/v	No	No
	15	Fluconazol 200 mg	1 % p/v	No	No
	16	Gel vaginal de metronidazol 0,75 %	1 % p/v	No	No
	17	Crema vaginal de clindamicina 2 %	1 % p/v	No	No
Hormonas intravaginales, como el gel Crinone 8 % y la crema vaginal Estrace	18	Metilpropano, almidón de maíz, sílice hidratada, aceite mineral	1 % v/v	No	No
	19	Progesterona	1 % p/v	No	No
	20	Estrógeno (estradiol)	1 % p/v	No	No

<b>Categoría de la sustancia interferente</b>	<b>N.º</b>	<b>Posible principio activo interferente</b>	<b>Conc. analizada</b>	<b>Reacciones cruzadas Sí/no</b>	<b>Interferencia Sí/no</b>
Fluido seminal humano	21	Fluido seminal humano	5 % v/v	No	No
Mucosidad, como mucosidad gástrica porcina	22	Mucina	1 % p/v	No	No
Crema para hemorroides (solo análisis vaginal), como la crema Maximum Strength Pain Relief Cream Preparation H	23	Glicerina 14,4 %, fenilefrina hidrocloreuro 0,25 %, pramocaína hidrocloreuro 1 %	1 % p/v	No	No
Orina anómala (solo análisis de orina)	24	Anómalo alto con urobilinógeno (KOVA-Trol I*)	Sustituido por orina	No	No
	25	Orina humana ácida (pH 4,0)	Sustituido por orina	No	No
	26	Orina humana alcalina (pH 9,0)	Sustituido por orina	No	No

\* Sustancia adquirida de KOVA International. Para obtener información adicional sobre los valores de pH, proteínas, glucosa, cetonas, hemoglobina, bilirrubina, nitritos, esterasa leucocitaria, gravedad específica, osmolalidad y creatinina, consulte el sitio web de KOVA International.

LD: límite de detección; FVN: fluido vaginal natural.

## Evaluación del rendimiento diagnóstico

Se realizó una evaluación del rendimiento diagnóstico del kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ en un estudio de investigación prospectivo; para ello, se compararon los resultados del kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ con un método de referencia compuesto que constaba de microscopia en fresco y microscopia o cultivo con InPouch TV (Biomed Diagnostics, Inc, White City, OR, EE. UU.) para muestras de mujeres. Para muestras de orina obtenidas de forma prospectiva de varones, se compararon los resultados del kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ con un método de referencia compuesto que constaba de microscopia o cultivo con InPouch TV y PCR con cebadores distintos de los empleados en el kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ seguida por una secuenciación bidireccional. El estudio prospectivo de orina de varones se suplementó con un estudio de panel artificial de orina de varones dada la baja prevalencia de *T. vaginalis* en varones inscritos en dicho estudio. Para las muestras artificiales de orina de varones, se compararon los resultados del kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ con el método de referencia de solamente microscopia o cultivo con InPouch TV. Se obtuvieron muestras de cinco (5) áreas geográficas diferentes (5 centros de obtención) siguiendo los procedimientos descritos a continuación:

- I El médico obtuvo tres (3) cultivos vaginales y un (1) cultivo endocervical de cada mujer que participó en el estudio. Asimismo, cada mujer y varón inscritos en el estudio obtuvo una (1) muestra de orina.
- I El primer (1) cultivo vaginal, el cultivo endocervical (se utilizó un FLOQSwab regular para las muestras vaginales y endocervicales), la muestra de orina de mujeres y la muestra de orina de varones se colocaron en tubos eNAT individuales (con 2 ml de solución eNAT para su análisis con la prueba *artus T. vaginalis* QS-RGQ).
- I Se realizó microscopia en fresco de inmediato con el segundo (2) cultivo vaginal en el centro de la obtención siguiendo el proceso de cuidado estándar del centro para la microscopia en fresco.

- 
- I La tercera (3) muestra vaginal (para el método de referencia del estudio en mujeres) de la misma participante se obtuvo con el instrumento adecuado (hisopo de algodón desechable) definido en la etiqueta del cultivo InPouch. El cultivo InPouch se inoculó directamente con el hisopo en menos de una hora desde el momento de la obtención conforme a las instrucciones de uso del InPouch TV.
  - I Para el método de referencia de cultivos del estudio en varones, se obtuvo la muestra de orina del participante y se inoculó de forma directa en el InPouch en menos de una hora desde su obtención conforme a las instrucciones de uso del InPouch.
  - I Para el análisis de referencia de secuenciación o PCR en orina de varones, se volvió a suspender una microesfera de los 10 ml de la primera orina del día del varón en 1 ml de medio eNAT y se envió al laboratorio de referencia para su procesamiento adicional para *T. vaginalis* mediante la PCR y la secuenciación bidireccional.

