



Marzo 2015

Manual de uso del kit *artus*[®] HCV RG RT-PCR

 24 (ref. 4518263)
 96 (ref. 4518265)

Versión 1

IVD

Diagnóstico *in vitro* cuantitativo

Para utilizar con los instrumentos Rotor-Gene[®] Q

CE
0197

REF

4518263, 4518265

HB

1049309ES



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,

ALEMANIA

R5

MAT

1049309ES



Sample & Assay Technologies

QIAGEN Sample and Assay Technologies

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

QIAGEN sienta las bases de excelencia en los siguientes campos:


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

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

Índice

Contenido del kit	4
Símbolos	4
Almacenamiento	5
Uso previsto	5
Limitaciones del uso del producto	6
Control de calidad	6
Advertencias y precauciones	6
Introducción	7
Principio	7
Información sobre el patógeno	7
Características del rendimiento	8
Equipo y reactivos que debe suministrar el usuario	18
Notas importantes	20
Precauciones generales	20
Recogida, almacenamiento y transporte de las muestras	20
Aislamiento del ARN	22
Control interno	22
Cuantificación	23
Protocolo: PCR y análisis de los datos	24
Guía para la resolución de problemas	34
Referencias citadas	37
Información para pedidos	38

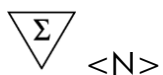
Contenido del kit

artus VZV RG PCR Kit		(24)	(96)
N.º de referencia		4518263	4518265
Número de reacciones		24	96
Azul	Hep. C Virus RG Master A (mezcla maestra Hep. C Virus RG A)	2 x 12 reacciones	8 x 12 reacciones
Violeta	Hep. C Virus RG Master B (mezcla maestra Hep. C Virus RG B)	2 x 12 reacciones	8 x 12 reacciones
Rojo	Hep. C Virus RG QS 1* (10 ⁴ UI/μl)	QS 200 μl	200 μl
Rojo	Hep. C Virus RG QS 2* (10 ³ UI/μl)	QS 200 μl	200 μl
Rojo	Hep. C Virus RG QS 3* (10 ² UI/μl)	QS 200 μl	200 μl
Rojo	Hep. C Virus RG QS 4* (10 ¹ UI/μl)	QS 200 μl	200 μl
Verde	Hep. C Virus RG IC [†]	IC 1000 μl	2 x 1.000 μl
Blanco	Agua (de calidad para PCR)	1.000 μl	1000 μl
	Manual de uso	 1	1

* Estándar de cuantificación.

† Control interno.

Símbolos



Contiene reactivos suficientes para <n> ensayos



Fecha de caducidad



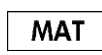
Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*











Número de referencia



Número de lote



Número de material

	Componentes
	Contiene
	Número
	Número mundial de artículo comercial (<i>Global Trade Item Number</i>)
	Limitación de temperatura
	Fabricante
	Consultar instrucciones de uso
	Nota importante

Almacenamiento

Los componentes del kit *artus* HCV RG RT-PCR deben almacenarse a una temperatura de -30°C a -15°C y son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Deben evitarse los ciclos repetidos de descongelación y congelación (> 2), ya que pueden reducir la sensibilidad del ensayo. Si se piensa utilizar los reactivos de forma intermitente, deberán congelarse en fracciones alícuotas. La conservación a 2-8 °C no debe superar un período de cinco horas.

Uso previsto

El kit *artus* HCV QS-RGQ es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos in vitro para la cuantificación del ARN del virus de la hepatitis C (VHC) en plasma humano con EDTA. Este kit para pruebas de diagnóstico utiliza la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR, *reverse transcription-polymerase chain reaction*) y está configurado para su uso con los instrumentos Rotor-Gene Q. El ensayo puede cuantificar el ARN del VHC en un intervalo de 65 – 1 x 10⁶ HCV UI/ml.

 El kit *artus* HCV RG RT-PCR no puede utilizarse con los instrumentos Rotor-Gene Q 2plex.

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

Limitaciones del uso del producto

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*.

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

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

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

Control de calidad

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

Advertencias y precauciones

Siempre que trabaje con productos químicos, utilice una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras. Si desea obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad (SDS) correspondientes. Dichas fichas están disponibles online en un formato PDF cómodo y compacto en www.qiagen.com/safety, donde podrá encontrar, ver e imprimir la ficha de datos de seguridad de cada kit de QIAGEN® y de cada componente del kit.

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

Introducción

El kit *artus* HCV RG RT-PCR es un sistema listo para usar para la detección del ARN del VHC mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en los instrumentos Rotor-Gene Q. Las mezclas maestras Hep. C Virus RG Master A y B contienen los reactivos y las enzimas necesarios para la transcripción inversa y la amplificación específica de una región de 240 pb del genoma del VHC, así como para la detección directa del amplicón específico en el canal de fluorescencia Cycling Green de los instrumentos Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q o Rotor-Gene 6000 o en el canal Cycling A.FAM™ (origen 470 nm, detector 510 nm) del instrumento Rotor-Gene 3000.

Además, el kit *artus* HCV RG RT-PCR contiene un segundo sistema de amplificación heterógeno para identificar una posible inhibición de la PCR. Esto se detecta como un control interno (IC) en el canal de fluorescencia Cycling Orange de los instrumentos Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q o Rotor-Gene 6000 o A.ROX™ (origen 585 nm, detector 610 nm) del instrumento Rotor-Gene 3000. El límite de detección de la RT-PCR analítica del VHC (consulte el apartado “Sensibilidad analítica” en la página 8) no se ve disminuido. Se suministran controles positivos externos (Hep. C Virus RG QS 1–4), que permiten determinar la cantidad de ARN viral. Para obtener más información, consulte el apartado “Cuantificación” en la página 23.

Principio

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

Información sobre el patógeno

La hepatitis C es una inflamación del hígado provocada por el virus del mismo nombre. Al contrario que los virus de las otras hepatitis A, B, D o E, la infección por el virus de la hepatitis C (VHC) deriva, en un elevado número de casos, en una hepatopatía crónica. La infección por el VHC a menudo no produce síntomas durante un período de tiempo relativamente largo. Por este motivo, la mayoría de los pacientes no son conscientes de su infección por el VHC. Sin embargo, el tratamiento es más eficaz en las fases tempranas de la enfermedad. Actualmente, el interferón α (combinado con ribavirina) es el único tratamiento que ha demostrado ser eficaz. No obstante, se sabe también

que solo algunos pacientes con hepatitis C crónica responden al tratamiento con interferón. Por consiguiente, en determinadas circunstancias, este costoso tratamiento puede resultar desfavorable para el paciente y

* Mackay, I.M. (2004) Real-time PCR in the microbiology laboratory. Clin. Microbiol. Infect. 10, 190.

tener graves efectos secundarios como la debilitación del sistema inmunitario, lo que a su vez puede provocar exacerbaciones (p. ej., herpes labial o herpes zóster).

Características del rendimiento

Sensibilidad analítica

Para determinar la sensibilidad analítica del kit *artus* HCV RG RT-PCR, se realizaron diluciones seriadas de estándares desde 10 UI/ μ l hasta un valor nominal de 0,0316 UI/ μ l de copias de ARN transcrito *in vitro* y se analizaron con el kit *artus* HCV RG RT-PCR. El ensayo se realizó en tres días diferentes por octuplicado. Los resultados se determinaron mediante un análisis probit. El límite de detección analítico del kit *artus* HCV RG RT-PCR es de 0,19 UI/ml ($p = 0,05$). Esto significa que existe una probabilidad del 95% de que se detecten 0,19 UI/ μ l.

La sensibilidad analítica teniendo en cuenta la purificación (kit QIAamp® DSP Virus) del kit *artus* HCV RG RT-PCR en instrumentos Rotor-Gene se determinó mediante diluciones seriadas del estándar internacional para el ARN del VHC de la OMS de 500 a un valor nominal de 5 UI/ml del VHC añadido a muestras clínicas de plasma. Estas se sometieron a extracción de ARN con el kit QIAamp DSP Virus (volumen de extracción: 0,5 ml, volumen de elución: 25 μ l). Cada una de las 9 diluciones se analizó con el kit *artus* HCV RG RT-PCR en 3 días diferentes y por octuplicado. Los resultados se determinaron mediante un análisis probit. En la figura 1 se muestra una representación gráfica del análisis probit. El límite de detección analítico teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* HCV RG RT-PCR en combinación con instrumentos Rotor-Gene es de 33,6 UI/ml ($p = 0,05$). Esto significa que existe una probabilidad del 95% de que se detecten 33,6 UI/ml.

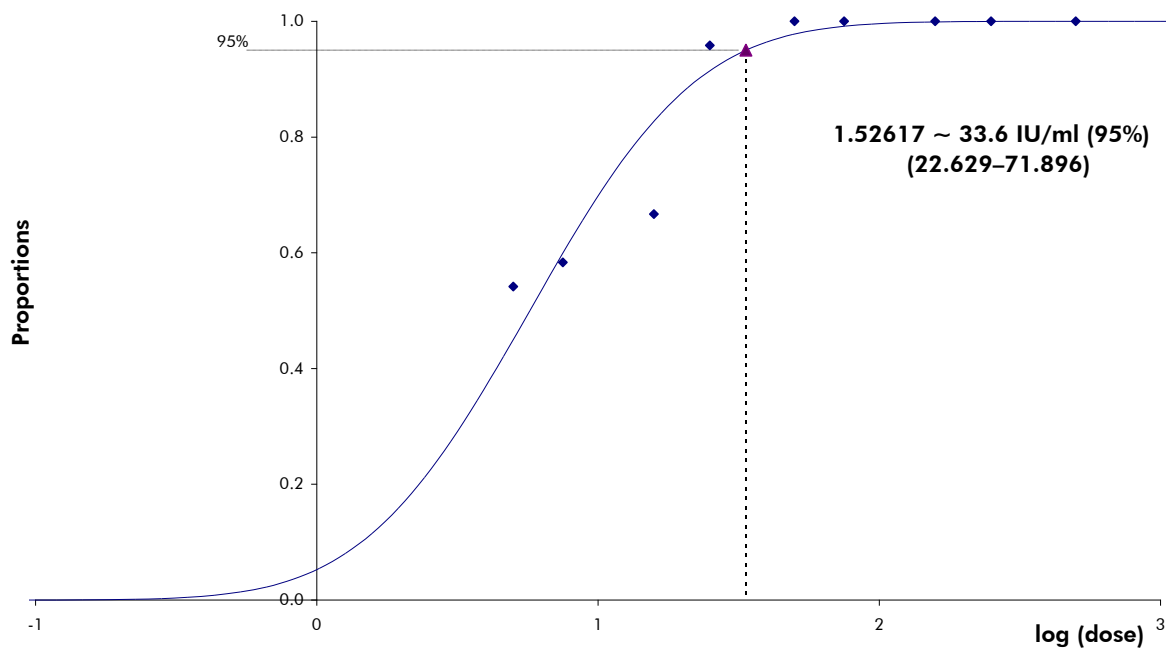


Figura 1. Análisis probit: VHC (Rotor-Gene 3000). Sensibilidad analítica teniendo en cuenta la purificación (kit QIAamp DSP Virus, QIAGEN) del kit *artus* HCV RG RT-PCR en el instrumento Rotor-Gene 3000.

