



# Manual de uso del kit *artus*<sup>®</sup> VZV RG PCR

 24 (ref. 4502263)  
 96 (ref. 4502265)


Versión 1




Diagnóstico *in vitro* cuantitativo

Para utilizar con los instrumentos Rotor-Gene<sup>®</sup> Q



 4502263, 4502265

 1056824ES

 QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,

ALEMANIA

R4  1056824ES



## **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](http://www.qiagen.com).



# Índice

|                                                       |           |
|-------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Uso previsto</b>                                   | <b>6</b>  |
| <b>Resumen y explicación</b>                          | <b>6</b>  |
| Información sobre el patógeno                         | 6         |
| <b>Principio del procedimiento</b>                    | <b>7</b>  |
| <b>Materiales suministrados</b>                       | <b>7</b>  |
| Contenido del kit                                     | 7         |
| <b>Materiales necesarios pero no suministrados</b>    | <b>8</b>  |
| <b>Advertencias y precauciones</b>                    | <b>8</b>  |
| Precauciones generales                                | 9         |
| <b>Almacenamiento y manipulación de los reactivos</b> | <b>9</b>  |
| <b>Procedimiento</b>                                  | <b>10</b> |
| Aislamiento del ADN                                   | 10        |
| Control interno                                       | 10        |
| Protocolo: PCR y análisis de los datos                | 12        |
| <b>Interpretación de los resultados</b>               | <b>19</b> |
| Cuantificación                                        | 19        |
| Resultados                                            | 20        |
| Guía para la resolución de problemas                  | 21        |
| <b>Control de calidad</b>                             | <b>24</b> |
| <b>Limitaciones</b>                                   | <b>24</b> |
| <b>Características del rendimiento</b>                | <b>24</b> |
| Sensibilidad analítica                                | 24        |
| Especificidad                                         | 25        |
| Precisión                                             | 27        |
| <b>Referencias citadas</b>                            | <b>29</b> |
| <b>Símbolos</b>                                       | <b>29</b> |
| <b>Información de contacto</b>                        | <b>30</b> |
| <b>Información para pedidos</b>                       | <b>31</b> |

## Uso previsto

El kit *artus* VZV RG PCR es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* para la cuantificación del ADN del virus de la varicela-zóster (VZV) en líquido cefalorraquídeo (LCR) humano. Este kit para pruebas diagnósticas utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) y está configurado para usarse con los instrumentos Rotor-Gene Q.

**Nota:** El kit *artus* VZV RG PCR no puede utilizarse con los instrumentos Rotor-Gene Q 2plex.

## Resumen y explicación

El kit *artus* VZV RG PCR es un sistema listo para usar para la detección del ADN del VZV mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en los instrumentos Rotor-Gene Q. La mezcla maestra VZV RG Master contiene los reactivos y las enzimas necesarios para la amplificación específica de una región de 82 pb del genoma del VZV, 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 (origen 470 nm, detector 510 nm).

Además, el kit *artus* VZV RG PCR contiene un segundo sistema de amplificación heterógeno para identificar una posible inhibición de la PCR. Se detecta como un control interno (IC) en el canal de fluorescencia Cycling Orange de los instrumentos Rotor-Gene Q o Rotor-Gene 6000 (origen 585 nm, detector 610 nm). El límite de detección de la PCR analítica del VZV (consulte el apartado "Sensibilidad analítica" en la página 24) no se ve disminuido. Se suministran controles positivos externos (VZV RG QS 1-4), que permiten determinar la cantidad de ADN viral. Para obtener más información, consulte el apartado "Cuantificación" en la página 19.

## Información sobre el patógeno


El virus de la varicela-zóster (VZV) es un virus de ADN, que se transmite de persona a persona a través de las gotitas de Flügge o por contacto directo. La infección por el VZV causa una ligera elevación de la temperatura y afecta moderadamente al estado general de salud. La enfermedad se caracteriza por un exantema polimórfico con máculas, vesículas y costras, junto con un prurito intenso. A menudo se observan infecciones intensas por el VZV en pacientes inmunodeprimidos, las cuales pueden causar complicaciones peligrosas tales como neumonía y encefalitis. Tras la infección aguda, el patógeno persiste en los ganglios sensitivos de los nervios raquídeos y en los ganglios de los nervios craneales. Si se debilita el estado inmunitario, pueden producirse exacerbaciones (p. ej., herpes zóster).

## Principio del procedimiento

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\*.

## Materiales suministrados

### Contenido del kit

| <b>artus VZV RG PCR Kit</b> |                                                          |                                                                                     | <b>(24)</b>       | <b>(96)</b>       |
|-----------------------------|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-------------------|
| <b>N.º de referencia</b>    |                                                          |                                                                                     | <b>4502263</b>    | <b>4502265</b>    |
| <b>Número de reacciones</b> |                                                          |                                                                                     | <b>24</b>         | <b>96</b>         |
| Azul                        | VZV RG Master                                            |                                                                                     | 2 x 12 reacciones | 8 x 12 reacciones |
| Amarillo                    | VZV RG Mg-Sol <sup>†</sup>                               | <b>Mg-Sol</b>                                                                       | 600 µl            | 600 µl            |
| Rojo                        | VZV RG QS 1 <sup>‡</sup> (1 x 10 <sup>4</sup> copias/µl) | <b>QS</b>                                                                           | 200 µl            | 200 µl            |
| Rojo                        | VZV RG QS 2 <sup>‡</sup> (1 x 10 <sup>3</sup> copias/µl) | <b>QS</b>                                                                           | 200 µl            | 200 µl            |
| Rojo                        | VZV RG QS 3 <sup>‡</sup> (1 x 10 <sup>2</sup> copias/µl) | <b>QS</b>                                                                           | 200 µl            | 200 µl            |
| Rojo                        | VZV RG QS 4 <sup>‡</sup> (1 x 10 <sup>1</sup> copias/µl) | <b>QS</b>                                                                           | 200 µl            | 200 µl            |
| Verde                       | VZV RG IC <sup>§</sup>                                   | <b>IC</b>                                                                           | 1.000 µl          | 2 x 1.000 µl      |
| Blanco                      | Agua (de calidad para PCR)                               |                                                                                     | 1.000 µl          | 1.000 µl          |
|                             | Manual de uso                                            |  | 1                 | 1                 |

<sup>†</sup> Solución de magnesio.

<sup>‡</sup> Estándar de cuantificación.

<sup>§</sup> Control interno.

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

## Materiales necesarios pero no suministrados

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

### Reactivos

- Kit de aislamiento de ADN (consulte el apartado "Aislamiento del ADN" en la página 10)

### Consumibles

- Puntas de pipeta estériles con filtro
- 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)

### Equipo

- Pipetas (ajustables)\*
- 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\*<sup>†</sup> con canales de fluorescencia Cycling Green y Cycling Orange
- Software Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q versión 1.7.94 o posterior (software Rotor-Gene 6000 versión 1.7.65, 1.7.87, 1.7.94)
- 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)

## Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*

Siempre que trabaje con productos químicos, utilice una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras. Si desea obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad (SDS, *safety data sheets*) correspondientes. Dichas fichas están disponibles online en un formato PDF cómodo y compacto en [www.qiagen.com/safety](http://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.

