



Julio de 2024

Hoja de información del producto

QIAcuityDx[®] Universal MasterMix Kit

Versión 1

IVD

Para uso en diagnóstico in vitro

Para uso en laboratorio



REF

260101, 260102



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANIA

R1

MAT

1134829ES

Índice

Contenido del kit.....	3
Envío y almacenamiento.....	4
Estabilidad en uso.....	4
Uso previsto.....	5
Principios activos	5
Símbolos	6
Información de seguridad.....	8
Universal MasterMix	9
Información para emergencias.....	9
Descripción y principio.....	10
Notas antes de comenzar	11
Procedimiento.....	13
Eliminación.....	17
Control de calidad	18
Limitaciones.....	19
Resolución de problemas	20
Información para pedidos	23
Historial de revisiones del documento	24

Contenido del kit

N.º de cat. Kit	260101 1 ml	260102 5 ml
QIAcuityDx Universal MasterMix	1 × 1180 µl	5 × 1180 µl
MgCl ₂ , 200 mM	1 × 1000 µl	2 × 1000 µl
RNase-free water	2 × 1,9 ml	5 × 1,9 ml

Envío y almacenamiento

El QIAcuityDx Universal MasterMix Kit se suministra en hielo seco. Se debe almacenar inmediatamente tras la recepción a una temperatura de $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un congelador a temperatura constante. Si alguno de los componentes del QIAcuityDx Universal MasterMix Kit no está congelado al recibirlo, el embalaje externo se ha abierto durante el transporte o el envío no incluye la nota de embalaje o los reactivos, póngase en contacto con el servicio técnico de QIAGEN o un distribuidor local (visite www.qiagen.com).

Cuando se conserva en las condiciones correctas, el QIAcuityDx Universal MasterMix Kit es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta.

No lo utilice si se ha conservado fuera de los valores especificados, si el embalaje se ha dañado o si se ven otros signos de deterioro o fallo de funcionamiento.

Estabilidad en uso

Una vez abiertos, los reactivos deben almacenarse en el embalaje original a una temperatura comprendida entre -30 y $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta la fecha de caducidad indicada en el embalaje. No es aconsejable descongelarlo y volver luego a congelarlo. No exceda el máximo de cinco ciclos de congelación-descongelación.

Los reactivos deben descongelarse por completo a temperatura ambiente (entre 15 y $25\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante un máximo de 30 minutos antes del uso.

Uso previsto

El QIAcuityDx Universal MasterMix Kit es un conjunto de reactivos de mezcla maestra para dPCR de uso general listo para usar con el instrumento QIAcuityDx Four, junto con reactivos específicos del ensayo asociados, como parte de procedimientos de prueba de diagnóstico validados.

El QIAcuityDx Universal MasterMix Kit no es un dispositivo automatizado y está diseñado para uso en laboratorio por parte de personal capacitado.

El QIAcuityDx Universal MasterMix Kit está indicado para uso en diagnóstico *in vitro*.

Es responsabilidad del usuario validar el rendimiento del sistema con los procedimientos utilizados en cada laboratorio que no estén contemplados en los estudios de rendimiento de QIAGEN.

Principios activos

Reactivo	Nombre	Principio activo	Concentración (% p/p)
Mezcla maestra	QIAcuityDx Universal MasterMix	QuantiNova® DNA Polymerase (5,6 U/μl)	12 %
		dNTP Mix (10 mM cada uno)	10 %
Cloruro magnésico	MgCl ₂ , 200 mM	Ninguno	–
Agua	Agua exenta de RNasa	Ninguno	–

Símbolos

En las instrucciones de uso o en el embalaje y en el etiquetado pueden aparecer los siguientes símbolos:

	Este producto cumple los requisitos del reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i> (IVDR).
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Número de catálogo
	Número de material
	Número de lote
	Número mundial de artículo comercial
	Identificador único de dispositivo
	Contiene
	Componente
	Número
	Fecha de fabricación
Rn	“R” significa revisión de la hoja de información del producto y “n” es el número de revisión
Vn	“V” significa la versión de la hoja de información del producto y “n” es el número de versión
	Fecha de caducidad



Limitaciones de temperatura



Fabricante legal



Consultar las instrucciones de uso



<N>

Contiene suficientes reactivos para <N> reacciones



Proteger de la luz



Advertencia



Peligro para la salud

Información de seguridad

Cuando trabaje con productos químicos, use siempre una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección adecuados. Si desea obtener más información, consulte las hojas de datos sobre seguridad (Safety Data Sheets, SDS) correspondientes. Están disponibles en línea en un práctico y compacto formato PDF en www.qiagen.com/safety, donde puede encontrar, ver e imprimir la SDS de cada kit QIAGEN® y componente del kit.

Tenga en cuenta que puede ser necesario que tenga que consultar las normativas locales para conocer los requisitos de notificación, en relación a los sucesos graves que hayan ocurrido en relación con el dispositivo; al fabricante y a la autoridad sanitaria del país en el que resida el usuario y/o el paciente.

Los materiales de muestra y las muestras son potencialmente infecciosos. Deseche los residuos de muestras y ensayos conforme a los procedimientos de seguridad local.

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit contiene QuantiNova DNA Polymerase, que se produce mediante un proceso de fermentación bacteriana. La enzima se purifica a partir de los microbios al final del procesamiento para eliminar cualquier fuente residual de material potencialmente infeccioso.

Universal MasterMix



Contiene: 2-metilisotiazol-3(2H)-ona; 1,2,4-triazol. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto. Pedir instrucciones especiales antes del uso. No lo manipule hasta que haya leído y comprendido todas las precauciones de seguridad. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. En caso de exposición manifiesta o presunta: consultar a un médico. Conservar bajo llave. Eliminar el contenido/el recipiente en un centro de eliminación de residuos aprobado.

Información para emergencias

CHEMTREC

EE. UU. y Canadá: 1-800-424-9300

Fuera de EE. UU. y Canadá: +1 703-527-3887

Descripción y principio

El QIAcuityDx Universal MasterMix Kit es una mezcla maestra para dPCR lista para usar que contiene los productos químicos de reacción en tampón de PCR y colorante de referencia patentado, y tubos separados de 200 mM de cloruro magnésico ($MgCl_2$) al 100 % p/p y agua sin ribonucleasas al 100 % p/p.

Hay una lista completa de los materiales que se utilizan con el QIAcuityDx Universal MasterMix Kit en el *Manual del usuario del QIAcuityDx System*.

Este protocolo está optimizado para la cuantificación de dianas de ADN o ADNc mediante el QIAcuityDx Universal MasterMix Kit con sondas TaqMan® en una reacción simple o múltiple utilizando el QIAcuityDx System.

Notas antes de comenzar

- Se proporciona un colorante fluorescente como componente del QIAcuityDx Universal MasterMix Kit para una detección fiable del llenado adecuado de las particiones en las nanoplacas compatibles con QIAcuityDx.
- Para alcanzar la máxima eficacia del ensayo de dPCR con las sondas TaqMan, lo ideal es que los amplicones tengan una longitud de entre 60 y 150 pb. De manera similar a la qPCR, también se pueden usar amplicones más largos; sin embargo, el rendimiento del ensayo puede verse afectado.
- Antes de realizar análisis múltiples, elija combinaciones adecuadas de colorantes indicadores y supresores que sean compatibles con los análisis múltiples utilizando la óptica de detección del instrumento QIAcuityDx Four (consulte la tabla 1).

Importante: Se aplica una corrección de interferencias integrada a las imágenes generadas por el instrumento QIAcuityDx Four. Esta corrección tiene como objetivo minimizar los efectos de la superposición espectral entre canales ópticos adyacentes y fluorocromos. El uso de colorantes no compatibles puede provocar una corrección de interferencias subóptima.