Especificidad

La especificidad del kit *artus* HCV RG RT-PCR se asegura ante todo mediante la selección de los *primers* y de las sondas, así como mediante la selección de condiciones estrictas para la reacción. Los *primers* y las sondas se comprobaron con respecto a posibles homologías con todas las secuencias publicadas en los bancos de genes por medio de un análisis de comparación de secuencias. De este modo se ha asegurado la detección de todos los subtipos y genotipos relevantes.

Además, la especificidad se validó con 100 muestras de plasma VHC-negativas diferentes. Estas no generaron ninguna señal con los *primers* y las sondas específicos del VHC, incluidos en las mezclas maestras Hep. C Virus RG Master.

Se analizó una posible reactividad cruzada del kit *artus* HCV RG RT-PCR mediante el grupo de control indicado en la tabla 2. Ninguno de los patógenos analizados mostró reactividad. No se produjo ninguna reactividad cruzada en el caso de infecciones mixtas.

Tabla 1. Análisis de la especificidad de los genotipos relevantes.

Virus	Genotipo	Origen	VHC (Cycling Green/ A.FAM)	Control interno (Cycling Orange/ A.ROX)
Virus de la hepatitis C	1	NIBSC, HemaCare, Universidad de Essen	+	+
Virus de la hepatitis C	2	NIBSC, HemaCare, Universidad de Essen	+	+
Virus de la hepatitis C	3	NIBSC, HemaCare, Universidad de Essen	+	+
Virus de la hepatitis C	4	NIBSC, HemaCare, Universidad de Essen	+	+
Virus de la hepatitis C	5	NIBSC, HemaCare, Universidad de Essen	+	+
Virus de la hepatitis C	6	NIBSC, HemaCare, Universidad de Essen	+	+

Tabla 2. Análisis de la especificidad del kit con patógenos con posible reactividad cruzada.

Grupo de control	VHC (Cycling Green/ A.FAM)	Control interno (Cycling Orange/ A.ROX)
Virus de la inmunodeficiencia humana 1	-	+
Virus de la hepatitis A	-	+
Virus de la hepatitis B	-	+

Virus del herpes humano 1 (virus del herpes simple 1)	-	+
Virus del herpes humano 2 (virus del herpes simple 2)	-	+
Virus del herpes humano 3 (virus de la varicela-zóster)	-	+
Virus del herpes humano 5 (citomegalovirus)	-	+

La tabla continúa en la página siguiente

Tabla 2. Continuación

Grupo de control	VHC (Cycling Green/ A.FAM)	Control interno (Cycling Orange/ A.ROX)
Virus linfotrópico humano de linfocitos T tipos 1 y 2	-	+
Virus del herpes humano 6A	-	+
Virus del herpes humano 6B	-	+
Virus del herpes humano 8 (virus del herpes asociado al sarcoma de Kaposi)	-	+
Enterovirus	-	+
Parvovirus B19	-	+
Fiebre del dengue	-	+
Fiebre amarilla	-	+
<i>Aspergillus flavus</i>	-	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	+
<i>Candida albicans</i>	-	+
<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	+
<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	+
<i>Filobasidiella neoformans</i>	-	+

<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	+
<i>Pneumocystis carinii</i>	-	+
<i>Staphylococcus</i> sp.	-	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	+

Intervalo lineal

El intervalo lineal (medición analítica) del kit *artus* HCV RG RT-PCR se determinó mediante el análisis de diluciones seriadas de VHC transcrito *in vitro* que variaban entre 1×10^7 UI/ μ l y 1 UI/ μ l. Las diluciones seriadas han sido calibradas frente al estándar internacional para el ARN del VHC de la OMS.

Cada dilución se analizó en duplicados ($n = 8$) con el kit *artus* HCV RG RT-PCR en instrumentos Rotor-Gene.

El intervalo lineal del kit *artus* HCV RG RT-PCR se ha determinado para cubrir concentraciones desde 1 UI/ μ l hasta al menos 1×10^7 UI/ μ l.

El intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* HCV RG RT-PCR se determinó mediante el análisis de muestras procedentes de Acrometrix. La purificación se realizó en duplicaciones ($n = 6$) desde 50 UI/ml hasta 10^3 UI/ml y en duplicados ($n = 4$) de 5×10^3 UI/ml hasta 10^6 UI/ml mediante el kit QIAamp DSP Virus (volumen de extracción: 0,5 ml, volumen de elución: 25 μ l). Cada una de las muestras se analizó con el kit *artus* HCV RG RT-PCR en instrumentos Rotor-Gene. Se determinó el intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* HCV RG RT-PCR para incluir concentraciones de 65 UI/ml hasta al menos 10^6 UI/ml (consulte la figura 2).

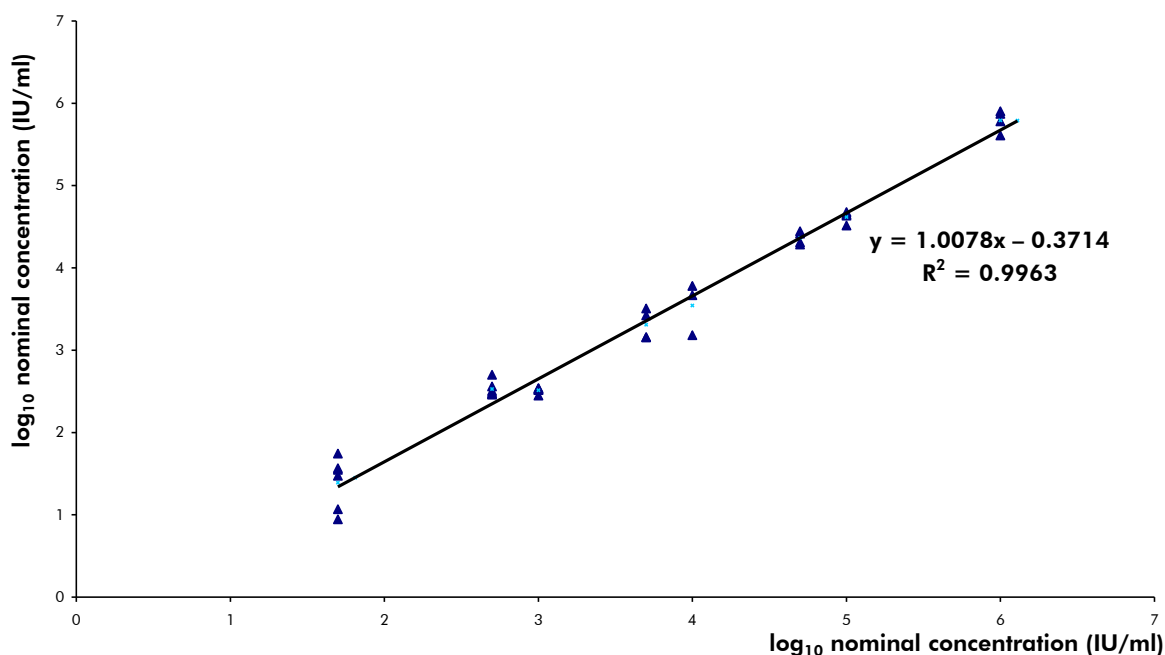


Figura 2. Rango lineal del kit *artus* HCV RG RT-PCR. Cálculo del intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación. La línea recta se determinó mediante una regresión lineal del \log_{10} de las concentraciones calculadas con el \log_{10} de las concentraciones nominales. En la figura se incluye la ecuación de la línea de regresión.

Precisión

Los datos de precisión del kit *artus* HCV RG RT-PCR en instrumentos Rotor-Gene permiten la determinación de la varianza total del ensayo. La varianza total consta de la variabilidad intraensayo (variabilidad de los múltiples resultados de las muestras de concentración idéntica en un único experimento), de la variabilidad interensayo (variabilidad de los múltiples resultados del ensayo generados en diferentes instrumentos del mismo tipo por diferentes operadores en un único laboratorio) y de la variabilidad interlotes (variabilidad de los múltiples resultados del ensayo mediante diferentes lotes). Los datos obtenidos se utilizaron para determinar la desviación estándar, la varianza y el coeficiente de variación para la PCR específica del patógeno y para la PCR del control interno.

Se han obtenido datos de precisión del kit *artus* HCV RG RT-PCR utilizando el estándar de cuantificación de menor concentración (QS 4; 10 UI/ μ l). El análisis se realizó por octuplicado. Los datos de precisión se calcularon según los valores C_T de las curvas de amplificación (C_T : umbral del ciclo, consulte la tabla 3). Además, se determinaron los datos de precisión para los resultados cuantitativos en UI/ μ l mediante los valores C_T correspondientes (consulte la tabla 4). En función de estos resultados, la dispersión estadística total de cualquier muestra existente con la concentración mencionada es del 1,52% (C_T) o del 25,71% (concentración) y del 0,75% (C_T) para la detección del control

interno. Estos valores se basan en la totalidad de los valores individuales de las variabilidades determinadas.

Tabla 3. Datos de precisión en función de los valores de C_T .

	Valor de C_T	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
Variabilidad intraensayo: Hep. BK Virus RG QS 4	32,81	0,09	0,28
Variabilidad intraensayo: Hep. C Virus RG IC	30,04	0,08	0,27
Variabilidad interensayo: Hep. BK Virus RG QS 4	32,14	0,5	1,57
Variabilidad interensayo: Hep. C Virus RG IC	30,23	0,22	0,71
Variabilidad interlote: Hep. BK Virus RG QS 4	32,56	0,48	1,46
Variabilidad interlote: Hep. C Virus RG IC	30,28	0,24	0,78
Varianza total: Hep. BK Virus RG QS 4	32,41	0,49	1,52
Varianza total: Hep. C Virus RG IC	30,29	0,29	0,75

Tabla 4. Datos de precisión en función de los resultados cuantitativos (en UI/ μ l).