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

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

## 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).

## Almacenamiento y manipulación de los reactivos

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



# Procedimiento

## Aislamiento del ADN

El kit EZ1 DSP Virus (QIAGEN, n.º de referencia 62724)\* está validado para la purificación de ácidos nucleicos virales a partir de LCR humano para utilizarse con el kit *artus* VZV RG PCR. Realice la purificación de ácidos nucleicos virales conforme a las instrucciones descritas en el manual de uso del kit EZ1 DSP Virus (*EZ1 DSP Virus Kit Handbook*) con un tamaño inicial de muestra de 200  $\mu$ l.

**Nota:** El kit *artus* VZV RG PCR no debe utilizarse con métodos de aislamiento basados en el fenol.

**Nota:** 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. Añada la cantidad apropiada de ARN transportador a cada extracción conforme a las instrucciones descritas en el manual de uso del kit EZ1 DSP Virus (*EZ1 DSP Virus Kit Handbook*).

**Nota:** El control interno del kit *artus* VZV RG PCR puede utilizarse directamente en el procedimiento de aislamiento (consulte el apartado "Control interno" más adelante).

## Control interno

Se suministra un control interno (VZV RG IC). Esto permite al usuario controlar el procedimiento de aislamiento del ADN y comprobar una posible inhibición de la PCR. Para esta aplicación, añada el control interno durante el aislamiento en una proporción de 0,1  $\mu$ l por 1  $\mu$ l de volumen de elución. Por ejemplo, cuando se utiliza el kit EZ1 DSP Virus, si los ácidos nucleicos virales se eluyen en 60  $\mu$ l de tampón de elución (AVE), deben añadirse inicialmente 6  $\mu$ l del control interno.

**Nota:** El control interno y el ARN transportador (consulte el apartado "Aislamiento del ADN" en la página 10) 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).

**Nota:** 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 de VZV RG Master y VZV RG Mg-Sol, tal como se describe en el paso 2b del protocolo (página 13).

\* El kit EZ1 DSP Virus también está disponible como kits EASYartus® VZV RG PCR con el marcado CE-IVD, en combinación con el kit *artus* VZV RG PCR (consulte la página 31 para ver la información sobre pedidos).

## Protocolo: PCR y análisis de los datos

### Cuestiones importantes antes de comenzar

- Dedique tiempo suficiente a familiarizarse con el instrumento Rotor-Gene Q antes de iniciar el protocolo. Consulte el manual del usuario del instrumento.
- 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 (VZV 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 ADN 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 10). En este caso, prepare una mezcla maestra según se indica en la tabla 1.**

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

**Tabla 1. Preparación de la mezcla maestra (control interno utilizado para supervisar el aislamiento del ADN y comprobar una posible inhibición de la PCR).**

| <b>Número de muestras</b> | <b>1</b>                    | <b>12</b>                    |
|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| VZV RG Master             | 25,5 $\mu$ l                | 306 $\mu$ l                  |
| VZV RG Mg-Sol             | 4,5 $\mu$ l                 | 54 $\mu$ l                   |
| VZV RG IC                 | 0 $\mu$ l                   | 0 $\mu$ l                    |
| <b>Volumen total</b>      | <b>30 <math>\mu</math>l</b> | <b>360 <math>\mu</math>l</b> |

- 2b. El control interno debe añadirse directamente a la mezcla de VZV RG Master y VZV RG Mg-Sol. En este caso, prepare una mezcla maestra según se indica en la tabla 2.**

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

**Tabla 2. Preparación de la mezcla maestra (control interno utilizado exclusivamente para comprobar una posible inhibición de la PCR).**

| <b>Número de muestras</b> | <b>1</b>                     | <b>12</b>                     |
|---------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| VZV RG Master             | 25,5 $\mu$ l                 | 306 $\mu$ l                   |
| VZV RG Mg-Sol             | 4,5 $\mu$ l                  | 54 $\mu$ l                    |
| VZV RG IC                 | 2 $\mu$ l                    | 24 $\mu$ l                    |
| <b>Volumen total</b>      | <b>32 <math>\mu</math>l*</b> | <b>384 <math>\mu</math>l*</b> |

\* 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  $\mu$ l de la mezcla maestra en cada tubo de PCR. A continuación, añada 20  $\mu$ l del ADN eluido de la muestra (consulte la tabla 3). En correspondencia, deben usarse 20  $\mu$ l de al menos uno de los estándares de cuantificación (VZV RG QS 1-4) como control positivo y 20  $\mu$ l de agua (agua de calidad para PCR) como control negativo.**

**Tabla 3. Preparación del ensayo de PCR**

| <b>Número de muestras</b> | <b>1</b>                    | <b>12</b>                              |
|---------------------------|-----------------------------|----------------------------------------|
| Mezcla maestra            | 30 $\mu$ l                  | 30 $\mu$ l (cada una)                  |
| Muestra                   | 20 $\mu$ l                  | 20 $\mu$ l (cada una)                  |
| <b>Volumen total</b>      | <b>50 <math>\mu</math>l</b> | <b>50 <math>\mu</math>l (cada una)</b> |

4. **Cierre los tubos de PCR. Asegúrese de que el anillo de bloqueo (acesorio 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 ADN del VVZ, cree un perfil de temperatura siguiendo los pasos que se indican a continuación.**

|                                                                                |                        |
|--------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| <b>Configuración de los parámetros generales del ensayo</b>                    | <b>Figuras 1, 2, 3</b> |
| <b>Activación inicial de la enzima <i>hot-start</i> (arranque en caliente)</b> | <b>Figura 4</b>        |
| <b>Amplificación del ADN</b>                                                   | <b>Figura 5</b>        |
| <b>Ajuste de la sensibilidad de los canales de fluorescencia</b>               | <b>Figura 6</b>        |
| <b>Inicio de la serie</b>                                                      | <b>Figura 7</b>        |

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

6. En primer lugar, abra el cuadro de diálogo “New Run Wizard” (Asistente para nueva serie) (figura 1). Marque la casilla “Locking Ring Attached” (Anillo de bloqueo acoplado) y haga clic en “Next” (Siguiete).