Se definió una muestra “positiva verdadera para *T. vaginalis*” como muestra en la cual *T. vaginalis* se identificó mediante ambas pruebas (PCR *artus T. vaginalis* QS-RGQ y cualquiera de los métodos de referencia compuestos; por ejemplo, en fresco y/o InPouch TV para muestras de mujeres; InPouch TV y/o PCR más secuenciación para muestras de varones).

Se definió una muestra “positiva falsa para *T. vaginalis*” como muestra en la cual *T. vaginalis* se identificó solamente mediante el kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ y no mediante las pruebas de referencia (ambos métodos de referencia deben ser negativos).

Se definió una muestra “negativa falsa para *T. vaginalis*” como muestra en la cual *T. vaginalis* se identificó solamente mediante las pruebas de referencia (cualquier método de referencia o ambos) y no mediante la prueba *artus T. vaginalis* QS-RGQ.

---

Se definió una muestra “negativa verdadera” como muestra en la cual *T. vaginalis* no se identificó mediante ninguna prueba (PCR *artus T. vaginalis* QS-RGQ y ambos métodos de referencia deben ser negativos).

De un total de 4222 muestras prospectivas de mujeres (1408 muestras vaginales, 1408 endocervicales y 1406 de orina de mujeres), 84 (20 vaginales, 42 endocervicales y 22 de orina) no pudieron analizarse por diferentes motivos, incluida la histerectomía de la paciente o problemas con el transporte y la obtención de la muestra. De las 4138 muestras disponibles para el análisis (1388 vaginales, 1366 endocervicales y 1384 de orina de mujeres), 228 arrojaron resultados no válidos. Esto se debió a distintas razones, pero solo 25 muestras (0,6 % del total de muestras analizado) se clasificaron como no válidas y sin resolver\* tras el análisis de la causa principal, con lo cual quedaron 3910 muestras que podían evaluarse para los resultados del análisis estadístico.

Se obtuvo un total de 335 muestras de varones de forma prospectiva. De las 335 muestras, 0 (cero) arrojaron resultados indeterminados o no válidos al analizarse con el kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ. De estas, 12 de las 335 muestras arrojaron resultados de secuencia de referencia no válidos debidos a un volumen de muestra insuficiente para extracción de ADN a fin de realizar una secuenciación bidireccional. Por lo tanto, los resultados válidos correspondían a un total de 323 muestras.

Se preparó un total de 100 muestras de varones para el segmento artificial del estudio clínico debido a la baja prevalencia de *T. vaginalis* en las muestras de orina de varones. De los 100 componentes del panel artificial de orina de varones analizado con el kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ en EGI MDx y mediante cultivos InPouch, se excluyeron 30 muestras como consecuencia de errores técnicos con pruebas de cultivos InPouch, con lo cual quedaron 70 resultados que podían evaluarse y se incluyeron en el análisis estadístico.

\* Al valorarse mediante controles internos, negativos y positivos del ensayo.



---

La sensibilidad y especificidad por sexo, tipo de muestra y estado del síntoma se incluyen en la tabla 14 para muestras de cultivos vaginales y endocervicales y en la tabla 15 para muestras de orina.

**Tabla 14. Resultados del estudio clínico *T. vaginalis* con consentimiento (kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ frente a métodos de referencia compuestos): muestras vaginales y endocervicales**

Estado	N.º	PV	PF	NV	NF	Prev. %	Sensibilidad (IC del 95 %)	Especificidad (IC del 95 %)	VPP %	VPN %
Cultivos vaginales										
Sin	895	82	20	793	0	9,2	100,0 (95,5-100)	97,5 (96,2-98,4)	80,4 (71,6-86,9)	100,0 (99,5-100)
Asin	403	37	4	362	0	9,2	100,0 (90,6-100)	98,9 (97,2-99,6)	90,2 (77,5-96,1)	100,0 (99,0-100)
Todos	1298	119	24	1155	0	9,2	100,0 (96,9-100)	98,0 (97,0-98,6)	83,2 (76,2-88,5)	100,0 (99,7-100)
Cultivos endocervicales										
Sin	872	81	9	782	0	9,3	100,0 (95,5-100)	98,9 (97,9-99,4)	90,0 (82,1-94,7)	100,0 (99,5-100)
Asin	383	31	2	350	0	8,1	100,0 (89,0-100)	99,4 (98,0-99,8)	93,9 (80,4-98,3)	100,0 (98,9-100)
Todos	1255	112	11	1132	0	8,9	100,0 (96,7-100)	99,0 (98,3-99,5)	91,1 (84,7-94,9)	100,0 (99,7-100)