	Desviación estándar	Varianza	Coefficiente de variación (%)
Variabilidad	0,64	0,41	6,34

intraensayo: Hep. BK Virus RG QS 4			
Variabilidad interensayo: Hep. BK Virus RG QS 4			
	1,00	1,00	9,93
Variabilidad interlote: Hep. BK Virus RG QS 4			
	3,92	15,34	37,35
Varianza total: Hep. BK Virus RG QS 4			
	2,63	6,93	25,71

Robustez

La verificación de la robustez permite determinar la tasa de fracaso total del kit *artus* HCV RG RT-PCR. Se añadieron 2 UI/ μ l de volumen de elución de ARN de control del VHC (aproximadamente tres veces la concentración del límite de sensibilidad analítico) a 100 muestras de plasma VHC-negativas. Tras la extracción con el kit QIAamp DSP Virus, estas muestras se analizaron con el kit *artus* HCV RG RT-PCR. La tasa de fracaso para todas las muestras de VHC fue del 0%. Además, la robustez del control interno se evaluó mediante la purificación y el análisis de 100 muestras de plasma VHC-negativas. La tasa de fracaso total fue del 0%. No se observaron inhibiciones. Por lo tanto, la robustez del kit *artus* HCV RG RT-PCR es del $\geq 99\%$.

Reproducibilidad

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

Evaluación diagnóstica

El kit *artus* HCV RG RT-PCR se evaluó en un estudio. Se analizaron de forma retrospectiva 276 muestras de plasma comparando el kit *artus* HCV RG RT-PCR con el ensayo COBAS® TaqMan® HCV. Todas las muestras de plasma se analizaron previamente con un resultado positivo o negativo utilizando el ensayo COBAS TaqMan HCV para diagnóstico sistemático.

El ARN del VHC para el análisis con el kit *artus* HCV RG RT-PCR se aisló utilizando el kit QIAamp DSP Virus, y el análisis se realizó en el instrumento Rotor-Gene 6000. Para el análisis comparativo con el ensayo COBAS TaqMan HCV, el ARN del VHC se analizó conforme a las instrucciones del fabricante proporcionadas en el prospecto. Los resultados obtenidos con el kit *artus* HCV RG PCR se compararon con los de el ensayo COBAS TaqMan HCV (consulte la tabla 5 y la figura 3).

137 de 139 muestras que tuvieron un resultado positivo con el ensayo COBAS TaqMan VHC tuvieron también un resultado positivo con el kit *artus* HCV RG RT-PCR. Todas las 137 muestras que tuvieron un resultado negativo con el ensayo COBAS TaqMan VHC tuvieron también un resultado negativo con el kit *artus* HCV RG RT-PCR.

Si se toman como referencia los resultados del ensayo COBAS TaqMan HCV, la sensibilidad diagnóstica es del 100% y la especificidad diagnóstica del 98,6%.

Tabla 5. Resultados del análisis retrospectivo de las 276 muestras de plasma con EDTA

		Ensayo COBAS TaqMan HCV		
		+	-	Total
Kit <i>artus</i> VZV RG PCR	+	137	2	139
	-	0	137	137

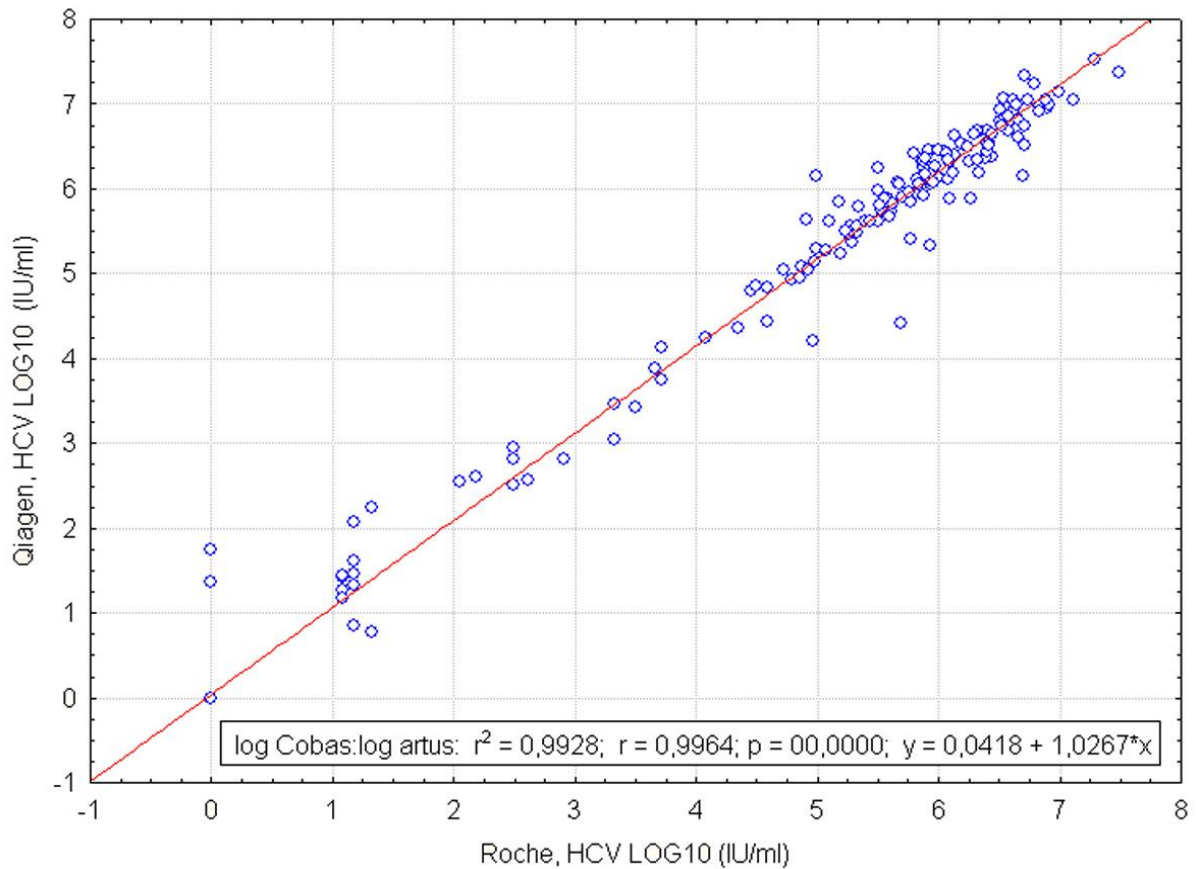


Figura 3. Comparación del ensayo COBAS TaqMan HCV (Roche, VHC; con purificación de las muestras con el sistema COBAS AmpliPrep) con el kit artus HCV RG RT-PCR (QIAGEN, VHC; con purificación de las muestras con el kit QIAamp DSP Virus). La correlación de los resultados cuantitativos de ambos sistemas de análisis (tabla 5) se analizó mediante regresión lineal. Los resultados de ambos kits se muestran en un gráfico de dispersión XY con escala logarítmica.

Equipo y reactivos que debe suministrar el usuario

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

- Kit de aislamiento de ARN (consulte el apartado “Aislamiento del ARN” en la página 22)
- Pipetas (ajustables)*
- Puntas de pipeta estériles con filtro
- Agitador vorticial*
- Centrifugadora de mesa* con rotor para tubos de reacción de 2 ml
- Instrumento Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q o Rotor-Gene* con canales de fluorescencia para Cycling Green y Cycling Orange o con canales de fluorescencia para Cycling A.FAM y Cycling A.ROX
- Software Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q, versión 1.7.94 o superior (software Rotor-Gene 6000, versión 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94; software Rotor-Gene 3000, versión 6.0.23)
- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (tubos en tira y tapas, 0,1 ml), para uso con un rotor de 72 pocillos (n.º de referencia 981103 o 981106)
- De forma alternativa: PCR Tubes, 0.2 ml (tubos de PCR, 0,2 ml), para uso con un rotor de 36 pocillos (n.º de referencia 981005 o 981008)
- Bloque de refrigeración (Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes [bloque de carga para 72 tubos de 0,1 ml], n.º de referencia 9018901, o Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes [bloque de carga para 96 tubos de 0,2 ml], n.º de referencia 9018905)

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

† El kit *artus* HCV RG RT-PCR no puede utilizarse con los instrumentos Rotor-Gene Q 2plex.

Notas importantes

Precauciones generales

El usuario debe tener en cuenta siempre las siguientes indicaciones:

- Utilice puntas de pipeta estériles con filtro.
- Almacene y extraiga los materiales positivos (muestras, controles positivos y amplicones) por separado de todos los demás reactivos y añádalos a la mezcla de reacción en un área separada espacialmente.
- Descongele por completo todos los componentes a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de comenzar un ensayo.
- Una vez descongelados, mezcle los componentes (mediante pipeteo ascendente y descendente repetido o mediante agitación vorticial de pulsos) y centrifugue brevemente.
- Trabaje con rapidez y mantenga los componentes en hielo o en el bloque de refrigeración (bloque de carga de 72/96 pocillos).

Recogida, almacenamiento y transporte de las muestras

i Todas las muestras deben tratarse como material potencialmente infeccioso.

Sólo se permiten los siguientes materiales de muestra, para los cuales deben observarse estrictamente las siguientes normas e instrucciones específicas relativas a la recogida, el transporte y el almacenamiento.

i Diversos estudios actuales consideran el plasma con ácido etilendiaminotetracético (EDTA) y el plasma con citrato como los materiales de muestra más adecuados para la detección del VHC. Por consiguiente, recomendamos utilizar estos materiales con el kit *artus* HCV RG RT-PCR.

La validación interna del kit *artus* HCV RG RT-PCR se ha llevado a cabo utilizando muestras de plasma humano con EDTA. No se han validado otros materiales de muestra. Utilice exclusivamente el kit de aislamiento de ARN recomendado (consulte "Aislamiento del ARN" en la página 22) para obtener información sobre la preparación de las muestras.

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

Recogida de las muestras

Cada extracción de sangre ocasiona una lesión de los vasos sanguíneos (arterias, venas y capilares). Solamente debe utilizarse material inocuo y estéril.