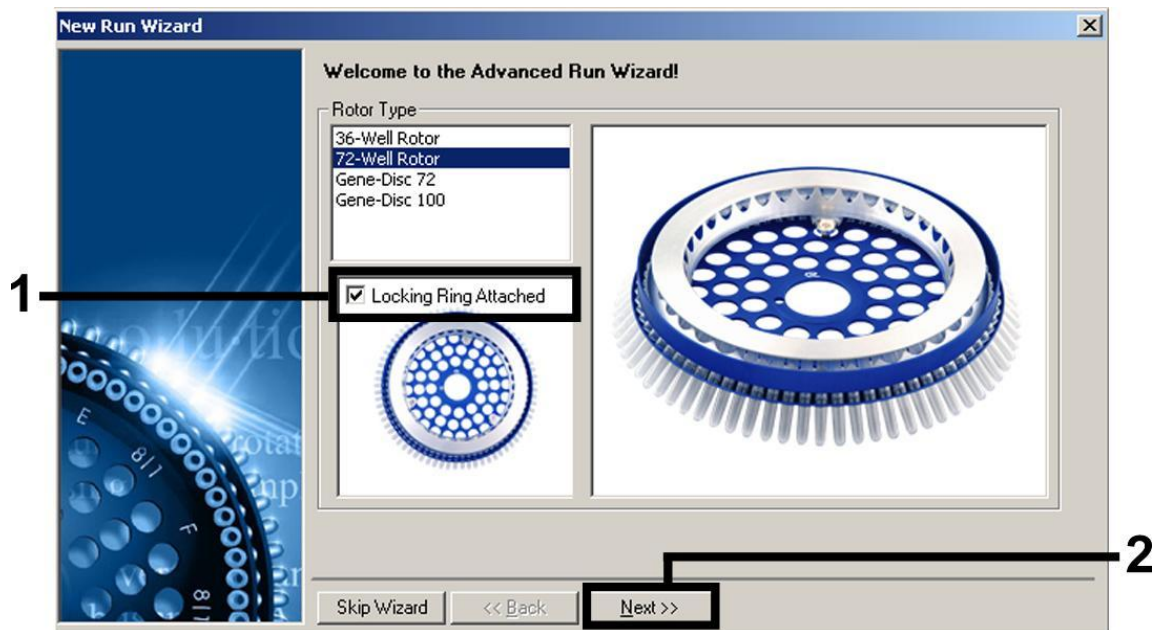


Figura 1. Cuadro de diálogo “New Run Wizard”.

7. Seleccione 50 en el campo “Reaction Volume ( $\mu\text{L}$ ):” (Volumen de reacción [ $\mu\text{L}$ ]) y haga clic en “Next” (figura 2).

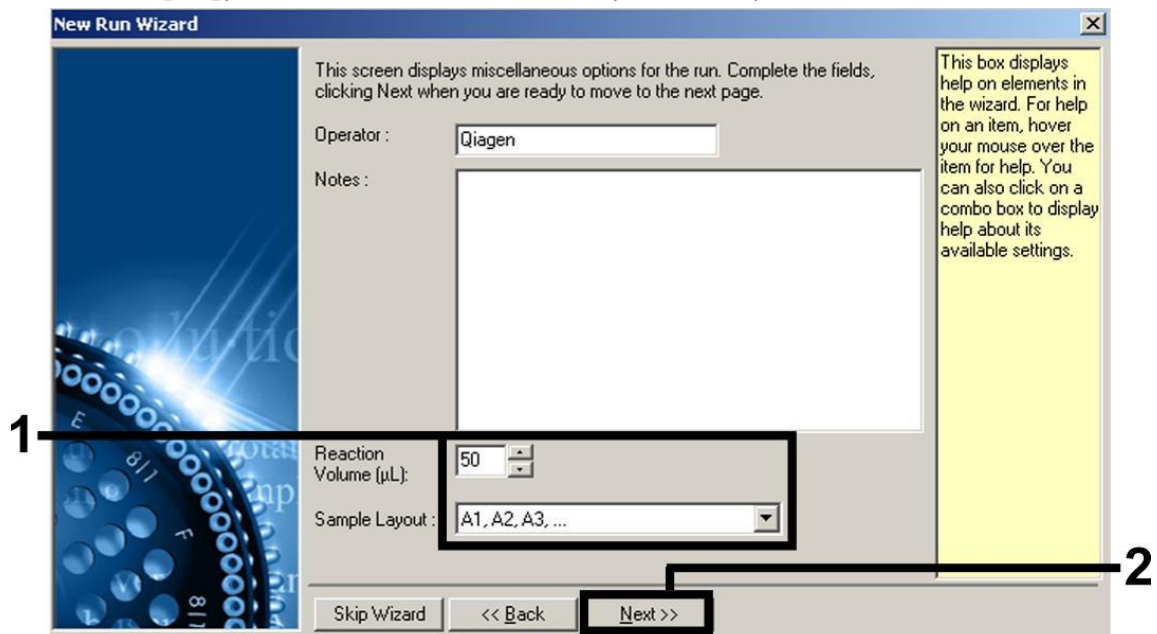


Figura 2. Configuración de los parámetros generales del ensayo.

- Haga clic en el botón "Edit Profile" (Editar perfil) en el siguiente cuadro de diálogo "New Run Wizard" (figura 3) y programe el perfil de temperatura tal como se muestra en las figuras 3-5.

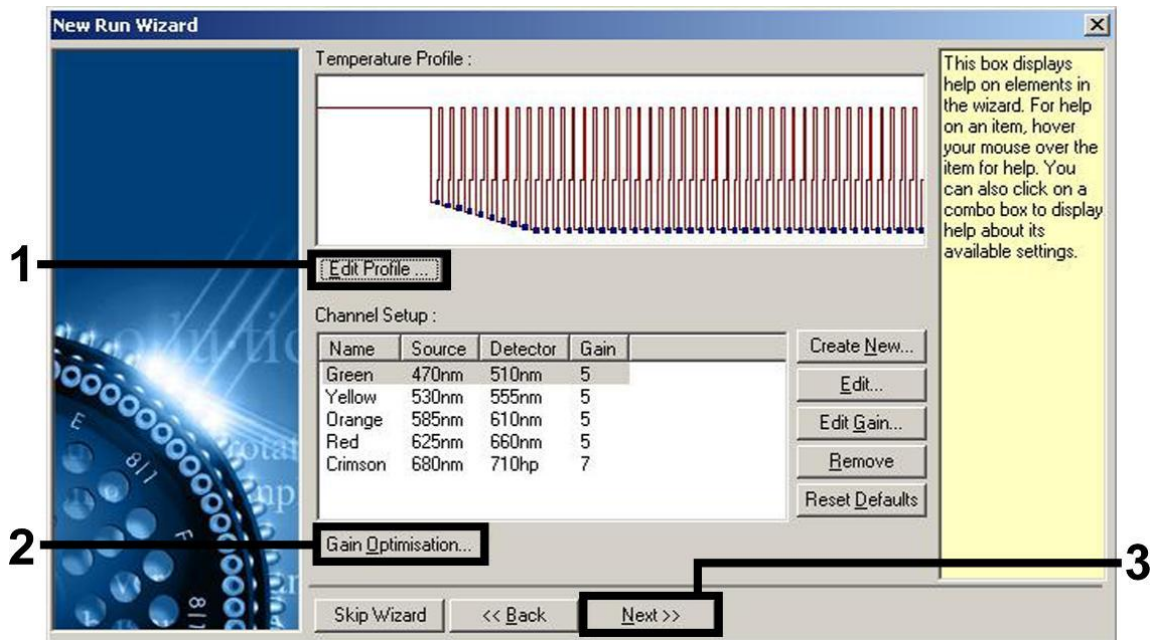


Figura 3. Edición del perfil.