Asin: asintomático; IC: intervalo de confianza; NF: negativo falso; PF: positivo falso; N.º: número; NP: no procede; VPN: valor predictivo negativo; Prev.: prevalencia; Pob: población; VPP: valor predictivo positivo; Sin: sintomático; NV: negativo verdadero; PV: positivo verdadero.

**Tabla 15. Resultados del estudio clínico *T. vaginalis* con consentimiento (kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ frente a métodos de referencia compuestos): muestras de orina de mujeres y varones**

Estado	N.º	PV	PF	NV	NF	Prev. %	Sensibilidad (IC del 95 %)	Especificidad (IC del 95 %)	VPP % (IC del 95 %)	VPN % (IC del 95 %)
Muestras de orina de mujeres										
Sin	939	88	12	837	2	9,6	97,8 (92,3- 99,4)	98,6 (97,5- 99,2)	88,0 (80,2- 93,0)	99,8 (99,1- 99,9)
Asin	418	37	3	377	1	9,1	97,4 (86,5- 99,5)	99,2 (97,7- 99,7)	92,5 (80,1- 97,4)	99,7 (98,5- 100)
Todos	1357	125	15	1214	3	9,4	97,7 (93,3- 99,2)	98,8 (98,0- 99,3)	89,3 (83,1- 93,4)	99,8 (99,3- 99,9)
Muestras de orina de varones										
Sin	91	1	1	89	0	1,1	100,0 (20,7- 100)	98,9 (94,0- 99,8)	50,0 (9,4- 90,6)	100,0 (95,9- 100)
Asin	232	7	0	224	1	3,4	87,5 (52,9- 97,8)	100,0 (98,3- 100)	100,0 (64,6- 100)	99,6 (97,5- 99,9)
MA	70	25	1	43	1	NP	96,2 (81,1- 99,3)	97,7 (88,2- 99,6)	NP	NP
Todos	393	33	2	356	2	NP	94,3 (81,4- 98,4)	99,4 (98,0- 99,8)	94,3 (81,4- 98,4)	99,4 (98,0- 99,8)

Asin: asintomático; IC: intervalo de confianza; MA: muestra artificial; NF: negativo falso; PF: positivo falso; N.º: número; NP: no procede; VPN: valor predictivo negativo; Prev.: prevalencia; Pob: población; VPP: valor predictivo positivo; Sin: sintomático; NV: negativo verdadero; PV: positivo verdadero.

---

## Análisis discordante

Para cada muestra discordante, se extrajo ADN en la muestra clínica sobrante en eNat y se realizó la PCR con cebadores diferentes de los empleados en el kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ. A continuación, se realizó la secuenciación bidireccional. Posteriormente, se efectuó una búsqueda de homología con BLAST en la base de datos del NCBI de las secuencias para confirmar la identidad y la homología de *T. vaginalis*. Las muestras se consideraron positivas para *T. vaginalis* si el producto de la PCR presentaba una homología >95 % y cualquier cepa de *T. vaginalis* se identificaba en la base de datos del NCBI.

Se sometió un total de 53 muestras discordantes de mujeres y 2 discordantes de varones al procedimiento de análisis discordante, y los parámetros finales de rendimiento se modificaron conforme a lo descrito en la Tabla 16 para muestras vaginales y endocervicales y en la Tabla 17 para muestras de orina de mujeres y varones.