Para la extracción de sangre se dispone de material desechable adecuado. Para las venopunciones no deben utilizarse agujas capilares demasiado finas. La extracción de sangre venosa debe realizarse en las regiones adecuadas de la flexura del codo, el antebrazo o el dorso de la mano. La sangre debe extraerse con tubos de recogida de muestras estándar (tubo de tapón rojo de Sarstedt o tubo equivalente de otro fabricante). Debe extraerse un volumen de 5-10 ml de sangre con EDTA. Los tubos deben mezclarse con un agitador de varilla inmediatamente después de la recogida de la muestra (8 veces, sin agitar).

i No deben utilizarse muestras de sujetos tratados con heparina (consulte el apartado “Sustancias causantes de interferencias” en la página Sustancias causantes de interferencias en la página 21).

Almacenamiento de las muestras

La sangre completa debe separarse en plasma y componentes celulares mediante centrifugación durante 20 minutos a 800-1.600 x g en un plazo de 6 horas. El plasma aislado debe transferirse a tubos de polipropileno estériles. La sensibilidad del ensayo puede verse reducida si se congelan las muestras de forma sistemática o si se almacenan durante un período de tiempo mayor. El ARN encapsulado del virus es estable durante días si se almacena a 4 °C, durante semanas si se almacena a -20 °C e incluso durante meses y años si se almacena a -70 °C*.

Transporte de las muestras

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

Las muestras deben enviarse en el plazo de 6 horas. No se recomienda almacenar las muestras en el lugar de extracción. Es posible enviar por correo las muestras, siguiendo las instrucciones legales para el transporte de material patógeno. Recomendamos realizar el transporte de las muestras por mensajería. Las muestras de sangre deben enviarse refrigeradas (entre 2 °C y 8 °C) y el plasma separado debe enviarse ultracongelado (entre -15 °C y -30 °C).

Sustancias causantes de interferencias

Las concentraciones elevadas de bilirrubina (≤ 15 mg/dl) y lípidos (≤ 800 mg/dl) y las muestras hemolizadas no influyen en el sistema. La heparina (≤ 10 UI/ml) afecta a la PCR. No deben utilizarse muestras recogidas

en tubos que contengan heparina como anticoagulante. Tampoco deben utilizarse muestras de pacientes tratados con heparina.

* Arbeitskreis Blut, V17 (09.1997), Bundesgesundheitsblatt 11/1997, p. 452–456.

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

Aislamiento del ARN

El kit QIAamp DSP Virus (QIAGEN, n.º de referencia 60704) está validado para la purificación de ARN viral a partir de plasma humano para utilizarse con el kit *artus* HCV RG RT-PCR. Realice la purificación del ARN viral conforme a las instrucciones descritas en el manual de uso del kit QIAamp DSP Virus (*QIAamp DSP Virus Kit Handbook*).

i La utilización de ARN transportador es esencial para la eficiencia de la extracción y, por consiguiente, para el rendimiento en la obtención de ADN/ARN. Para aumentar la estabilidad del ARN transportador suministrado con el kit QIAamp DSP Virus, recomendamos seguir la información referente a la reconstitución y el almacenamiento del ARN transportador que se proporciona en el manual de instrucciones (“Preparación de reactivos y tampones”).

i El control interno del kit *artus* HCV RG RT-PCR puede utilizarse directamente en el procedimiento de aislamiento (consulte el apartado “Control interno” más adelante). Asegúrese de procesar al mismo tiempo una muestra de plasma negativa durante la purificación. La señal del control interno correspondiente sirve como base para evaluar la purificación.

Control interno

Se suministra un control interno (Hep. C Virus RG IC). Esto permite al usuario controlar el procedimiento de aislamiento del ARN y comprobar una posible inhibición de la PCR. Para esta aplicación, añada el control interno durante el aislamiento en una proporción de 0,1 µl por 1 µl de volumen de elución. Por ejemplo, usando el kit QIAamp DSP Virus, el ARN se eluye en 60 µl de tampón de elución (AVE). Por lo tanto, deben añadirse inicialmente 6 µl del control interno.

i El control interno y el ARN transportador (consulte el apartado “Aislamiento del ARN”, anteriormente) deben añadirse únicamente a la mezcla del tampón de lisis y el material de muestra o directamente al tampón de lisis.

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

i No añada el control interno ni el ARN transportador directamente al material de muestra.

El control interno también puede utilizarse exclusivamente para comprobar una posible inhibición de la PCR. Para esta aplicación, añada el control interno directamente a la mezcla maestra de Hep. C Virus RG Master A y Hep. C Virus RG Master B, tal como se describe en el paso 2b del protocolo (página 25).

Cuantificación

Los estándares de cuantificación incluidos (Hep. C Virus RG QS 1–4) se tratan como muestras previamente purificadas y se utiliza el mismo volumen (20 μ l). Para generar una curva de estándares con los instrumentos Rotor-Gene Q, los 4 estándares de cuantificación deben utilizarse y definirse en el cuadro de diálogo “*Edit Samples*” (Editar muestras) como estándares con las concentraciones especificadas (consulte el manual del usuario del instrumento).

i Los estándares de cuantificación se definen como UI/ μ l*. Para convertir los valores determinados mediante la curva de estándares en UI/ml de material de muestra debe utilizarse la siguiente ecuación:

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

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

* El estándar se ha calibrado utilizando el 1.^{er} estándar internacional para el VHC (OMS).

Protocolo: PCR y análisis de los datos



Cuestiones importantes antes de comenzar

- Antes de comenzar el procedimiento, lea el apartado “Notas importantes” en las páginas 20-23.
- Dedique tiempo suficiente a familiarizarse con el instrumento Rotor-Gene Q antes de iniciar el protocolo. Consulte el manual del usuario del instrumento.
- Asegúrese de que se incluya al menos un estándar de cuantificación y un control negativo (agua de calidad para PCR) para cada serie de PCR. Para generar una curva de estándares, utilice los 4 estándares de cuantificación suministrados (Hep. C Virus RG QS 1–4) para cada serie de PCR.

Lo que hay que hacer antes de comenzar

- Asegúrese de que se ha preenfriado el bloque de refrigeración (accesorio del instrumento Rotor-Gene Q) a 2-8 °C.
- Antes de cada uso, todos los reactivos deben ser descongelados completamente, mezclados (mediante pipeteo ascendente y descendente repetido o mediante agitación vorticial rápida) y centrifugados brevemente.

Procedimiento

- 1. Coloque el número deseado de tubos de PCR en los adaptadores del bloque de refrigeración.**
- 2. Si va a utilizar el control interno para supervisar el procedimiento de aislamiento del ARN y comprobar una posible inhibición de la PCR, siga el paso 2a. Si va a utilizar el control interno exclusivamente para comprobar una posible inhibición de la PCR, siga el paso 2b.**
- 2a. El control interno ya se ha añadido a la etapa de aislamiento (consulte el apartado “Control interno” en la página 22). En este caso, prepare una mezcla maestra según se indica en la tabla 6.**

La mezcla de reacción contiene generalmente todos los componentes necesarios para la PCR excepto la muestra.

Tabla 6. Preparación de la mezcla maestra (control interno utilizado para supervisar el aislamiento del ARN y comprobar una posible inhibición de la PCR).

Número de muestras	1	12
Hep. C Virus RG Master A (mezcla maestra Hep. C Virus RG A)	12 μ l	144 μ l
Hep. C Virus RG Master B (mezcla maestra Hep. C Virus RG B)	18 μ l	216 μ l
Hep. C Virus RG IC	0 μ l	0 μ l
Volumen total	30 μl	360 μl

2b. El control interno debe añadirse directamente a la mezcla de Hep. C Virus Master A y Hep. C Virus Master B. En este caso, prepare una mezcla maestra según se indica en la tabla 7.

La mezcla de reacción contiene generalmente todos los componentes necesarios para la PCR excepto la muestra.

Tabla 7. Preparación de la mezcla maestra (control interno utilizado exclusivamente para comprobar una posible inhibición de la PCR).

Número de muestras	1	12
Hep. C Virus RG Master A (mezcla maestra Hep. C Virus RG A)	12 μ l	144 μ l
Hep. C Virus RG Master B (mezcla maestra Hep. C Virus RG B)	18 μ l	216 μ l
Hep. C Virus RG IC	2 μ l	24 μ l
Volumen total	32 μl	384 μl

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

3. Pipetee 30 μ l de la mezcla maestra en cada tubo de PCR. A continuación, añada 20 μ l del ARN eluido de la muestra (consulte la tabla 8). En correspondencia, deben usarse 20 μ l de al menos uno

de los estándares de cuantificación (Hep. C Virus RG QS 1–4)) como control positivo y 20 μ l de agua (agua de calidad para PCR) como control negativo.

Tabla 8. Preparación del ensayo de PCR

Número de muestras	1	12
Mezcla maestra	30 μ l	30 μ l (cada una)
Muestra	20 μ l	20 μ l (cada una)
Volumen total	50 μl	50 μl (cada una)

4. Cierre los tubos de PCR. Asegúrese de que el anillo de bloqueo (accesorio del instrumento Rotor-Gene) está colocado en la parte superior del rotor para prevenir la apertura accidental de los tubos durante el procesamiento.
5. Para la detección de ARN del VHC, cree un perfil de temperatura siguiendo los pasos que se indican a continuación.

Configuración de los parámetros generales del ensayo	Figuras 4, 5, 6
Transcripción inversa del ARN	Figura 7
Activación inicial de la enzima <i>hot-start</i> (arranque en caliente)	Figura 8
Amplificación del ADNc	Figura 9
Ajuste de la sensibilidad de los canales de fluorescencia	Figura 10
Inicio de la serie	Figura 11

Todas las especificaciones hacen referencia al software Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q, versión 1.7.94, al software Rotor-Gene 6000, versiones 1.7.65, 1.7.87 o 1.7.94, y al software Rotor-Gene 3000, versión 6.0.23. Puede encontrar más información acerca de la programación de los instrumentos Rotor-Gene Q en la guía del usuario del instrumento. En las ilustraciones, estos valores de configuración aparecen recuadrados en negrita. Se incluyen ilustraciones para los instrumentos Rotor-Gene Q. En

caso de que se requieran valores diferentes para el instrumento Rotor-Gene 3000, estas diferencias se describen en el texto.

6. En primer lugar, abra el cuadro de diálogo "New Run Wizard" (Asistente para nueva serie) (figura 4). Marque la casilla "Locking Ring Attached" (Anillo de bloqueo acoplado) y haga clic en "Next" (Siguiete).