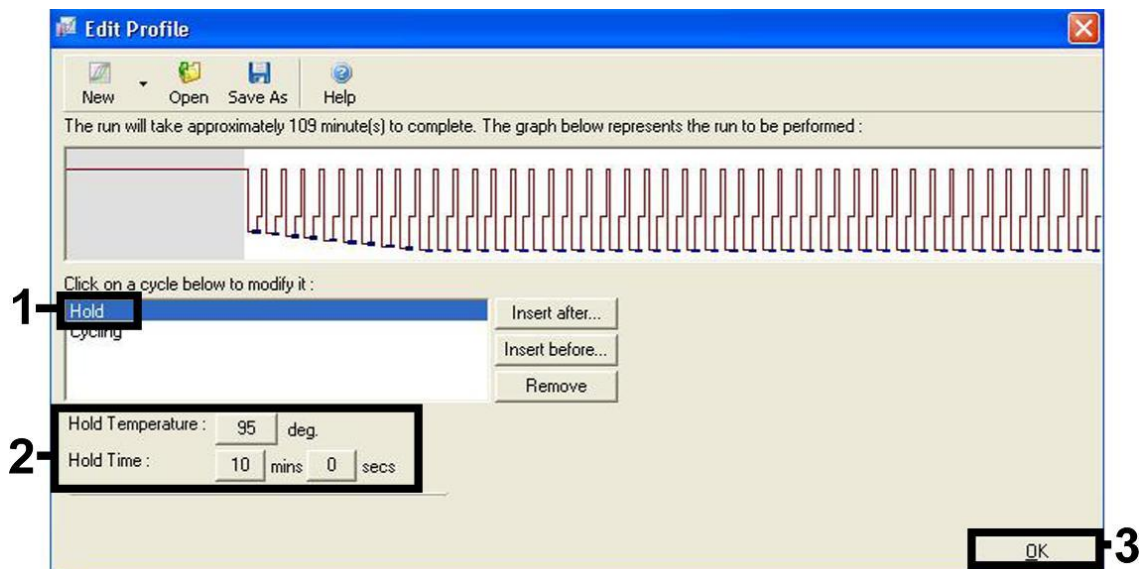
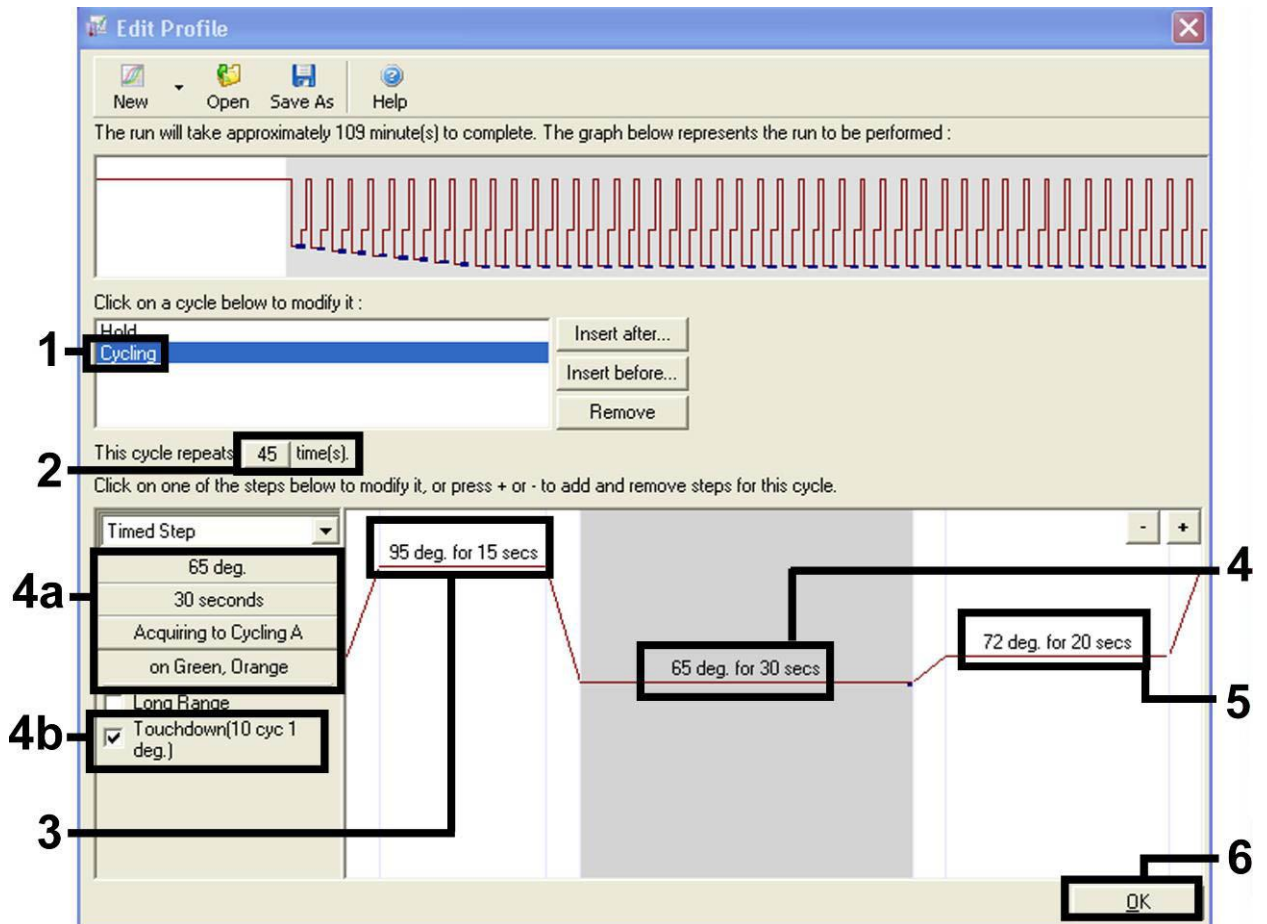


Figura 4. Activación inicial de la enzima *hot-start*.



**Figura 5. Amplificación del ADN.** Asegúrese de activar la función “touchdown” (temperatura decreciente) durante 10 ciclos en el paso de apareamiento.



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 3) para abrir el cuadro de diálogo "Auto-Gain Optimisation Setup" (Configuración de la optimización de ganancia automática). Configure la temperatura de calibración en 65 para que coincida con la temperatura de apareamiento del programa de amplificación (figura 6).

