

Hoja de aplicación del QIAAsymphony[®] RGQ *artus*[®] CT/NG QS-RGQ Kit (tipo de muestras: orina estabilizada en eNaT[™], 400 µl)

Julio 2017

Administración de versiones

Este documento es Hoja de aplicación del kit *artus* CT/NG QS-RGQ para orina, versión 1, R3.



Antes de realizar el análisis, compruebe si existen nuevas revisiones electrónicas para el etiquetado en www.qiagen.com/products/artusctngqsrqgkitce.

Información general

Kit	<i>artus</i> CT/NG QS-RGQ Kit, versión 1, REF 4569365
Materiales de muestra validados	Orina femenina y masculina estabilizada con eNaT
Purificación inicial	QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (ref. 937055)
Volumen de muestra (incluido el volumen en exceso)	500 µl
Conjunto de parámetros del ensayo	<i>artus</i> _CT_NG 400_V1
Juego de controles del ensayo predeterminado	Complex400_V4_DSP <i>artus</i> CT_NG
Nombre del control interno en el módulo SP	Complex400_V4_DSP <i>artus</i> CT_NG
Volumen de elución	60 µl
Versión del software requerida	Versión 4.0 o superior
Volumen de mezcla maestra	10 µl
Volumen de molde	15 µl
Número de reacciones	6-96
Tiempo de procesamiento en el módulo AS	Para 6 reacciones: aproximadamente 8 minutos Para 72 reacciones: aproximadamente 35 minutos

Materiales necesarios pero no suministrados

Recogida de muestras	■	2 ml eNaT tubes (tubos de 2 ml con eNaT) (Copan, ref. 606C, www.copaninnovation.com)
Kit de purificación	■	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (ref. 937055)
Adaptadores para el QIASymphony SP	■	Elution Microtube Rack QS (gradilla para microtubos de elución QS) (adaptador de refrigeración, EMT, v2, Qsym, ref. 9020730)
	■	Tube Insert 3B (inserto para tubos 3B) (inserto, 2,0 ml v2, soporte para muestras (24), Qsym, ref. 9242083)
Consumibles para el QIASymphony SP	■	Sample Prep Cartridges, 8-well (cartuchos de preparación de muestras, 8 pocillos) (ref. 997002)
	■	8-Rod Covers (cubiertas para 8 barras) (ref. 997004)
	■	Filter-Tips, 1500 µl (puntas con filtro, 1.500 µl) (ref. 997024)
	■	Filter-Tips, 200 µl (puntas con filtro, 200 µl) (ref. 990332)
	■	Elution Microtubes CL (microtubos de elución CL) (ref. 19588)
	■	Tip disposal bags (bolsas para la eliminación de puntas) (ref. 9013395)
	■	Micro tubes 2.0 ml Type I, with skirted base (microtubos de 2,0 ml de tipo I con base de apoyo) (Sarstedt, ref. 72.694, www.sarstedt.com) para utilizar con las muestras y los controles internos
	■	Tubes, 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (tubos de poliestireno de fondo redondeado de 14 ml de 17 x 100 mm) (Becton Dickinson, ref. 352051) para controles internos
Adaptadores y soportes para reactivos para el QIASymphony AS	■	Reagent holder 1 QS (soporte para reactivos 1 QS) (adaptador de refrigeración, soporte para reactivos 1, Qsym, ref. 9018090)
	■	Reagent holder 2 QS (soporte para reactivos 2 QS) (adaptador de refrigeración, soporte para reactivos 2, Qsym, ref. 9018089)
	■	RG Strip Tubes 72 QS (tubos en tira RG 72 QS) (adaptador de refrigeración, tubos en tira RG 72, Qsym, ref. 9018092)