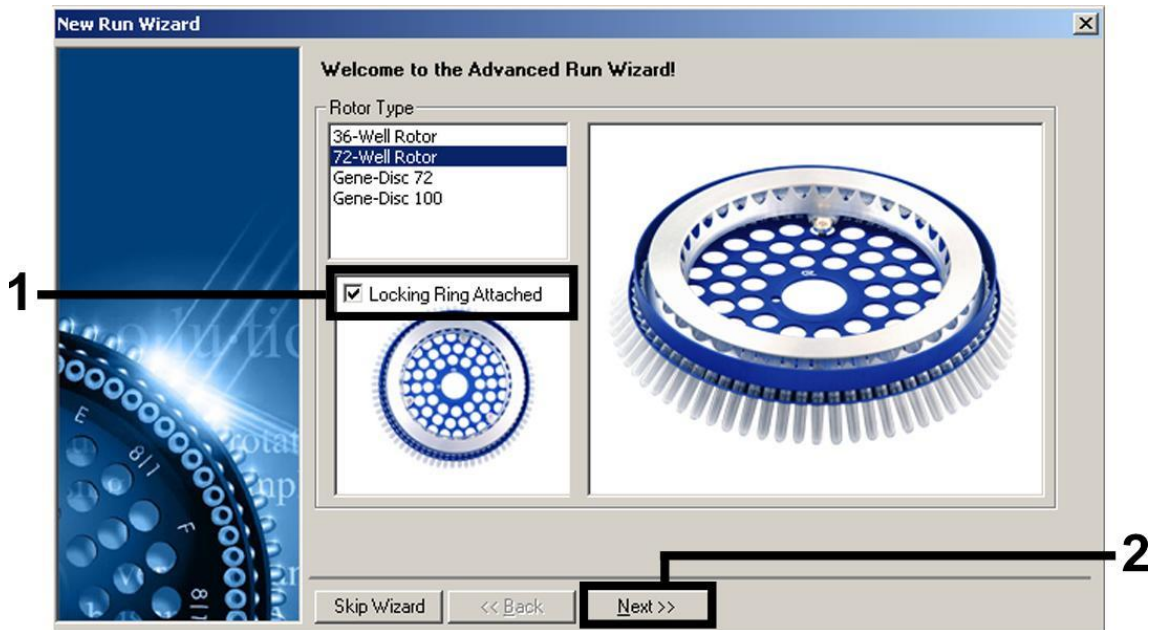


Figura 4. Cuadro de diálogo "New Run Wizard".

7. Seleccione 50 en el campo "Reaction Volume (μL):" (Volumen de reacción [μL]) y haga clic en "Next" (figura 5).

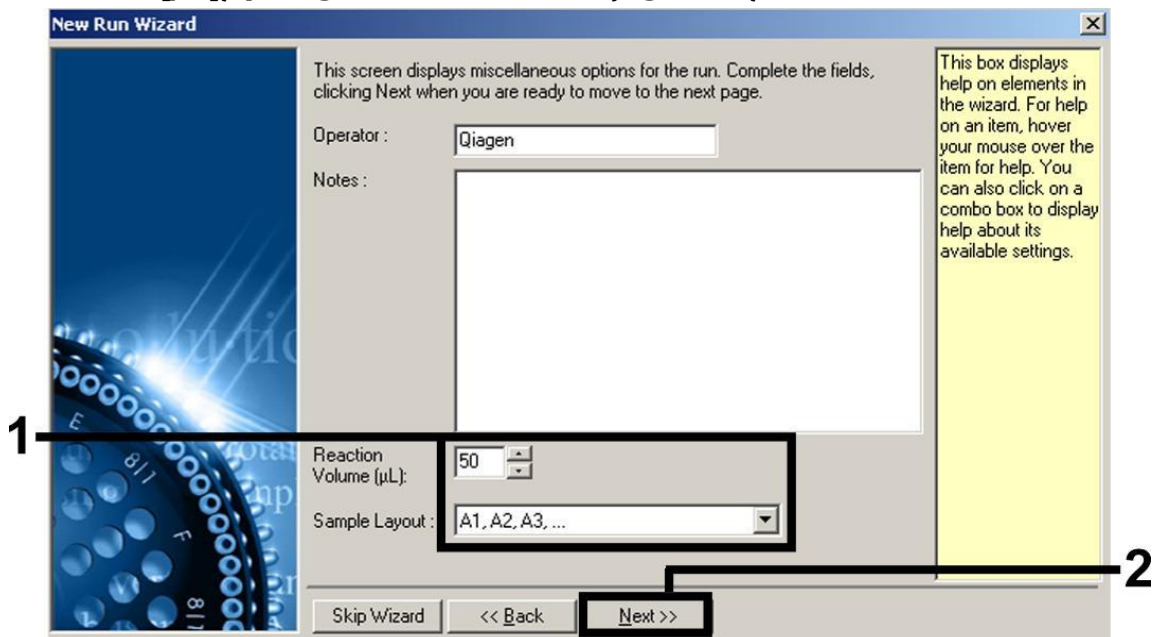


Figura 5. Configuración de los parámetros generales del ensayo.

8. Haga clic en el botón "Edit Profile" (Editar perfil) en el siguiente cuadro de diálogo "New Run Wizard" (figura 6) y programe el perfil de temperatura tal como se muestra en las figuras 6-9.

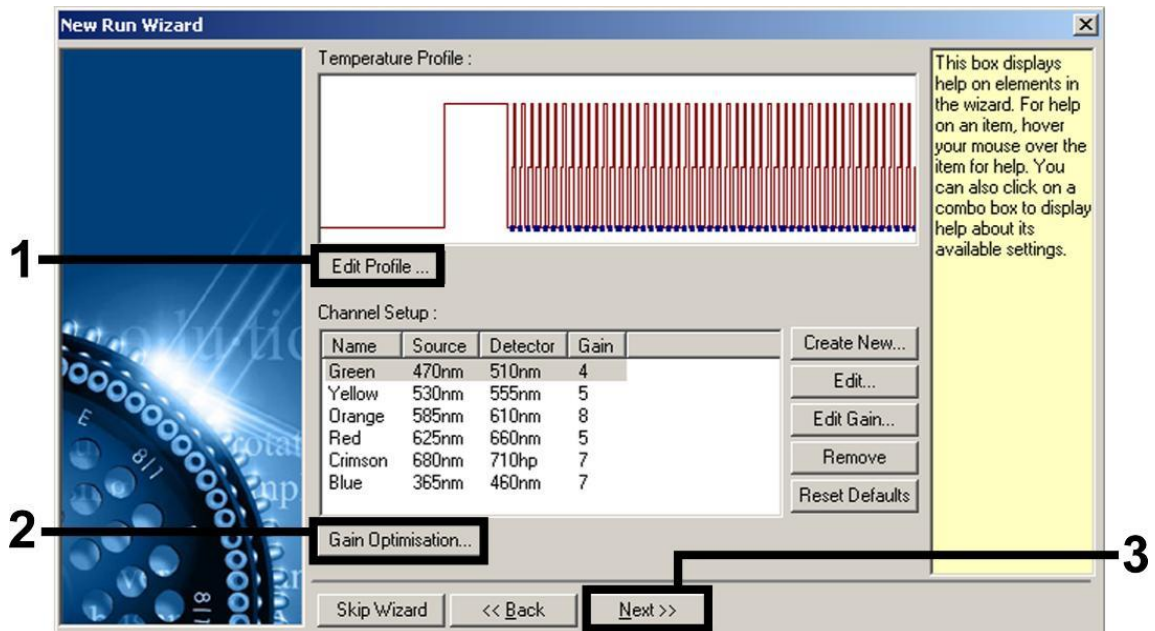


Figura 6. Edición del perfil.

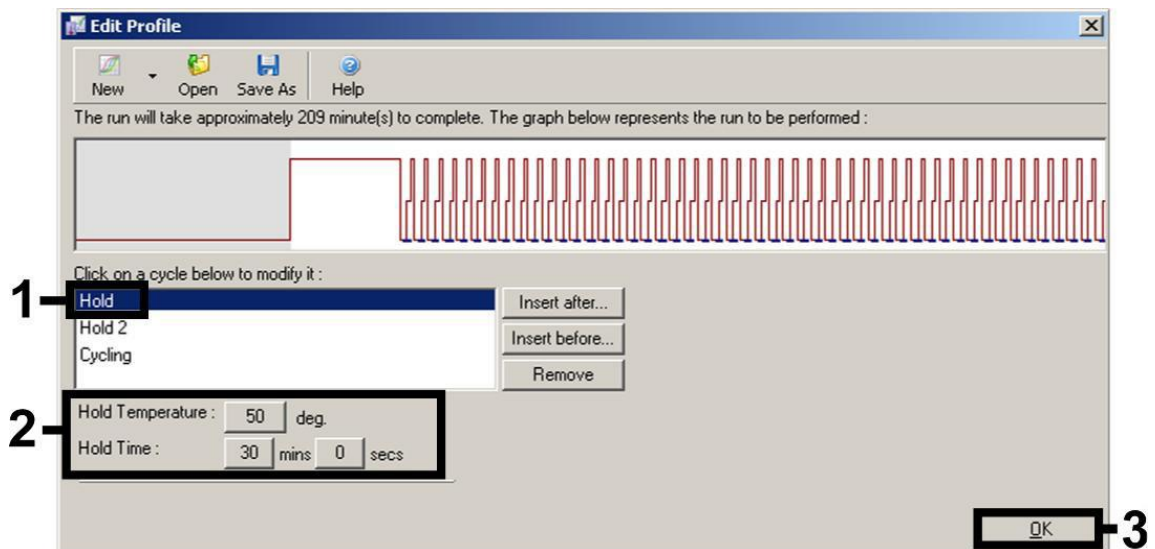


Figura 7. Transcripción inversa del ARN.