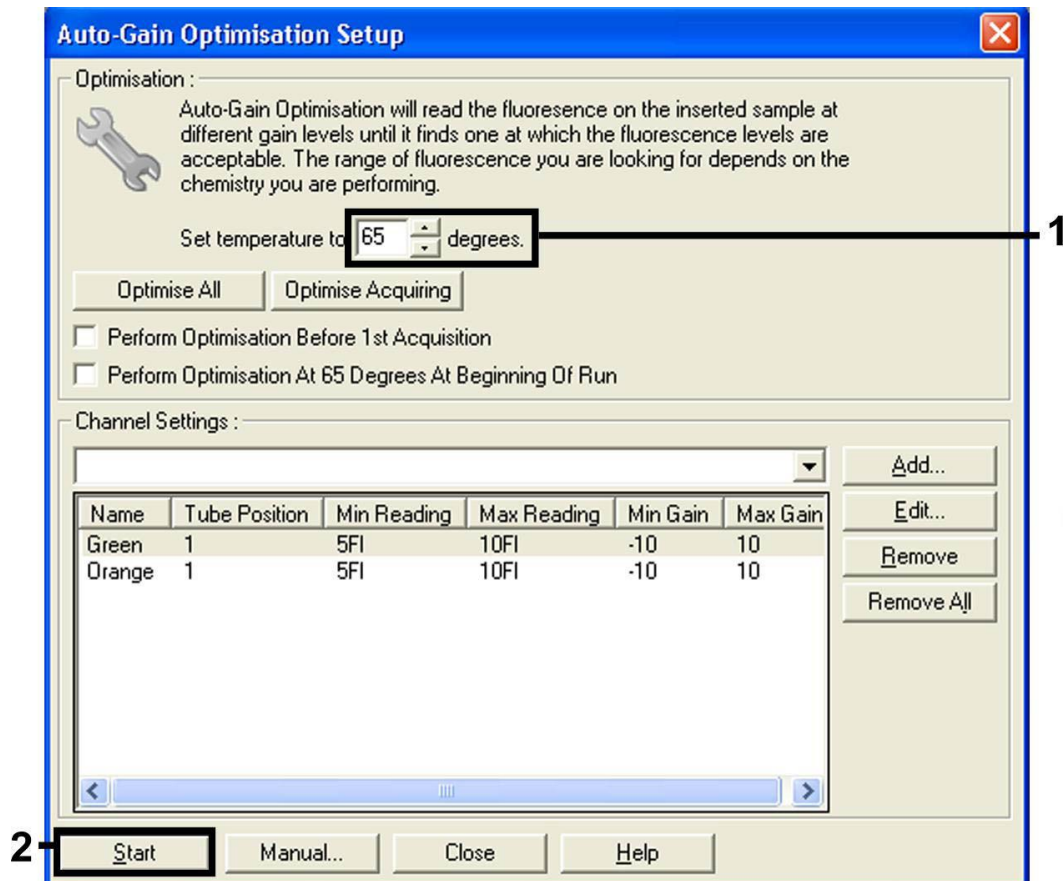


Figura 6. Ajuste de la sensibilidad de los canales de fluorescencia.

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 7). Haga clic en “Start Run” (Iniciar serie).

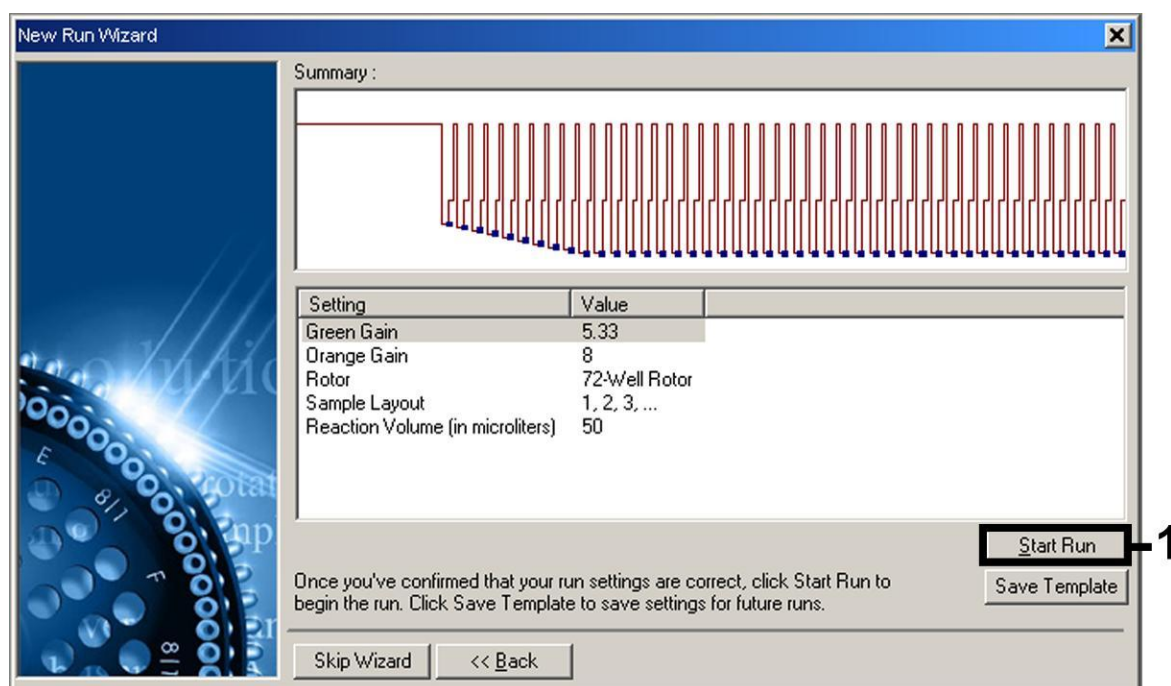


Figura 7. Inicio de la serie.

## Interpretación de los resultados

### Cuantificación

Los estándares de cuantificación (VZV RG QS 1-4) incluidos se tratan como muestras previamente purificadas y se utiliza el mismo volumen (20  $\mu\text{l}$ ). 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).