Tabla 1. Canales ópticos y fluorocromos compatibles para el instrumento QIAcuityDx Four

Canal	Excitación (nm)	Emisión (nm)	Fluorocromos compatibles
Green	463-503	518-548	FAM™
Yellow	514-535	550-564	HEX™
Orange	543-565	580-606	TAMRA™
Red	570-596	611-653	ROX™
Crimson	590-640	654-692	Cy5®

- Se deben utilizar supresores no fluorescentes con cada sonda. Se pueden utilizar sondas con doble supresión para mejorar las relaciones señal-ruido en ciertos ensayos.

- Se recomienda iniciar el desarrollo del ensayo con las condiciones de ciclado y las concentraciones de cebador especificadas en este protocolo. Las condiciones de ciclado de la PCR deben comenzar con un paso de incubación inicial de 2 minutos a 95 °C para activar la QuantiNova DNA Polymerase en QIAcuityDx Universal MasterMix Kit.
- Para facilitar su uso, recomendamos preparar una concentración $\times 10$ o más de mezcla de sonda y cebador que contenga cebadores y sondas específicos para cada una de sus dianas. Una mezcla de sonda y cebador $\times 10$ consta de un cebador directo de 1 a 8 μM , un cebador inverso de 1 a 8 μM y una sonda de 0,5 a 4 μM en tampón TE con EDTA bajo (0,1 mM).
- Es posible que sea necesario fragmentar el molde de ADN con una longitud media de >30 kb mediante digestión de restricción antes de la división. La fragmentación enzimática de ADN más grande garantiza una distribución uniforme del molde en toda la nanoplaca compatible con QIAcuityDx, lo que a su vez garantiza una cuantificación exacta y precisa. La digestión de restricción no es necesaria para ADN muy fragmentado (por ejemplo, ADN FFPE o ADN circulante) o ADNc. Se debe tener cuidado de utilizar enzimas que no corten dentro de la secuencia amplificada, por lo que se recomiendan enzimas de restricción.
- Las cantidades de entrada de muestras deben basarse en los números de división de nanoplacas, con un límite superior de 5 copias por división cuando se utiliza la detección basada en sonda TaqMan (Tabla 2). El intervalo ideal de copias/división está entre 0,5 y 3. Si no se puede determinar el número de copias antes del inicio del experimento, se recomienda realizar un experimento de titulación inicial para determinar la cantidad óptima de entrada de muestra.

Tabla 2. Número máximo de copias por reacción por tipo de placa

Tipo de placa	Número de divisiones	Límite superior de copias por reacción	Volumen analizado (μl)	Volumen de reacción total (μl)	Máx. número de copias por volumen analizado	Máx. número de copias calculado por reacción
Nanoplacas de 8,5 k	8500	5	2,9	13	42.500	170.000
Nanoplacas de 26 k	26.000	5	24,0	42	130.000	217.000

Procedimiento

1. Descongele el QIAcuityDx Universal MasterMix, el cloruro magnésico, el ADN del molde o el ADNc, la mezcla de sonda y cebador y el agua sin ribonucleasas a temperatura ambiente durante un máximo de 30 minutos.
2. Mezcle cada una de las soluciones agitando con vórtex a máxima velocidad durante entre 3 y 5 segundos. Centrifugue brevemente tras el mezclado para recoger el líquido depositado en el fondo del tubo.
3. Prepare una mezcla maestra de ensayo para el número de reacciones necesarias según la tabla 3, menos el molde/molde sin control (No Template Control, NTC). No es necesario mantener las muestras en hielo durante la preparación de la reacción o los pasos posteriores.