Consumibles para el QIASymphony AS	<ul style="list-style-type: none"> ■ Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (tubos en tira y tapones, 0,1 ml) (ref. 981103) ■ Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (tubos cónicos de 2 ml, Qsym AS) (ref. 997102) ■ Tube, conical, 5 ml, Qsym AS (tubo cónico de 5 ml, Qsym AS) (ref. 997104) ■ Elution Microtubes CL (microtubos de elución CL) (ref. 19588) ■ Filter-Tips, 1500 µl (puntas con filtro, 1.500 µl) (ref. 997024) ■ Filter-Tips, 200 µl (puntas con filtro, 200 µl) (ref. 990332) ■ Filter-Tips, 50 µl (puntas con filtro, 50 µl) (ref. 997120) ■ Tip disposal bags (bolsas para la eliminación de puntas) (ref. 9013395)
Para la preparación de muestras (eNaT)	<ul style="list-style-type: none"> ■ Buffer ATL, GPR (tampón ATL) (ref. 939016)

Manipulación y almacenamiento de las muestras

Recogida de muestras	Tubos de 2 ml con eNaT (Copan, ref. 606C, www.copaninnovation.com)
Transporte de muestras	Transporte en recipiente inastillable Envío a 20°C en las primeras 6 horas desde la recogida de las muestras Envío por correo conforme a las instrucciones legales para el transporte de material patógeno*
Preparación de las muestras	Evite la formación de espuma en el interior o en la superficie de las muestras. Las muestras deben equilibrarse a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de comenzar el ciclo.
Almacenamiento de muestras	Corto (hasta 7 días desde la recepción en el centro de análisis): 20°C o 4°C dependiendo de las condiciones locales Intermedio (hasta 2 semanas): 4°C Prolongado: -20 °C

* International Air Transport Association (IATA, Asociación Internacional de Transporte Aéreo). Dangerous Goods Regulations (Normativa sobre mercancías peligrosas).

Procedimiento

Preparación del ARN transportador y adición del control interno a las muestras

El uso del kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi en combinación con el kit *artus* CT/NG QS-RGQ requiere la introducción del control interno (CT/NG RG IC) en el procedimiento de purificación para vigilar la eficiencia de la preparación de las muestras y del ensayo anterógrado.

Es preciso añadir controles internos con la mezcla ARN transportador (CARRIER) – tampón AVE (AVE), y el volumen total de la mezcla control interno – ARN transportador (CARRIER) – tampón AVE (AVE) sigue siendo de 120 μ l.

La tabla representa la adición del control interno para el aislamiento con una relación de 0,1 μ l por 1 μ l del volumen eluido. Recomendamos preparar mezclas frescas para cada ciclo justo antes del uso.

Para calcular el control interno (IC) se empleará la “IC Calculator” (Calculadora del IC) del programa QIA Symphony Management Console (QMC).

Componente	Volumen (μ l) (tubos SAR)*	Volumen (μ l) (tubos BD™)†
ARN transportador (CARRIER) de partida	3	3
Control interno‡	9	9
Tampón AVE	108	108
Volumen final por muestra (excluido el volumen muerto)	120	120
Volumen total para n muestras	(n x 120) + 360§	(n x 120) + 600¶

* Microtubos de 2,0 ml de tipo I, con base de apoyo (Sarstedt, ref. 72.694, www.sarstedt.com).

† Tubos de poliestireno de fondo redondeado de 14 ml, 17 x 100 mm (Becton Dickinson, ref. 352051).

‡ El cálculo de la cantidad de control interno se basa en los volúmenes de elución iniciales (90 μ l). El volumen vacío adicional depende del tipo de tubo de muestras usado.

§ Se requiere la mezcla del control interno correspondiente a 3 muestras adicionales (es decir, 360 μ l). No llene un volumen total superior a 1,92 ml (correspondiente a un máximo de 13 muestras. Estos volúmenes son específicos para los microtubos de 2,0 ml de tipo I, con base de apoyo (Sarstedt, ref. 72.694, www.sarstedt.com).

¶ Se requiere la mezcla del control interno correspondiente a 5 muestras adicionales (es decir, 600 μ l). No llene un volumen total superior a 13,92 ml (correspondiente a un máximo de 111 muestras. Estos volúmenes son específicos para los tubos de poliestireno de fondo redondeado de 14 ml, 17 x 100 mm (Becton Dickinson, ref. 352051).