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

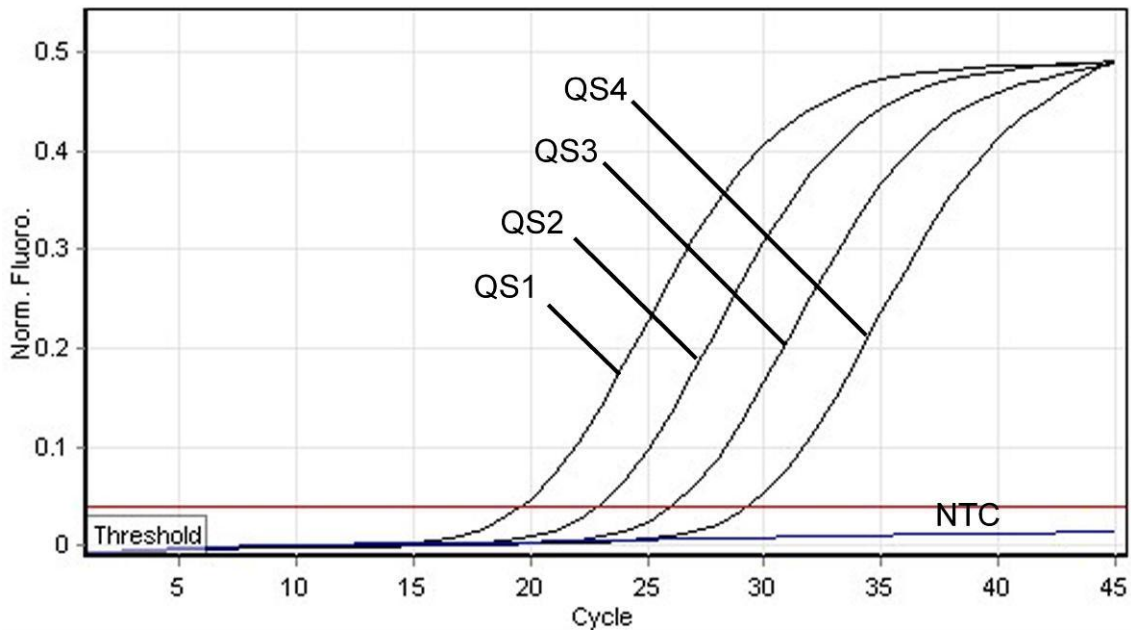
$$\text{Resultado (copias/ml)} = \frac{\text{Resultado (copias/\mu l)} \times \text{Volumen de elución (\mu l)}}{\text{Volumen de muestra (ml)}}$$

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

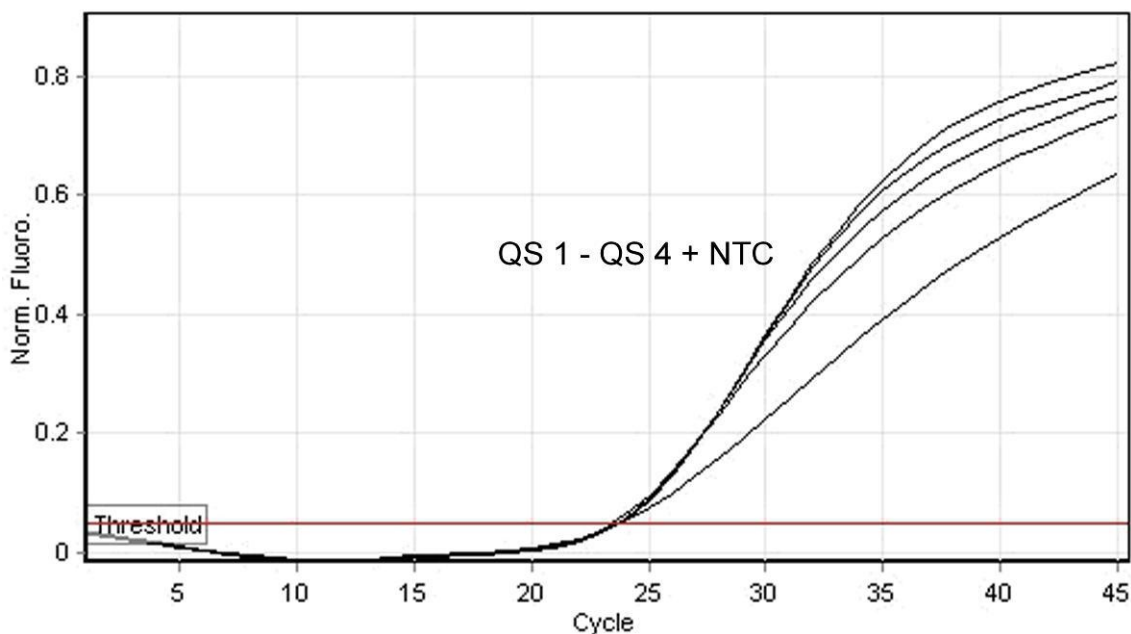
volumen mediante centrifugación o aumentando el volumen mediante adición hasta el volumen necesario para el aislamiento).

## Resultados

En las figuras 8 y 9 se presentan ejemplos de reacciones de PCR positivas y negativas.



**Figura 8. Detección de los estándares de cuantificación (VZV RG QS 1-4) en el canal de fluorescencia Cycling Green. NTC: control sin molde (control negativo).**



**Figura 9. Detección del control interno (IC) en el canal de fluorescencia Cycling Orange con amplificación simultánea de los estándares de cuantificación (VZV RG QS 1-4). NTC: control sin molde (control negativo).**

**Se detecta una señal en el canal de fluorescencia Cycling Green.  
El resultado del análisis es positivo: la muestra contiene ADN del VVZ.**

\* En este caso, la detección de una señal en el canal Cycling Orange no es imprescindible, ya que las concentraciones altas iniciales de ADN del VVZ (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).

**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.  
La muestra no contiene ADN del VVZ detectable. Puede considerarse negativa.**

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

**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 21.

## **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](http://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 el protocolo 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](http://www.qiagen.com)).

### **Comentarios y sugerencias**

---

#### **Ausencia de señal con controles positivos (VZV RG QS 1-4) en el canal de fluorescencia Cycling Green**

- |                                                                                                       |                                                                                                                                                                                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| a) El canal de fluorescencia seleccionado para el análisis de los datos de PCR no cumple el protocolo | Para el análisis de los datos, seleccione el canal de fluorescencia Cycling Green para la PCR analítica del VVZ y el canal de fluorescencia Cycling Orange para la PCR del control interno. |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## Comentarios y sugerencias

---

- |                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                   |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 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 11.                                                 |
| 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 11. |
| d) Las condiciones de almacenamiento de uno o más componentes del kit no cumplían las instrucciones indicadas en el apartado "Almacenamiento y manipulación de los reactivos" (página 9) | Compruebe las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta del kit) de los reactivos y utilice un kit nuevo en caso necesario.                     |
| e) El kit <i>artus</i> VZV RG 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 de una muestra de LCR negativa sometida a purificación con el kit EZ1 DSP Virus en el canal de fluorescencia Cycling Orange y ausencia simultánea de una señal en el canal Cycling Green**

- |                                                      |                                                                                                                                          |
|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| a) Las condiciones de la PCR no cumplen el protocolo | Compruebe las condiciones de la PCR (véase anteriormente) y repita la PCR con los valores de configuración corregidos en caso necesario. |
| b) Se produjo la inhibición de la PCR                | Asegúrese de que está utilizando el método de aislamiento recomendado y siga exactamente las instrucciones del fabricante.               |

## Comentarios y sugerencias

---

- c) Se perdió ADN 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 ADN durante la extracción. Asegúrese de que está utilizando el método de aislamiento recomendado (consulte el apartado "Aislamiento del ADN" en la página 10) 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 y manipulación de los reactivos" (página 9)
- Compruebe las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad (consulte la etiqueta del kit) de los reactivos y utilice un kit nuevo en caso necesario.
- e) El kit *artus* VZV RG 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 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.