Tabla 3. Preparación recomendada de la mezcla maestra del ensayo

Componente	Volumen/pocillo (24/96 pocillos, nanoplacas de 8,5 k)	Volumen/pocillo (24 pocillos, nanoplacas de 26 k)	Concentración final
QIAcuityDx Universal MasterMix	3,3 µl	11 µl	1x
MgCl ₂ , 200 mM	0,41 µl*	1,38 µl*	6,28 mM*
Mezcla de sonda y cebador x10 (por ensayo)†	1,32 µl†	4,4 µl†	Cebador directo de 0,1 a 0,8 µM Cebador inverso de 0,1 a 0,8 µM Sonda de 0,05 a 0,4 µM
Enzima de restricción (opcional)	Hasta 1 µl	Hasta 1 µl	0,025-0,25 U/µl
Agua exenta de RNasa	Variable	Variable	
ADN del molde o ADNc (agregado en el paso 5)	Variable‡	Variable‡	
Total	13,2 µl	44 µl	

*Concentración inicial recomendada, el volumen puede variar según la optimización.

†El volumen puede variar, según la concentración de la mezcla de sonda y cebador utilizada y la concentración diana final.

‡Las cantidades apropiadas del molde dependen de varios parámetros; consulte las notas antes de comenzar.

- Mezcle la mezcla maestra agitando con vórtex a máxima velocidad durante entre 3 y 5 segundos. Centrifugue brevemente.
- Dispense volúmenes adecuados de la mezcla maestra del ensayo, que contiene todos los componentes excepto el molde/control sin molde (NTC), en los pocillos de una placa de PCR estándar o tubos de baja unión. Luego, agregue ADN del molde/NTC en cada pocillo/tubo en el volumen apropiado para su ensayo (consulte Notas antes de comenzar).

Nota: Para la RT-PCR de 2 pasos, el volumen de ADNc agregado (de la reacción de transcripción inversa sin diluir) no debe exceder el 15 % del volumen final de la PCR.

- Mezcle la submezcla (mezcla maestra de ensayo y molde) en una placa de PCR pipeteando hacia arriba y hacia abajo 10 veces en el pocillo o, si se mezcla en un tubo, agitando con vórtex a máxima velocidad durante entre 3 y 5 segundos. Centrifugue la placa/el tubo brevemente para recoger el líquido depositado en el fondo del pocillo/el tubo.
- Transfiera el contenido de cada pocillo/tubo inmediatamente a los pocillos de la nanoplaca.

Nota: Asegúrese de que no se creen burbujas de aire durante la transferencia a la nanoplaca pipeteando hasta el primer tope. Asegúrese de pipetear la mezcla en el pocillo de entrada y no en el de salida. Para evitar dañar la superficie óptica y reducir el polvo que interferirá con la obtención de imágenes y el análisis de los resultados, recomendamos colocar la nanoplaca en una bandeja de nanoplacas antes de pipetear la mezcla de reacción en la nanoplaca. La bandeja de nanoplacas debe limpiarse previamente con un paño sin pelusa antes de su uso.

- Selle las nanoplacas correctamente utilizando el sello de nanoplacas suministrado en los kits de placas.

Nota: Para conocer el procedimiento de sellado exacto, consulte el *Manual del usuario del QIAcuityDx System*.

- Si en la reacción se ha incluido una enzima de restricción para la digestión del ADN, deje la placa durante 10 minutos a temperatura ambiente.
- Programa el ciclador del instrumento QIAcuityDx Four según la Tabla 4.

Tabla 4. Condiciones recomendadas de ciclado de dPCR

Paso	Tiempo	Temperatura (°C)	N.º de ciclos
Activación de calor inicial de la PCR	2 minutos	95	1
Desnaturalización	15 s	95	40*
Hibridación/extensión combinada*	30 s*	60	

*La temperatura, el tiempo y el número de ciclos pueden variar según el tipo de ensayo

11. Coloque la nanoplaca en el instrumento QIAcuityDx Four e inicie el programa dPCR de acuerdo con el *Manual del usuario del QIAcuityDx System*.