**Tabla 16. Kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ frente a métodos de referencia compuestos, con consentimiento; resolución tras la disparidad: muestras vaginales y endocervicales**

Estado	N.º	PV	PF	NV	NF	Prev., %	CPP, % (IC del 95 %)	CPN, % (IC del 95 %)
Cultivos vaginales								
Sin	887	89	5	793	0	10,0	100,0 (95,9-100)	99,4 (98,5- 99,7)
Asin	401	38	1	362	0	9,5	100,0 (90,8- 100)	99,7 (98,5- 100)
Todos	1288	127	6	1155	0	9,9	100,0 (97,1- 100)	99,5 (98,9- 99,8)
Cultivos endocervicales								
Sin	871	85	4	782	0	9,8	100,0 (95,7-100)	99,5 (98,7- 99,8)
Asin	383	32	1	350	0	8,4	100,0 (89,3-100)	99,7 (98,4- 99,9)
Todos	1254	117	5	1132	0	9,3	100,0 (96,8-100)	99,6 (99,0- 99,8)

Asin: asintomático; IC: intervalo de confianza; NF: negativo falso; PF: positivo falso; N.º: número; CPN: coincidencia de porcentaje negativo; CPP: coincidencia de porcentaje positivo; Prev.: prevalencia; Sin: sintomático; NV: negativo verdadero; PV: positivo verdadero.

**Tabla 17. Kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ frente a métodos de referencia compuestos, con consentimiento; resolución tras la disparidad: muestras de orina de mujeres y varones**

Estado	N.º	PV	PF	NV	NF	Prev., %	CPP, % (IC del 95 %)	CPN, % (IC del 95 %)
Muestras de orina de mujeres								
Sin	939	96	4	839	0	10,2	100,0 (96,2-100)	99,5 (98,8-99,8)
Asin	418	39	1	378	0	9,3	100,0 (91,0-100)	99,7 (98,5-100)
Todos	1357	135	5	1217	0	9,9	100,0 (97,2-100)	99,6 (99,0-99,8)
Muestras de orina de varones								
Sin	91	2	0	89	0	2,2	100,0 (34,2-100)	100,0 (95,9-100)
Asin	232	7	0	225	0	3,0	100,0 (64,6-100)	100,0 (98,3-100)
MA	70	25	1	43	1	NP	96,2 (81,1-99,3)	97,7 (88,2-99,6)
Todos	393	34	1	357	1	NP	97,1 (85,5-99,5)	99,7 (98,4-100)

Asin: asintomático; IC: intervalo de confianza; MA: muestra artificial; NF: negativo falso; PF: positivo falso; N.º: número; NP: no procede; CPN: coincidencia de porcentaje negativo; CPP: coincidencia de porcentaje positivo; Prev.: prevalencia; Sin: sintomático; NV: negativo verdadero; PV: positivo verdadero.

---

# Referencias

1. Forna, F. and Gülmezoglu, A.M. (2003). Interventions for treating trichomoniasis in women. Cochrane Database Syst. Rev. CD000218.
2. Van der Pol, B. (2007). *Trichomonas vaginalis* infection: the most prevalent nonviral sexually transmitted infection receives the least public health attention. Clin. Infect. Dis. **44**, 23.
3. World Health Organization. (2001). Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overviews and estimates. Disponible en [http://www.who.int/hiv/pub/sti/en/who\\_hiv\\_aids\\_2001.02.pdf](http://www.who.int/hiv/pub/sti/en/who_hiv_aids_2001.02.pdf) (se accedió el 13 de junio de 2016).
4. Wang, C.C., McClelland, R.S., Reilly, M., Overbaugh, J., Emery, S.R., Mandaliya, K., et al., (2001). The effect of treatment of vaginal infections on shedding of human immunodeficiency virus type 1. J. Infect. Dis. **183**, 1017.
5. Soper, D. (2004). Trichomoniasis: under control or undercontrolled? Am. J. Obstet. Gynecol. **190**, 281.
6. Francis, S.C., Kent, C.K., Klausner, J.D., Rauch, L., Kohn, R., Hardick, A., et al., (2008). Prevalence of rectal *Trichomonas vaginalis* and *Mycoplasma genitalium* in male patients at the San Francisco STD clinic, 2005-2006. Sex Transm. Dis. **35**, 797.
7. [Guideline] Workowski, K.A. and Berman, S.M. (2006). Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006. MMWR Recomm. Rep. **55**, 1.
8. Krieger, J.N., Tam, M.R., Stevens, C.E., Nielsen, I.O., Hale, J., Kiviat, N.B., et al., (1988) Diagnosis of trichomoniasis. Comparison of conventional wet-mount examination with cytologic studies, cultures, and monoclonal antibody staining of direct specimens. JAMA. **259**, 1223.