## Control de calidad

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

## Limitaciones

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

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

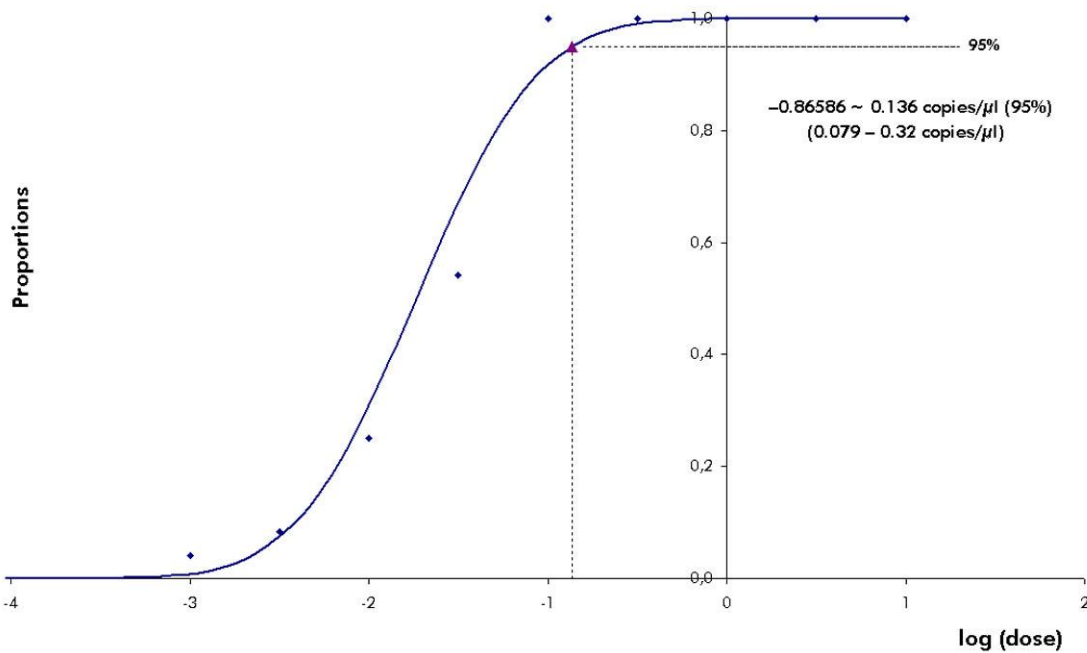
Debe prestarse atención a las fechas de caducidad impresas en la caja y en las etiquetas de todos los componentes. No utilice componentes caducados.

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

## Características del rendimiento

### Sensibilidad analítica

Para determinar la sensibilidad analítica del kit *artus* VZV RG PCR se realizaron diluciones seriadas de ADN genómico del VVZ desde 10 hasta 0,001 copias/ $\mu$ l y se analizaron con el kit *artus* VZV RG PCR en un instrumento Rotor-Gene 6000. El ensayo se realizó en tres días diferentes por octuplicado. Los resultados se determinaron mediante un análisis probit. En la figura 10 se muestra una representación gráfica del análisis probit en el instrumento Rotor-Gene 6000. El límite de detección analítica del kit *artus* VZV RG PCR en combinación con el instrumento Rotor-Gene Q MDx/Q/6000 es de 0,136 copias/ $\mu$ l ( $p = 0,05$ ). Esto significa que existe una probabilidad del 95% de que se detecten 0,136 copias/ $\mu$ l.



**Figura 10. Análisis probit: VVZ (Rotor-Gene 6000).** Sensibilidad analítica del kit *artus* VZV RG PCR en el instrumento Rotor-Gene 6000.

## Especificidad

La especificidad del kit *artus* VZV RG 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 genotipos relevantes.

Además, la especificidad se validó con 30 muestras de LCR negativas para el VVZ diferentes. Estas no generaron ninguna señal con los *primers* y las sondas específicos del VVZ, incluidos en la mezcla maestra VZV RG Master.

Se analizó una posible reactividad cruzada del kit *artus* VZV RG PCR mediante el grupo de control indicado en la tabla 4. Ninguno de los patógenos analizados mostró reactividad.



**Tabla 4. Análisis de la especificidad del kit con patógenos con posible reactividad cruzada.**

| <b>Grupo de control</b>                                                          | <b>VVZ<br/>(Cycling Green)</b> | <b>Control interno<br/>(Cycling<br/>Orange)</b> |
|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------------------|
| Virus del herpes humano 1<br>(virus del herpes simple 1)                         | -                              | +                                               |
| Virus del herpes humano 2<br>(virus del herpes simple 2)                         | -                              | +                                               |
| Virus del herpes humano 4<br>(virus de Epstein-Barr)                             | -                              | +                                               |
| Virus del herpes humano 5<br>(citomegalovirus)                                   | -                              | +                                               |
| Virus del herpes humano 6A                                                       | -                              | +                                               |
| Virus del herpes humano 6B                                                       | -                              | +                                               |
| Virus del herpes humano 7                                                        | -                              | +                                               |
| Virus del herpes humano 8 (virus<br>del herpes asociado al sarcoma<br>de Kaposi) | -                              | +                                               |
| Virus de la hepatitis A                                                          | -                              | +                                               |
| Virus de la hepatitis B                                                          | -                              | +                                               |
| Virus de la hepatitis C                                                          | -                              | +                                               |
| Virus de la inmunodeficiencia<br>humana (VIH)                                    | -                              | +                                               |
| Virus de la leucemia de células T<br>humana tipo 1                               | -                              | +                                               |
| Virus de la leucemia de células T<br>humana tipo 2                               | -                              | +                                               |
| Enterovirus                                                                      | -                              | +                                               |
| Parvovirus B19                                                                   | -                              | +                                               |
| Virus del Nilo Occidental                                                        | -                              | +                                               |

## Precisión

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

Se han obtenido datos de precisión del kit *artus* VZV RG PCR utilizando el estándar de cuantificación de menor concentración (QS 4; 10 copias/ $\mu$ l). El análisis se realizó por octuplicado. Los datos de precisión se calcularon según los valores de  $C_T$  de las curvas de amplificación ( $C_T$ : umbral del ciclo, consulte la tabla 5 en la página 28). Además, se determinaron los datos de precisión para los resultados cuantitativos en copias/ $\mu$ l mediante los valores de  $C_T$  correspondientes (consulte la tabla 6 en la página 29). En función de estos resultados, la dispersión estadística total de cualquier muestra existente con la concentración mencionada es del 0,45% ( $C_T$ ) o del 8,32% (concentración) y del 2,81% ( $C_T$ ) para la detección del control interno. Estos valores se basan en la totalidad de los valores individuales de las variabilidades determinadas.