Eliminación

Deseche el producto utilizado y sin utilizar de acuerdo con las disposiciones locales y nacionales. Siga las recomendaciones de la Hoja de datos sobre seguridad (SDS).

Control de calidad

En cumplimiento con el sistema de gestión de calidad con certificación ISO de QIAGEN, cada lote del QIAcuityDx Universal MasterMix Kit se analiza en relación con especificaciones predeterminadas para garantizar la uniformidad de la calidad del producto.

Limitaciones

El rendimiento del QIAcuityDx Universal MasterMix Kit se ha establecido con los ensayos QIAGEN posteriores aplicables. Consulte las instrucciones de uso respectivas de la aplicación posterior de QIAGEN respectiva para obtener instrucciones detalladas sobre el manejo de este producto dentro del flujo de trabajo correspondiente.

Es responsabilidad del usuario validar el rendimiento con los ensayos utilizados en cada laboratorio que no estén contemplados en los estudios de rendimiento de QIAGEN. Para minimizar el riesgo de que se produzcan efectos negativos sobre los resultados diagnósticos, deben utilizarse controles apropiados para las aplicaciones posteriores. Para realizar validaciones adicionales, se recomienda seguir las directrices de la *International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) detalladas en ICH Q2(R1) Validation of Analytical Procedures: Text And Methodology*.

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit no se produce según procedimientos de fabricación estériles, por lo que puede contener otros principios que podrían influir en la medición. Las aplicaciones posteriores deben incluir controles adecuados si esto aumenta el riesgo de un impacto negativo en el resultado del diagnóstico.

Resolución de problemas

En esta sección se proporciona información sobre qué hacer en caso de problemas con el uso del QIAcuityDx Universal MasterMix Kit. Si se necesita más asistencia, póngase en contacto con el servicio técnico de QIAGEN mediante la información siguiente, que le dirigirá a los detalles de contacto específicos de su país:

Sitio web: support.qiagen.com

Problema	Comentarios y sugerencias
Amplificación del NTC	
Diseño del ensayo	Rediseñar cebadores/sondas. Optimizar las condiciones del ensayo variando la concentración de sonda-cebador y la concentración de $MgCl_2$.
Contaminación de reactivos	Desechar los reactivos, repetir el ensayo utilizando reactivos nuevos.
Contaminación en la preparación del ensayo.	Tomar precauciones contra la contaminación descontaminando el área de trabajo mediante materiales de limpieza adecuados.
Sin amplificación	
Condiciones de PCR sin optimizar	Incrementar el tiempo de desnaturalización inicial. Incrementar el tiempo de hibridación/extensión.
Molde inicial insuficiente	Aumentar la cantidad/concentración del molde inicial agregado a la mezcla maestra del ensayo.
Marcador de saturación	
Sobresaturación de sondas	Disminuir el tiempo de exposición en los parámetros de imagen. Disminuir la ganancia en los parámetros de imagen.
Separación insuficiente entre grupos positivos y negativos	
Diseño del ensayo	Optimizar las condiciones del ensayo variando la concentración de sonda-cebador y la concentración de $MgCl_2$. Cambiar a sondas TaqMan con doble supresión para aumentar la relación señal-ruido.
Condiciones de PCR sin optimizar	Incrementar el tiempo de desnaturalización inicial. Incrementar el tiempo de hibridación/extensión.
Diferencias observadas en los valores absolutos de cuantificación entre series	
Adición insuficiente de QIAcuityDx Universal MasterMix	Comprobar que la concentración final de QIAcuityDx Universal MasterMix en la submezcla sea $\times 1$ (de la solución de partida $\times 4$).
Variación en el tiempo de descongelación/preparación	Los tiempos prolongados de descongelación/preparación pueden afectar negativamente a los valores de cuantificación absolutos. Para obtener un rendimiento óptimo, los reactivos se deben descongelar durante un máximo de 30 minutos y, una vez preparada la submezcla (mezcla maestra de ensayo + molde), se debe cargar inmediatamente en la nanoplaca. Si son necesarios tiempos prolongados de descongelación/preparación, estos deben tener una banda de protección por ensayo para garantizar que cualquier cambio en la cuantificación

Problema**Comentarios y sugerencias**

	absoluta no afecte los resultados finales.
Condiciones de PCR sin optimizar	Optimizar la temperatura de desnaturalización. Optimizar la temperatura de hibridación/extensión.