9. Radonjic, I.V., Dzamic, A.M., Mitrovic, S.M., Arsic Arsenijevic, V.S., Popadic, D.M., Kranjic Zec, I.F. (2006) Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection: The sensitivities and specificities of microscopy, culture and PCR assay. Eur. J. Obstet. Gynecol Reprod Biol. **126**, 116.
10. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2010: Diseases Characterized by Vaginal Discharge. Centros para el control y la prevención de enfermedades. Disponible en <http://www.cdc.gov/std/treatment/2010/vaginal-discharge.htm#a2> (se accedió el 13 de junio de 2016).
11. Eckert, J. Protozoa. En: Kayser, F.H., Bienz, K.A., Eckert, J., et al., eds. Color Atlas of Medical Microbiology. 2nd ed. New York, NY: Thieme; 2005.
12. Schwebke, J.R. and Burgess, D. (2004). Trichomoniasis. Clin Microbiol Rev. **17**, 794.
13. Magnus, M., Clark, R., Myers, L., Farley, T., Kissinger, P.J. (2003). *Trichomonas vaginalis* among HIV-Infected women: are immune status or protease inhibitor use associated with subsequent *T. vaginalis* positivity? Sex Transm Dis. **30**, 839.
14. Hobbs, M.M., Kazembe, P., Reed, A.W., Miller, W.C., Nkata, E., Zimba, D., et al. (1999). *Trichomonas vaginalis* as a cause of urethritis in Malawian men. Sex Transm Dis. **26**, 381.
15. Petrin, D., Delgaty, K., Bhatt, R., Garber, G. (1998). Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. Clin. Microbiol. Rev. **11**, 300.
16. Dan, M. and Sobel, J.D. (1996). Trichomoniasis as seen in a chronic vaginitis clinic. Infect. Dis. Obstet. Gynecol. **4**, 77.
17. Marques, M.R.C., Loebenberg, R., and Almukainzi, M. (2011). Simulated biological fluids with possible application in dissolution testing. Dissolution Technol. **18**, 15-28.



# Símbolos

En estas instrucciones de uso se utilizan los símbolos mostrados en la tabla siguiente.

**Símbolo**

**Definición del símbolo**



72

Contenido suficiente para 72 pruebas



Producto sanitario para diagnóstico in vitro



Marca CE



Número de referencia



Número de lote



Número de material

Símbolo	Definición del símbolo
<b>COMP</b>	Componentes
<b>CONT</b>	Contenido
<b>MASTER</b>	Mezcla maestra
<b>MG-SOL</b>	Solución de magnesio
<b>IC</b>	Control interno
<b>CONTROL +</b>	Control positivo <i>T. vaginalis</i>
<b>CONTROL -</b>	Control negativo <i>T. vaginalis</i>
<b>GTIN</b>	Número mundial de artículo comercial (Global Trade Item Number)

**Símbolo**

**Definición del símbolo**

---

**Rn**

R es la revisión del manual de instrucciones de uso, y n es el número de revisión



Limitación de temperatura



Fabricante



Fecha de caducidad



Consulte las instrucciones de uso

# Guía para la resolución de problemas

Consulte este apartado para obtener información sobre la gestión y resolución de problemas. Si los pasos recomendados no resuelven el problema, póngase en contacto con los servicios técnicos de QIAGEN para obtener asistencia, ya sea a través de nuestro centro de asistencia técnica en [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support), llamando al 00800-22-44-6000, o bien poniéndose en contacto con uno de los departamentos de servicio técnico de QIAGEN o sus distribuidores locales.

Posible problema o causa	Medida correctiva
--------------------------	-------------------

## Manipulación general

Aparece un mensaje de error en la pantalla táctil

Si aparece un mensaje de error durante una serie integrada, consulte los manuales del usuario suministrados con sus instrumentos.

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

a) Evaporación del tampón

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

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

### Rendimiento bajo de ácidos nucleicos

a) Las partículas magnéticas no se pusieron completamente en suspensión	Antes de comenzar el procedimiento, asegúrese de que las partículas magnéticas están completamente resuspendidas. Mezcle mediante agitación vorticial durante al menos 3 minutos antes del uso.
b) Las muestras congeladas no se mezclaron correctamente después de la descongelación	Descongele las muestras congeladas agitando suavemente para asegurarse de que se mezclen completamente.