## Robustez

La verificación de la robustez permite determinar la tasa de fracaso total del kit *artus* VZV RG PCR. Se añadieron 0,4 copias/ $\mu$ l de volumen de elución de ADN del VVZ (aproximadamente tres veces la concentración del límite de sensibilidad analítica) a 30 muestras de LCR negativas para el VVZ. Tras la extracción con el kit EZ1<sup>®</sup> DSP Virus (consulte el apartado "Aislamiento del ADN" en la página 10), estas muestras se analizaron con el kit *artus* VZV RG PCR. La tasa de fracaso para las 30 muestras fue del 0%. Además, la robustez del control interno se evaluó mediante la purificación y el análisis de 30 muestras de LCR negativas para el VVZ. La tasa de fracaso total fue del 0%. No se observaron inhibiciones. Por lo tanto, la robustez del kit *artus* VZV RG PCR es del  $\geq 99\%$ .

## Reproducibilidad

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

**Tabla 5. Datos de precisión en función de los valores de  $C_T$ .**

|                                              | <b>Desviación estándar</b> | <b>Varianza</b> | <b>Coefficiente de variación (%)</b> |
|----------------------------------------------|----------------------------|-----------------|--------------------------------------|
| Variabilidad intraensayo:<br>VZV QS 4        | 0,08                       | 0,01            | 0,26                                 |
| Variabilidad intraensayo:<br>Control interno | 0,04                       | 0,002           | 0,17                                 |
| Variabilidad interensayo:<br>VZV QS 4        | 0,15                       | 0,02            | 0,5                                  |
| Variabilidad interensayo:<br>Control interno | 0,39                       | 0,15            | 1,63                                 |
| Variabilidad interlote:<br>VZV QS 4          | 0,1                        | 0,01            | 0,34                                 |
| Variabilidad interlote:<br>Control interno   | 0,66                       | 0,43            | 2,65                                 |
| Varianza total:<br>VZV QS 4                  | 0,13                       | 0,02            | 0,45                                 |
| Varianza total:<br>Control interno           | 0,68                       | 0,47            | 2,81                                 |

**Tabla 6. Datos de precisión según los resultados cuantitativos (en copias/ $\mu$ l)**

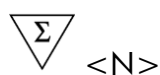
|                                       | <b>Desviación estándar</b> | <b>Varianza</b> | <b>Coefficiente de variación (%)</b> |
|---------------------------------------|----------------------------|-----------------|--------------------------------------|
| Variabilidad intraensayo:<br>VZV QS 4 | 0,5                        | 0,25            | 5,46                                 |
| Variabilidad interensayo:<br>VZV QS 4 | 0,85                       | 0,72            | 8,72                                 |
| Variabilidad interlote:<br>VZV QS 4   | 0,75                       | 0,56            | 7,67                                 |
| Varianza total:<br>VZV QS 4           | 0,81                       | 0,66            | 8,32                                 |

## 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](http://www.qiagen.com/RefDB/search.asp) o póngase en contacto con el servicio técnico de QIAGEN o con su distribuidor local.

## 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                                           |

## Información de contacto

Para recibir asistencia técnica y solicitar más información, consulte nuestro Centro de asistencia técnica en [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) o póngase en contacto con uno de los departamentos de servicio técnico de QIAGEN o distribuidores locales (consulte la contracubierta o visite [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Información para pedidos

| Producto                                                                                                                                                                            | Contenido                                                                                                                                                                                                              | N.º ref. |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <i>artus</i> VZV RG PCR Kit (24)                                                                                                                                                    | Para 24 reacciones: mezcla maestra, 4 estándares de cuantificación, control interno, solución de magnesio, agua (de calidad para PCR)                                                                                  | 4502263  |
| <i>artus</i> VZV RG PCR Kit (96)                                                                                                                                                    | Para 96 reacciones: mezcla maestra, 4 estándares de cuantificación, control interno, solución de magnesio, agua (de calidad para PCR)                                                                                  | 4502265  |
| <b>Kits EASYartus VZV RG PCR: para la purificación de muestras y la detección de patógenos integradas y automatizadas con plena conformidad con los criterios de mercado CE-IVD</b> |                                                                                                                                                                                                                        |          |
| EASYartus VZV RG PCR Kit 1                                                                                                                                                          | Para 48 preparaciones de ácidos nucleicos virales y 24 ensayos: 1 x EZ1 DSP Virus Kit, 1 x <i>artus</i> VZV RG PCR Kit (24)                                                                                            | EA10223  |
| EASYartus VZV RG PCR Kit 2                                                                                                                                                          | Para 48 preparaciones de ácidos nucleicos virales y 48 ensayos: 1 x EZ1 DSP Virus Kit, 2 x <i>artus</i> VZV RG PCR Kit (24)                                                                                            | EA10224  |
| <b>Kit EZ1 DSP Virus: para la purificación automatizada simultánea de ADN y ARN virales a partir de 1-14 muestras de plasma, suero o LCR humanos</b>                                |                                                                                                                                                                                                                        |          |
| EZ1 DSP Virus Kit (48)                                                                                                                                                              | Para 48 preparaciones de ácidos nucleicos virales: cartuchos de reactivos precargados, soportes de puntas desechables, puntas con filtro desechables, tubos de muestras, tubos de elución, tampones, ARN transportador | 62724    |
| <b>Rotor-Gene Q MDx y accesorios</b>                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                        |          |

| <b>Producto</b>                     | <b>Contenido</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                       | <b>N.º ref.</b> |
|-------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 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         |
| 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         |

| <b>Producto</b>                        | <b>Contenido</b>                                                                                                                                                                                                               | <b>N.º ref.</b> |
|----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Rotor-Gene Q MDx<br>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<br>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<br>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,<br>0.1 ml (250)  | 250 tiras de 4 tubos y tapas para 1.000 reacciones                                                                                                                                                                             | 981103          |
| Strip Tubes and Caps,<br>0.1 ml (2500) | 10 x 250 tiras de 4 tubos y tapas para 10.000 reacciones                                                                                                                                                                       | 981106          |
| PCR Tubes, 0.2 ml<br>(1000)            | 1.000 tubos de pared fina para 1.000 reacciones                                                                                                                                                                                | 981005          |
| PCR Tubes, 0.2 ml<br>(10000)           | 10 x 1.000 tubos de pared fina para 10.000 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](http://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®, *artus*®, EASYartus®, EZ1®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

#### **Acuerdo de licencia limitada**

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

1. El kit *artus* VZV RG PCR puede utilizarse exclusivamente de acuerdo con las especificaciones del *Manual de uso del kit artus VZV RG 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 VZV RG PCR* y en protocolos adicionales disponibles en [www.qiagen.com](http://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 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 los términos actualizados de la licencia, visite [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2009-2014 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)