Configuración del QIASymphony SP

Cajón "Waste" (Desechos)

Soporte de caja unitaria 1-4	Cajas unitarias vacías
Soporte de bolsa de desechos	Bolsa de desechos vacía.
Soporte para frasco de desechos líquidos	Vacíe e instale el frasco de desechos líquidos

Cajón "Eluate" (Eluidos)

Gradilla de elución	(Gradilla EMT) Utilice la ranura 1 en posición de refrigeración
Volumen de elución*	Volumen preseleccionado de elución: 60 μ l Volumen inicial de elución: 90 μ l

* El volumen de elución está preseleccionado para el protocolo. Se trata del volumen accesible mínimo de eluido presente en el tubo de elución final. El volumen inicial de la solución de elución es necesario para garantizar que el volumen real eluido sea el mismo que el volumen preseleccionado.

Cajón "Reagents and Consumables" (Reactivos y consumibles)

Posición A1 y/o A2	Cargue 1 cartucho de reactivos (RC) para un máximo de 72 muestras o 2 cartuchos de reactivos (RC) nuevos para un máximo de 144 muestras
Posición B1	Tampón ATL (ATL), escanee el código de barras del frasco pulsando el botón "Bottle ID" (ID del frasco) del cajón "Reagent and Consumable".
Soporte de gradilla de puntas, posiciones 1-17	Cargue suficientes gradillas de puntas con filtro desechables de 200 μ l y 1500 μ l (ver página 7)
Soporte de caja unitaria, posiciones 1-4	Cargue las cajas unitarias que contienen cartuchos de preparación de muestras y cubiertas para 8 barras (ver página 7)

Cajón "Sample" (Muestras)

Tipo de muestra	Medio de transporte eNaT
Volumen de muestra (incluido el volumen en exceso)	500 µl
Tubos de muestras (primarios)	Tubos de 2 ml con eNaT (Copan, ref. 606C, www.copaninnovation.com)*
Tubos de muestras (secundarios)	Microtubos de 2,0 ml de tipo I, con base de apoyo (Sarstedt, ref. 72.694, www.sarstedt.com).
Inserto	Inserto para tubos 3B (ref. 9242083)

* Asegúrese de extraer los hisopos de los tubos primarios antes de cargarlos en el QIASymphony SP.

Material de plástico necesario para 1-4 lotes de muestras

	Un lote, 24 muestras*	Dos lotes, 48 muestras*	Tres lotes, 72 muestras*	Cuatro lotes, 96 muestras*
Puntas con filtro desechables, 200 µl†‡	28	52	74	100
Puntas con filtro desechables, 1.500 µl†‡	93	178	263	348
Cartuchos de preparación de muestras§	18	36	54	72
Cubiertas para 8 barras¶	3	6	9	12

* El uso de más de un tubo de control interno por lote y la realización de más de un examen de inventario requieren puntas con filtro desechables adicionales.

† Hay 32 puntas con filtro por gradilla de puntas.

‡ El número de puntas con filtro necesarias incluye las puntas con filtro para 1 examen de inventario por cartucho de reactivos.

§ Hay 28 cartuchos de preparación de muestras por caja unitaria.

¶ Hay doce cubiertas para 8 barras por caja unitaria.

Carga de muestras y controles

Asegúrese de que los 2 controles (control CT+/NG- de CT/NG y control NG+/CT- de CT/NG) se situando al comienzo de las muestras a la entrada de muestras del instrumento QIASymphony. Cuando se preparen más de 69 muestras se dispondrán 2 controles adicionales (ver tabla siguiente con un ejemplo). Esto reviste importancia porque cada ciclo de PCR contiene 72 reacciones (69 muestras + 2 controles en los módulos de preparación de muestras y 1 NTC en el módulo de configuración del ensayo). Cuando se analicen más de 69 muestras, el módulo AS pipetea automáticamente un segundo ciclo de PCR. Para garantizar la validez de este ciclo, 2 controles deben situarse las posiciones 1 y 2 de la PCR. Por eso, asegúrese de colocar siempre 2 controles para la preparación de las muestras

al comienzo del ciclo del RotorGene Q. Cuando se analicen más de 45 muestras, recomendamos fraccionar las muestras en 2 lotes en el módulo AS y, en consecuencia, efectuar 2 ciclos diferentes en el RotorGene Q MDx 5plex HRM. Para más información, consulte las 2 tablas. Recuerde que el NTC es procesado por el módulo AS y no por el módulo SP.