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

Posible problema o causa	Medida correctiva
c) No se añadió ARN transportador (CARRIER)	Reconstituya el ARN transportador (CARRIER) en tampón AVE (AVE) y mézclelo con el volumen apropiado de tampón AVE (AVE) según se describe en “Preparación del ARN transportador y del control interno (T. Vaginalis IC)”, página 22. Repita el procedimiento de purificación con nuevas muestras.
d) Ácidos nucleicos degradados	Las muestras se conservaron incorrectamente o se sometieron a demasiados ciclos de congelación-descongelación. Repita el procedimiento de purificación con nuevas muestras.
e) Lisis incompleta de la muestra	Antes del uso, compruebe que las disoluciones amortiguadoras QSL2 y QSB1 no contienen precipitados. En caso necesario, retire del cartucho de reactivos (RC) los recipientes que contienen las disoluciones amortiguadoras QSL2 y QSB1 e incúbelos a 37 °C durante 30 minutos agitando de vez en cuando para disolver el precipitado. Si el cartucho de reactivos (RC) ya está perforado, asegúrese de que los recipientes están sellados con las tiras de sellado para reutilización e incube el cartucho de reactivos (RC) completo en un baño María a 37 °C durante 30 minutos agitando de vez en cuando. *

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

Posible problema o causa	Medida correctiva
f) Obstrucción de la punta de pipeta debido a material insoluble	No se eliminó de la muestra el material insoluble antes de comenzar el procedimiento de purificación con el instrumento QIASymphony. Para eliminar el material insoluble para las aplicaciones, centrifugue la muestra a 3000 x g durante 1 minuto y transfiera el sobrenadante a un nuevo tubo de muestra.
QIASymphony AS detecta Master insuficiente transferida al tubo	<p>Combine el contenido de un número apropiado de tubos de Master en un tubo antes del uso. Combine el contenido de un número apropiado de tubos de Mg-Sol en un tubo antes del uso. Puede resultar difícil manipular reactivos viscosos con pipetas manuales. Asegúrese de que transfiere el volumen completo de la Master al tubo. En caso de trabajar con reactivos viscosos, recomendamos aspirar un volumen adicional del 5% cuando se utilicen pipetas manuales (p. ej., ajuste la pipeta a 840 µl cuando quiera aspirar 800 µl).</p> <p>De manera alternativa, puede intentar lo siguiente: tras dispensar lentamente el líquido y expulsar todo el aire del interior contra la pared del tubo de destino, saque la punta del líquido, suelte el émbolo de la pipeta y espere otros 10 segundos. El líquido residual caerá por la punta y se podrá expulsar accionando el émbolo por segunda vez. El uso de puntas con filtro aptas para PCR denominadas “de baja retención” puede mejorar la recuperación de líquido.</p>

## Posible problema o causa

## Medida correctiva

### Ausencia de señales con los controles positivos

a) Configuración incorrecta de la PCR

Asegúrese de que la preparación de ensayos se realizó correctamente y de que se utilizó el conjunto de parámetros de ensayo correcto. Repita la PCR en caso necesario. Consulte el apartado “Juegos de controles de ensayo y conjuntos de parámetros de ensayo”, página 24.

b) Las condiciones de almacenamiento de uno o más componentes del kit no cumplían las instrucciones indicadas en el apartado “Almacenamiento y manipulación de reactivos” (página 16)

Compruebe las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad (en la etiqueta del kit) de los reactivos y utilice un kit nuevo en caso necesario.

c) El kit *artus* T. vaginalis QS-RGQ ha caducado

Compruebe las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad (en la etiqueta del kit) de los reactivos y utilice un kit nuevo en caso necesario.



## Posible problema o causa

## Medida correctiva

---

### Señal débil o ausente del control interno de una muestra negativa sometida a purificación con el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen y ausencia simultánea de una señal de la muestra

- |   |  |
|---|--|
| a) Se produjo la inhibición de la PCR   | Asegúrese de utilizar el método de aislamiento validado (consulte el apartado “Protocolo: Aislamiento del ADN y preparación de los ensayos en los instrumentos QIASymphony SP/AS”, página 25) y siga exactamente las instrucciones.  |
| b) Se ha perdido ADN durante la extracción  | La ausencia de una señal del control interno puede indicar la pérdida de ADN durante la extracción. Asegúrese de utilizar el método de aislamiento validado (consulte el apartado “Protocolo: Aislamiento del ADN y preparación de los ensayos en los instrumentos QIASymphony SP/AS”, página 25) y siga exactamente las instrucciones. Consulte también el apartado “Rendimiento bajo de ácidos nucleicos”, que aparece más arriba. |
| c) Las condiciones de almacenamiento de uno o más componentes del kit no cumplían las instrucciones indicadas en el apartado “Almacenamiento y manipulación de reactivos” (página 16) | Compruebe las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad (en la etiqueta del kit) de los reactivos y utilice un kit nuevo en caso necesario.  |