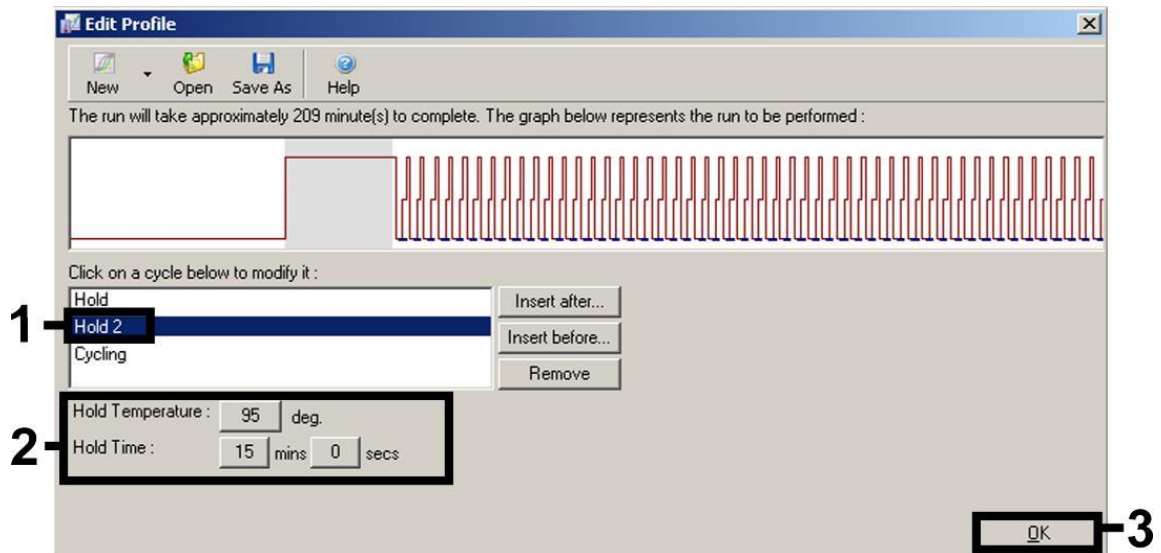


Figura 8. Activación inicial de la enzima *hot-start*.

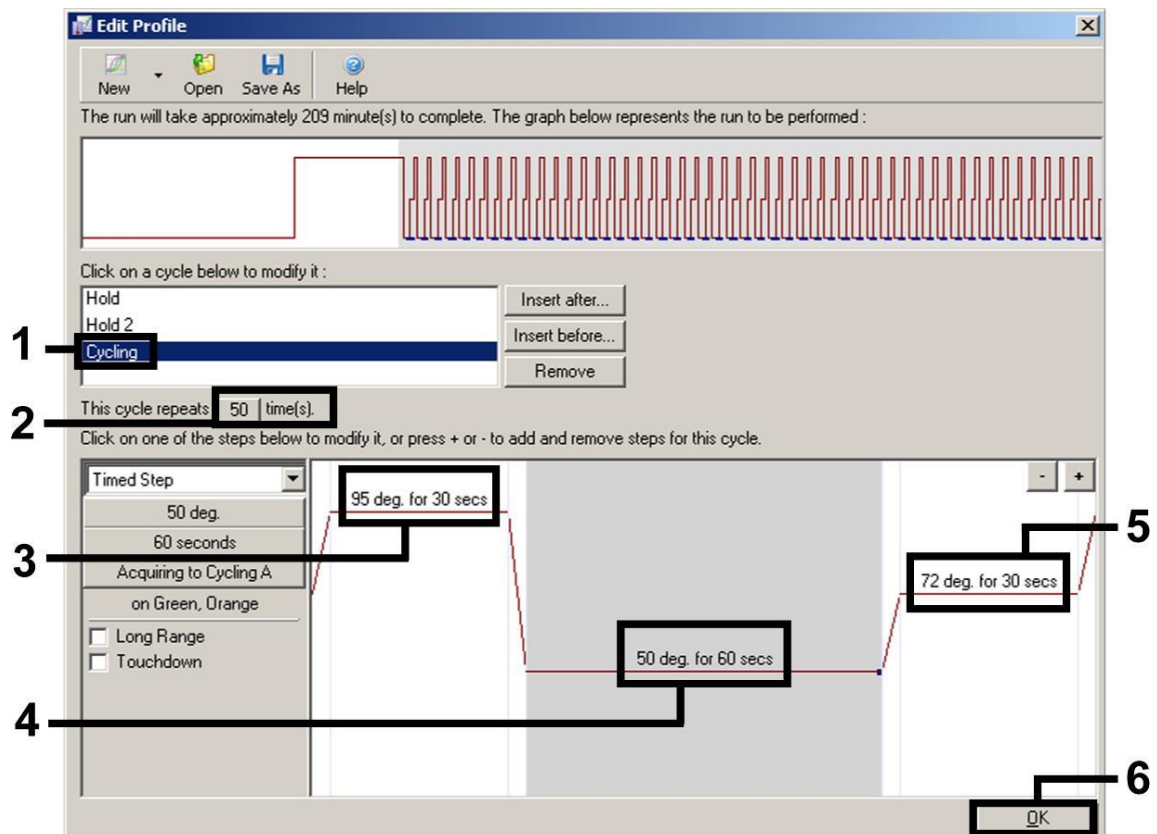


Figura 9. Amplificación del ADNc. Tenga en cuenta que, en el instrumento Rotor-Gene 3000, el software definirá los colorantes fluorescentes como "FAM/Sybr, ROX".

9. **El intervalo de detección de los canales de fluorescencia debe determinarse según las intensidades de fluorescencia de los tubos de PCR. Haga clic en "Gain Optimisation" (Optimización de ganancia) en el cuadro de diálogo "New Run Wizard" (consulte la figura 6) para abrir el cuadro de diálogo "Auto-Gain Optimisation Setup" (Configuración de la optimización de ganancia automática). Configure la temperatura de calibración en 50 para que coincida**

con la temperatura de apareamiento del programa de amplificación (figura 10).

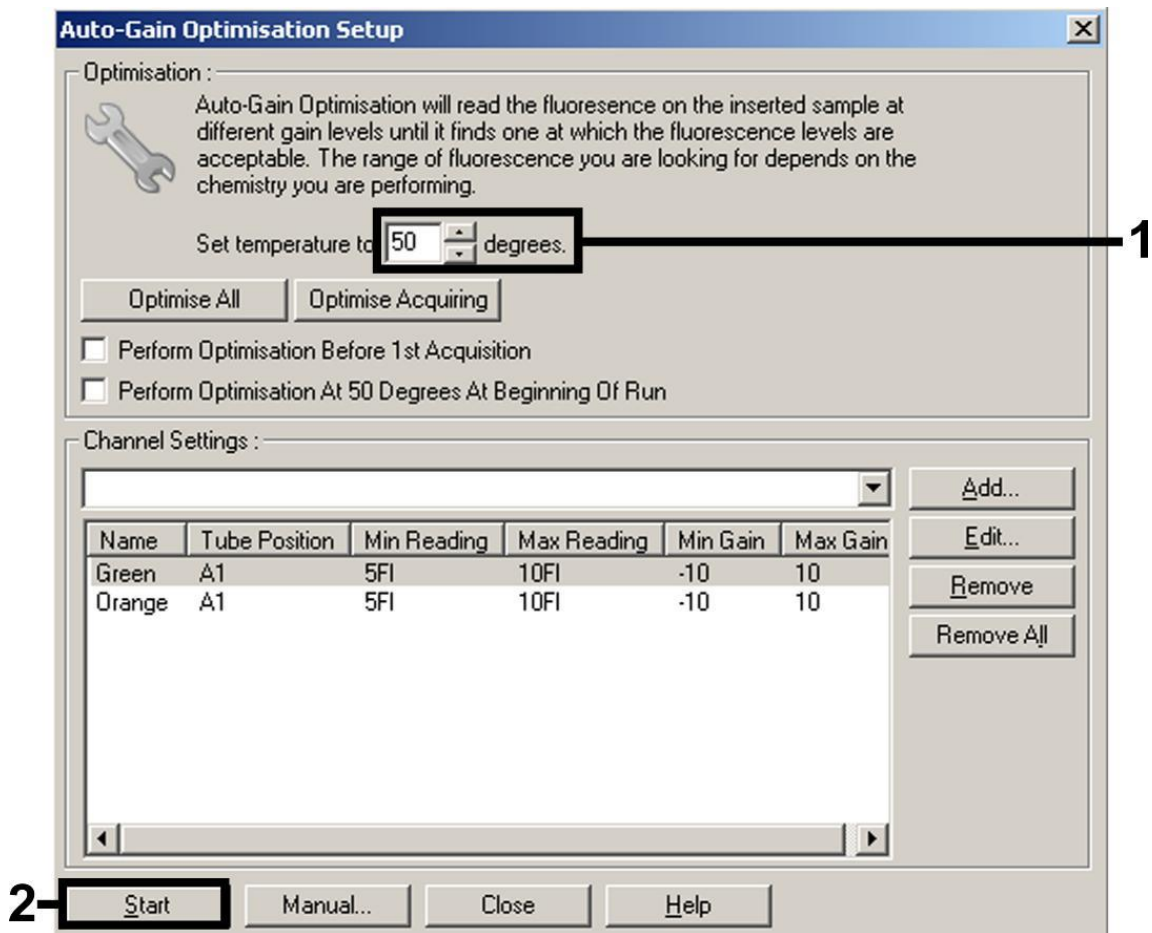


Figura 10: Ajuste de la sensibilidad de los canales de fluorescencia. Tenga en cuenta que, en el instrumento Rotor-Gene 3000, el software definirá los colorantes fluorescentes como "FAM/Sybr" y "ROX".

10. Los valores de ganancia determinados por la calibración de los canales se guardan automáticamente y se muestran en la última ventana de menú del procedimiento de programación (figura 11). Haga clic en "Start Run" (Iniciar serie).