Resultados inconsistentes entre los pocillos de la nanoplaca

Condiciones de PCR sin optimizar	Optimizar el tiempo de activación aumentando de 2 a 15 minutos.
----------------------------------	---

Información para pedidos

Producto	Contenido	N.º de cat.
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (1 mL)	Para la preparación de hasta cuatro QIAcuityDx Nanoplates: 1 × QIAcuityDx Universal MasterMix, 1 × MgCl ₂ , 200 mM, 2 × agua sin ribonucleasas	260101
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (5 mL)	Para la preparación de hasta veinte QIAcuityDx Nanoplates: 5 × QIAcuityDx Universal MasterMix, 2 × MgCl ₂ , 200 mM, 5 × agua sin ribonucleasas	260102

Durante la manipulación de los productos, deben extremarse el cuidado y la atención. Recomendamos a todos los usuarios de los productos QIAGEN® que sigan todas las normativas locales aplicables y también recomendamos observen las normas y directrices correspondientes.

Historial de revisiones del documento

Fecha

Cambios

R1, julio de 2024 Versión inicial

Acuerdo de licencia limitada para QIAcuityDx® Universal MasterMix Kit

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

1. El producto puede utilizarse únicamente conforme a los protocolos suministrados con el mismo y a estas instrucciones de uso y para su uso exclusivo con los componentes incluidos en el panel. QIAGEN no ofrece licencia alguna bajo ninguna de sus propiedades intelectuales para utilizar o incorporar los componentes suministrados en este panel con componentes no incluidos en el mismo, excepto según se describe en los protocolos proporcionados con el producto, estas instrucciones de uso y otros protocolos disponibles en www.qiagen.com. Algunos de estos protocolos adicionales los han proporcionado usuarios de QIAGEN para usuarios de QIAGEN. QIAGEN no ha probado ni optimizado estos protocolos en profundidad. Por ello, QIAGEN no los garantiza ni asegura que no infrinjan los derechos de terceros.
2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, QIAGEN no garantiza que este panel ni su(s) uso(s) no infrinjan derechos de terceros.
3. Este panel y sus componentes tienen licencia para un solo uso y no se pueden reutilizar, reacondicionar ni revender.
4. QIAGEN renuncia específicamente a toda responsabilidad respecto a cualquier otra licencia, explícita o implícita, distinta de las licencias expresamente especificadas.
5. El comprador y el usuario del panel aceptan no realizar ni permitir a otros realizar ningún paso que pueda conducir a acciones 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 gastos judiciales, incluidas las costas procesales, en cualquier acción emprendida para hacer cumplir este Acuerdo de licencia limitada o cualquier otro derecho de propiedad intelectual en relación con este kit y/o con sus componentes.

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

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAcuityDx®, QuantiNova® (Grupo QIAGEN); Cy® (GE Healthcare); Taqman® (Roche Molecular Systems, Inc.); FAM™, HEX™, ROX™, TAMRA™, (Thermo Fisher Scientific o sus filiales). No debe considerarse que los nombres registrados, marcas comerciales, etc., que se utilizan en este documento no están protegidos por la ley.

07/2024 HB-3592-001 © 2024 QIAGEN, todos los derechos reservados.

Esta página se ha dejado intencionadamente en blanco.

Esta página se ha dejado intencionadamente en blanco.

Esta página se ha dejado intencionadamente en blanco.