---

**Posible problema o causa****Medida correctiva**

---

d) El kit *artus T. vaginalis* QS-RGQ ha caducado

Compruebe las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad (en la etiqueta del kit) de los reactivos y utilice un kit nuevo en caso necesario.

**Señales con los controles negativos de la PCR analítica**

a) Se produjo contaminación durante la preparación de la PCR

Repita la serie integrada del QS-RGQ con reactivos nuevos.

Si fuera posible, cierre los tubos de PCR justo después de añadir la muestra que va a analizarse.

Compruebe periódicamente que el espacio y los instrumentos de trabajo no estén contaminados.

---

b) Se produjo contaminación durante la extracción

Repita la extracción y la PCR de la muestra que debe analizarse con reactivos nuevos.

Compruebe periódicamente que el espacio y los instrumentos de trabajo no estén contaminados.

# Información para pedidos

Producto	Contenido	Ref.
<i>artus T. vaginalis</i> QS-RGQ Kit (72)	Para 72 reacciones: mezcla maestra, solución de magnesio, control interno, control positivo <i>T. vaginalis</i> , control negativo <i>T. vaginalis</i>	4571366
<b>Productos relacionados</b>		
QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (92)	Incluye 2 cartuchos de reactivos y gradillas de enzimas y accesorios	939016
QIASymphony SP	Módulo de preparación de muestras QIASymphony, garantía de 1 año para piezas y mano de obra	9001297
QIASymphony AS	Módulo de preparación de ensayos QIASymphony, garantía de 1 año para piezas y mano de obra	9001301
Rotor Gene Q AssayManager Software vesions 1.0.X where X ≥4	Software para análisis sistemático en combinación con los instrumentos Rotor-Gene Q y QIASymphony RGQ; software de licencia única para instalación en un solo ordenador	9022737
Rotor Gene Q MDx Cycler	Termociclador para PCR en tiempo real y analizador de melting de alta resolución (HRM) con 5 canales (verde, amarillo, naranja, rojo y carmesí) más un canal HRM, ordenador portátil, software, accesorios: incluye 1 año de garantía para piezas y mano de obra, instalación y formación no incluidas	9002032

---

Esta página está intencionadamente en blanco.

Marcas comerciales: QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN Group); ATCC® (American Type Culture Collection); BD® (Becton, Dickinson and Company); Corning® (Corning Inc.); eNAT®, FLOQSwab™ (Copan Diagnostics Inc.), Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.).

#### Acuerdo de licencia limitada para el kit *artus* T. vaginalis QS-RGQ

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

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 incorporar o utilizar los componentes contenidos en este kit con componentes no incluidos en el mismo, excepto según se describe en los protocolos proporcionados con el producto, en este manual de uso y en los protocolos adicionales disponibles en [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Algunos de estos protocolos adicionales han sido proporcionados por usuarios de QIAGEN para otros usuarios. 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 ni 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 niega específicamente cualquier otra licencia, explícita o implícita, distinta de las licencias expresamente especificadas.
5. El comprador y el usuario del kit aceptan no realizar ni permitir a otros realizar ningún paso que pueda conducir a acciones que hayan sido prohibidas en las especificaciones anteriores o que pueda facilitarlas. QIAGEN se reserva el derecho de emprender acciones legales ante cualquier tribunal para el cumplimiento de las prohibiciones especificadas en este Acuerdo de licencia limitada y recuperará todos los gastos derivados de la investigación y de los costes del juicio, incluidos los honorarios de abogacía, en cualquier acción emprendida para hacer cumplir este Acuerdo de licencia limitada o cualquier otro derecho de propiedad intelectual en relación con este kit y con sus componentes.

Para obtener las condiciones actualizadas de la licencia, visite [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

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

HB-2296-002 11102416 154022896 10-2017

© 2017 QIAGEN. Reservados todos los derechos.

---

Pedidos [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Servicio técnico [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Sitio web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)