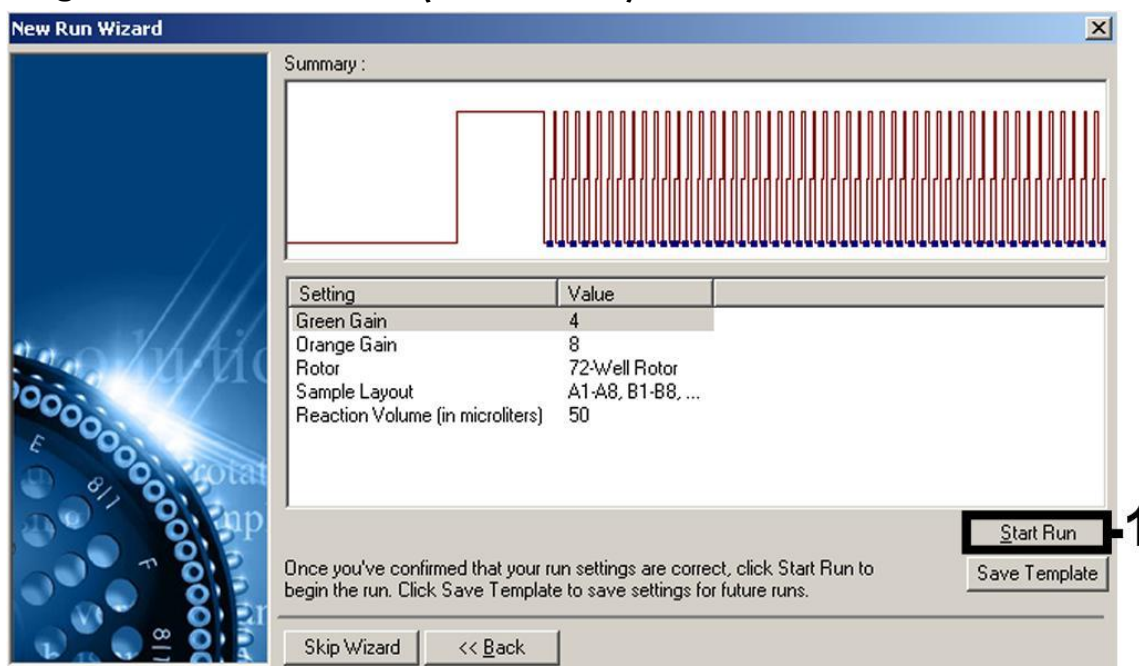


Figura 11. Inicio de la serie. Tenga en cuenta que, en el instrumento Rotor-Gene 3000, el software definirá los colorantes fluorescentes como "FAM/Sybr" y "ROX".

11. Cuando haya finalizado la serie, analice los datos. Son posibles los siguientes resultados (11a, 11b y 11c).

En las figuras 12 y 13 se presentan ejemplos de reacciones de PCR positivas y negativas.

La Tabla 9 muestra pautas para la interpretación de los resultados cuantitativos.

- 11a. Se detecta una señal en el canal de fluorescencia Cycling Green. El resultado del análisis es positivo: la muestra contiene ARN del VHC.

En este caso, la detección de una señal en el canal Cycling Orange no es imprescindible, ya que las concentraciones altas iniciales de ARN del VHC (señal positiva en el canal Cycling Green) pueden dar lugar a una reducción o a la ausencia de señal de fluorescencia del control interno en el canal Cycling Orange (competición).

i Tenga en cuenta que, en el instrumento Rotor-Gene 3000, los canales relevantes son Cycling A.FAM para la señal positiva y Cycling A.ROX para el control interno.

11b. No se detecta una señal en el canal de fluorescencia Cycling Green. Al mismo tiempo, aparece una señal procedente del control interno en el canal Cycling Orange. En la muestra no hay ARN del VHC detectable. Puede considerarse negativa.

En el caso de una RT-PCR negativa del VHC, la señal detectada del control interno descarta la posibilidad de una inhibición de la RT-PCR.

i Tenga en cuenta que, en el instrumento Rotor-Gene 3000, los canales relevantes son Cycling A.ROX para el control interno y ausencia de señal para Cycling A.FAM.

11c.No se detecta una señal en los canales Cycling Green o Cycling Orange. No puede determinarse un resultado.

Puede encontrar información acerca de las fuentes de error y su solución en el apartado “Guía para la resolución de problemas” en la página 34.

i Tenga en cuenta que, en el instrumento Rotor-Gene 3000, los canales relevantes son Cycling A.FAM y Cycling A.ROX.

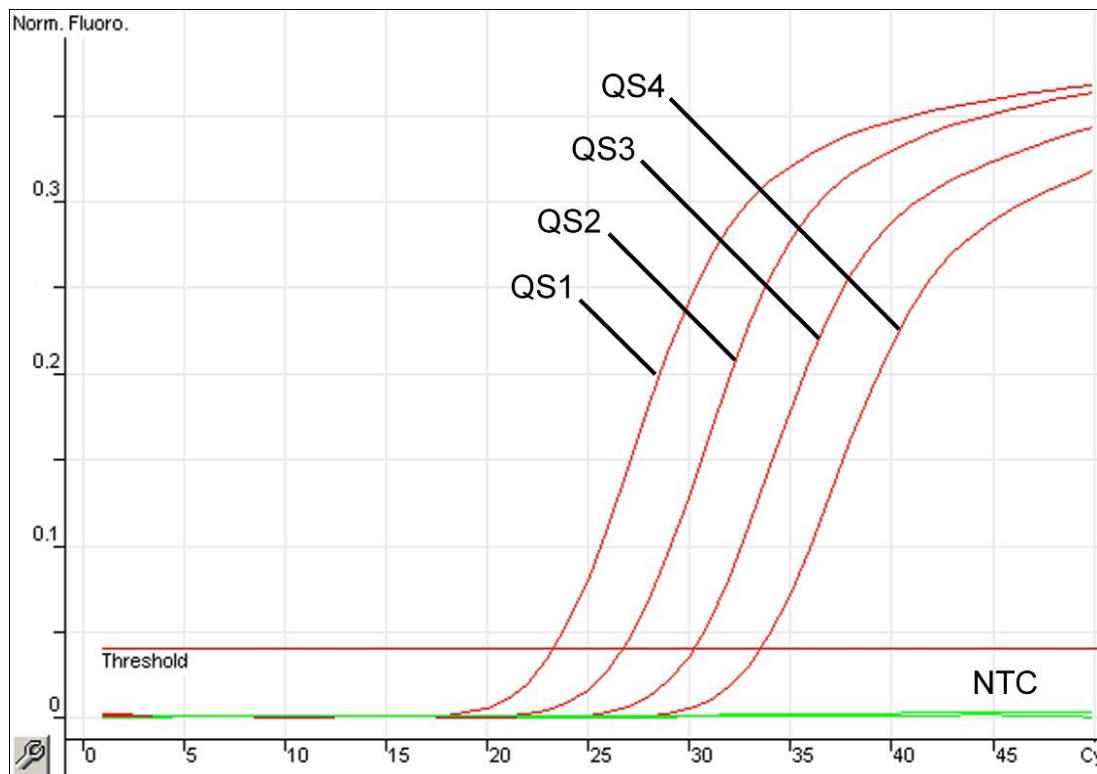


Figura 12. Detección de los estándares de cuantificación (Hep. C Virus RG QS 1–4) en el canal de fluorescencia Cycling Green. NTC: control sin molde (control negativo).

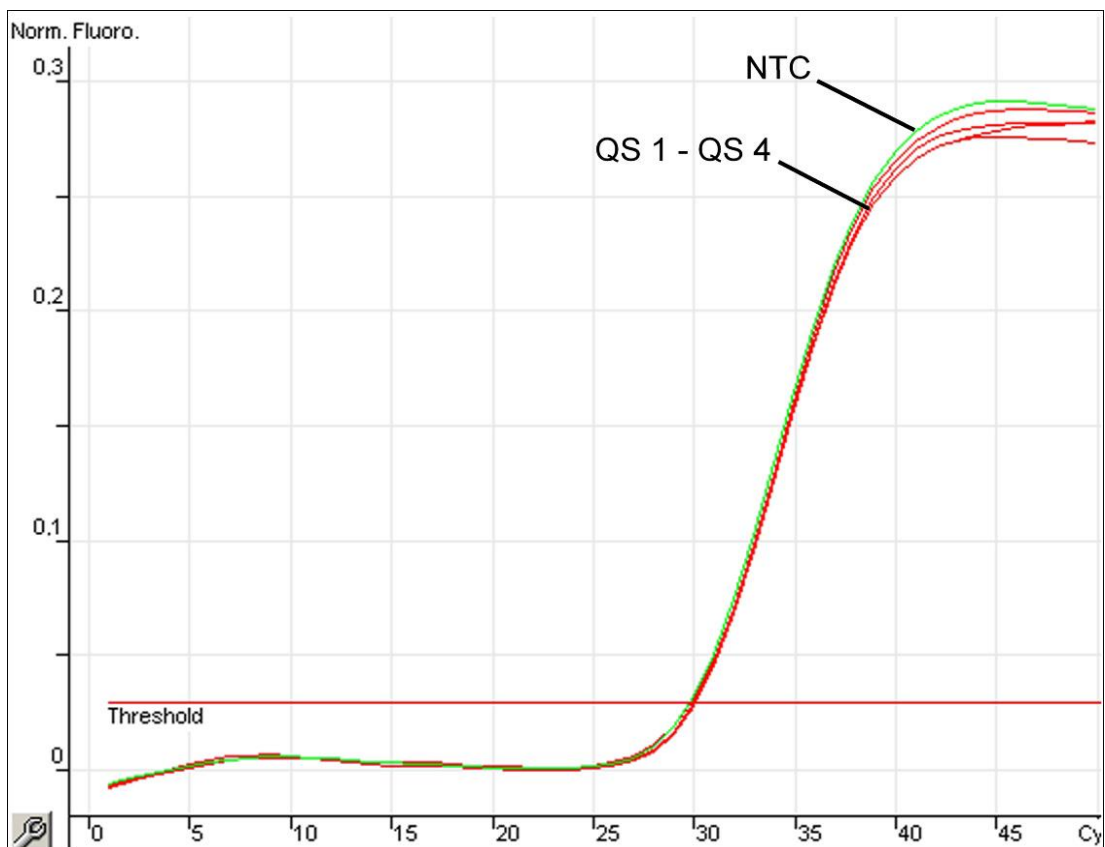


Figura 13. Detección del control interno (IC) en el canal de fluorescencia Cycling Orange con amplificación simultánea de los estándares de cuantificación (Hep. C Virus RG QS 1-4). NTC: control sin molde (control negativo).

Tabla 9. Interpretación de resultados cuantitativos





Resultado	Interpretación
ARN del VHC > 34 UI/ml	El resultado está dentro del rango determinado de la prueba. La probabilidad de detección del ARN del VHC es >95%. El resultado positivo de la prueba está estadísticamente asegurado.
ARN del VHC > 34 UI/ml	El resultado está fuera del rango determinado de la prueba. La reproducibilidad del resultado positivo no está asegurada.
ARN del VHC negativo	No se detectó ARN del VHC.

Guía para la resolución de problemas

Esta guía de resolución de problemas le será de utilidad para resolver los problemas que puedan surgir. Para obtener más información, consulte también la página de preguntas frecuentes de nuestro Centro de Asistencia Técnica: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Los científicos del servicio técnico de QIAGEN estarán siempre encantados de responder a cualquier pregunta que tenga sobre la información y los protocolos de este manual, así como sobre las tecnologías para el tratamiento de muestras y ensayos de biología molecular (encontrará la información de contacto en la contracubierta o en www.qiagen.com).

Comentarios y sugerencias

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

- | | |
|---|---|
| a) El canal de fluorescencia seleccionado para el análisis de los datos de PCR no cumple el protocolo |  Para el análisis de los datos, seleccione el canal de fluorescencia Cycling Green o Cycling A.FAM para la RT-PCR analítica del VHC y el canal de fluorescencia Cycling Orange o Cycling A.ROX para la RT-PCR del control interno. |
| b) Programación incorrecta del perfil de temperatura del instrumento Rotor-Gene |  Compare el perfil de temperatura con el protocolo. Consulte el apartado “Protocolo: PCR y análisis de los datos” en la página 24. |
| c) Configuración incorrecta de la PCR |  Compruebe los pasos de trabajo por medio del esquema de pipeteo y repita la PCR en caso necesario. Consulte el apartado “Protocolo: PCR y análisis de los datos” en la página 24. |
| d) Las condiciones de almacenamiento de uno o más componentes del kit no cumplan las instrucciones indicadas en el apartado “Almacenamiento” (página 5) |  Compruebe las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta del kit) de los reactivos y utilice un kit nuevo en caso necesario. |

Comentarios y sugerencias

- e) El kit *artus* HCV RG RT-PCR ha caducado
- ⓘ Compruebe las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta del kit) de los reactivos y utilice un kit nuevo en caso necesario.

Señal débil o ausente del control interno en el canal de fluorescencia Cycling Orange o Cycling A.ROX y ausencia simultánea de una señal en el canal Cycling Green o Cycling A.FAM:

- a) Las condiciones de la PCR no cumplen el protocolo
- ⓘ Compruebe las condiciones de la PCR (véase anteriormente) y repita la PCR con los valores de configuración corregidos en caso necesario.
- b) Se produjo la inhibición de la PCR
- ⓘ Asegúrese de que está utilizando el método de aislamiento recomendado y siga exactamente las instrucciones del fabricante.
- ⓘ Asegúrese de que durante el aislamiento del ARN se ha realizado el paso adicional de centrifugación recomendado antes de la elución para eliminar los restos de etanol (consulte el apartado Aislamiento del ARN en la página 22).
- c) Se perdió ARN durante la extracción
- ⓘ Si se ha añadido el control interno a la extracción, la ausencia de una señal del control interno puede indicar la pérdida de ARN durante la extracción. Asegúrese de que está utilizando el método de aislamiento recomendado (consulte el apartado "Aislamiento del ARN" en la página 22) y siga exactamente las instrucciones del fabricante.
- d) Las condiciones de almacenamiento de uno o más componentes del kit no cumplían las instrucciones indicadas en el apartado "Almacenamiento" (página 5)
- ⓘ Compruebe las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta del kit) de los reactivos y utilice un kit nuevo en caso necesario.

Comentarios y sugerencias

- e) El kit *artus* HCV RG RT-PCR ha caducado
- ⓘ Compruebe las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta del kit) de los reactivos y utilice un kit nuevo en caso necesario.

Señales con los controles negativos en el canal de fluorescencia Cycling Green o Cycling A.FAM de la PCR analítica

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

Referencias citadas

QIAGEN mantiene una amplia y actualizada base de datos online de publicaciones científicas en las que se utilizan los productos de QIAGEN. Las exhaustivas opciones de búsqueda permiten al usuario encontrar los artículos que necesita, ya sea mediante una búsqueda sencilla de una palabra clave o especificando la aplicación, el área de investigación, el título, etc.

Para obtener una lista bibliográfica completa, visite la base de datos bibliográfica online de QIAGEN en www.qiagen.com/RefDB/search.asp o póngase en contacto con el servicio técnico de QIAGEN o con su distribuidor local.

Información para pedidos

Producto	Contenido	N.º ref.
Kit <i>artus</i> HCV RG RT-PCR (24)	Para 24 reacciones: 2 mezclas maestras, 4 estándares de cuantificación, control interno y agua (de calidad para PCR)	4518263
Kit <i>artus</i> HCV RG RT-PCR (96)	Para 96 reacciones: 2 mezclas maestras, 4 estándares de cuantificación, control interno y agua (de calidad para PCR)	4518265
Kit QIAamp DSP Virus: para purificación de ácidos nucleicos virales a partir de plasma humano para diagnóstico <i>in vitro</i>		
QIAamp DSP Virus Kit	Para 50 preparaciones: columnas QIAamp MinElute® Spin, tampones, reactivos, tubos, extensores de columna y conectores VacConnectors	60704
Rotor-Gene Q MDx y accesorios		
Rotor-Gene Q MDx 5plex Platform	Termociclador para PCR en tiempo real con 5 canales (verde, amarillo, naranja, rojo, carmesí), ordenador portátil, software, accesorios: incluye una garantía de 1 año para piezas y mano de obra, no incluye instalación y formación	9002022
Rotor-Gene Q MDx 5plex System	Termociclador para PCR en tiempo real con 5 canales (verde, amarillo, naranja, rojo, carmesí), ordenador portátil, software, accesorios: incluye una garantía de 1 año para piezas y mano de obra, instalación y formación	9002023

Producto	Contenido	N.º ref.
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Termociclador para PCR en tiempo real y analizador de disociación de alta resolución con 5 canales (verde, amarillo, naranja, rojo y carmesí) más un canal HRM, ordenador portátil, software, accesorios: incluye una garantía de 1 año para piezas y mano de obra, no incluye instalación y formación	9002032
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Termociclador para PCR en tiempo real y analizador de disociación de alta resolución con 5 canales (verde, amarillo, naranja, rojo y carmesí) más un canal HRM, ordenador portátil, software, accesorios: incluye una garantía de 1 año para piezas y mano de obra, instalación y formación	9002033
Rotor-Gene Q MDx 6plex Platform	Instrumento para PCR en tiempo real con 6 canales (azul, verde, amarillo, naranja, rojo, carmesí), ordenador portátil, software, accesorios: incluye una garantía de 1 año para piezas y mano de obra, no incluye instalación y formación	9002042
Rotor-Gene Q MDx 6plex System	Instrumento para PCR en tiempo real con 6 canales (azul, verde, amarillo, naranja, rojo, carmesí), ordenador portátil, software, accesorios: incluye una garantía de 1 año para piezas y mano de obra, instalación y formación	9002043
Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes	Bloque de aluminio para preparación manual de reacciones con una pipeta monocanal en 72 tubos de 0,1 ml	9018901
Loading Block 96 x 0.2 ml Tubes	Bloque de aluminio para preparación manual de reacciones en una matriz estándar de 8 x 12 con 96 tubos de 0,2 ml	9018905
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	250 tiras de 4 tubos y tapas para 1000 reacciones	981103

Producto	Contenido	N.º ref.
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (2500)	10 x 250 tiras de 4 tubos y tapas para 10.000 reacciones	981106
PCR Tubes, 0.2 ml (1000)	1.000 tubos de pared fina para 1.000 reacciones	981005
PCR Tubes, 0.2 ml (10000)	10 x 1000 tubos de paredes finas para 1000 reacciones	981008

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

Esta página se ha dejado intencionadamente en blanco.

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

Marcas comerciales: QIAGEN®, QIAamp®, artus®, MinElute®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); COBAS®, TaqMan® (Roche Group); FAM™, ROX™ (Life Technologies Corporation); SYBR® (Molecular Probes, Inc.).

Acuerdo de licencia limitada

La utilización de este producto implica por parte de cualquier comprador o usuario del kit *artus* HCV RG RT-PCR la aceptación de los siguientes términos:

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

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

© 2015 QIAGEN, reservados todos los derechos.

www.qiagen.com

Australia ■ Orders 1-800-243-800 ■ Fax 03-9840-9888 ■ Technical 1-800-243-066

Austria ■ Orders 0800-28-10-10 ■ Fax 0800-28-10-19 ■ Technical 0800-28-10-11

Belgium ■ Orders 0800-79612 ■ Fax 0800-79611 ■ Technical 0800-79556

Brazil ■ Orders 0800-557779 ■ Fax 55-11-5079-4001 ■ Technical 0800-557779

Canada ■ Orders 800-572-9613 ■ Fax 800-713-5951 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

China ■ Orders 86-21-3865-3865 ■ Fax 86-21-3865-3965 ■ Technical 800-988-0325

Denmark ■ Orders 80-885945 ■ Fax 80-885944 ■ Technical 80-885942

Finland ■ Orders 0800-914416 ■ Fax 0800-914415 ■ Technical 0800-914413

France ■ Orders 01-60-920-926 ■ Fax 01-60-920-925 ■ Technical 01-60-920-930 ■ Offers 01-60-920-928

Germany ■ Orders 02103-29-12000 ■ Fax 02103-29-22000 ■ Technical 02103-29-12400

Hong Kong ■ Orders 800 933 965 ■ Fax 800 930 439 ■ Technical 800 930 425

Ireland ■ Orders 1800 555 049 ■ Fax 1800 555 048 ■ Technical 1800 555 061

Italy ■ Orders 800-789-544 ■ Fax 02-334304-826 ■ Technical 800-787980

Japan ■ Telephone 03-6890-7300 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Technical 03-6890-7300

Korea (South) ■ Orders 080-000-7146 ■ Fax 02-2626-5703 ■ Technical 080-000-7145

Luxembourg ■ Orders 8002-2076 ■ Fax 8002-2073 ■ Technical 8002-2067

Mexico ■ Orders 01-800-7742-639 ■ Fax 01-800-1122-330 ■ Technical 01-800-7742-436

The Netherlands ■ Orders 0800-0229592 ■ Fax 0800-0229593 ■ Technical 0800-0229602

Norway ■ Orders 800-18859 ■ Fax 800-18817 ■ Technical 800-18712

Singapore ■ Orders 1800-742-4362 ■ Fax 65-6854-8184 ■ Technical 1800-742-4368

Spain ■ Orders 91-630-7050 ■ Fax 91-630-5145 ■ Technical 91-630-7050

Sweden ■ Orders 020-790282 ■ Fax 020-790582 ■ Technical 020-798328

Switzerland ■ Orders 055-254-22-11 ■ Fax 055-254-22-13 ■ Technical 055-254-22-12

UK ■ Orders 01293-422-911 ■ Fax 01293-422-922 ■ Technical 01293-422-999

USA ■ Orders 800-426-8157 ■ Fax 800-718-2056 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