Nota: No recomendamos cambiar manualmente el número de réplicas del NTC. Rotor-Gene AssayManager rechazará el ciclo si se modifica el número de réplicas del NTC.

Distribución de las muestras y de los controles (ejemplo para 96 reacciones)

	Lote 1 de SP	Lote 2 de SP	Lote 3 de SP	Lote 4 de SP
	Posiciones	Posiciones	Posiciones	Posiciones
Controles de CT/NG	1: CT+/NG– 2: NG+/CT–	–	49: CT+/NG– 50: NG+/CT–	–
Muestras	3–24	25–48	51–72	73–96

El módulo AS agregará una muestra NTC (control sin molde) después de cada juego de muestras (1-71 y 72-96).

La tabla siguiente muestra el flujo recomendado de trabajo para 96 muestras (incluidos los controles). En este ejemplo se procesarán 2 x 46 muestras (+ 2 controles) en dos lotes AS y dos ciclos de PCR. El primer ciclo de PCR, con 46 muestras, 2 controles y 1 NTC, se termina mientras se procesan los lotes 3 y 4 de SP.

Flujo recomendado de trabajo para 96 muestras utilizando el ciclo integrado

	Lote 1 de AS		Lote 2 de AS	
	Lote 1 de SP	Lote 2 de SP	Lote 3 de SP	Lote 4 de SP
	Posiciones	Posiciones	Posiciones	Posiciones
Controles de CT/NG	1: CT+/NG– 2: NG+/CT–	–	49: CT+/NG– 50: NG+/CT–	–
Muestras	3–24	25–48	51–72	73–96

Configuración del QIASymphony AS

Consumibles

Durante la configuración, las posiciones adecuadas de cada consumible en el módulo QIASymphony AS aparecen indicadas en la pantalla táctil del instrumento.

Consumibles	Nombre que aparece en la pantalla táctil	Para uso con adaptador/soporte para reactivos
Tubos en tira y tapones, 0,1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	Tubos en tira RG 72 QS
Tubos cónicos, 2 ml, Qsym AS (500) [†]	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt [§]	Soporte para reactivos 1 QS Soporte para reactivos 2 QS
Tubos cónicos, 5 ml, Qsym AS (500) ^{†‡}	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt [§]	Soporte para reactivos 1 QS Soporte para reactivos 2 QS
Microtubos de elución CL (24 x 96)	QIA#19588 * EMTR	Gradilla para microtubos de elución QS

* Indica material de laboratorio que se puede refrigerar con un adaptador de refrigeración dotado de código de barras.

[†] Para los componentes de la mezcla maestra, la mezcla maestra preparada por el sistema, los estándares del ensayo y los controles del ensayo.

[‡] Como alternativa se pueden usar tubos cónicos de 2 ml, Qsym AS (ref. 997102).

[§] El sufijo "(m)" que aparece en la pantalla táctil indica que los cálculos del nivel de líquido del tubo en cuestión se han optimizado para reactivos que forman un menisco cóncavo.

Adaptadores y soportes para reactivos

Gradilla/soporte para reactivos	Nombre	Número necesario*
Gradilla de muestras	Gradilla para microtubos de elución QS	1
Soportes para reactivos	Soporte para reactivos 1 QS	1
Gradillas del ensayo	Tubos en tira RG 72 QS	1

* Calculado para un ciclo del ensayo con 72 reacciones.

Puntas con filtro

Cargue las gradillas de puntas comenzando por las ranuras de puntas 1, 2 y 3 en el cajón "Eluate and Reagents" (Eluidos y reactivos) y, a continuación, cargue las gradillas de puntas en las ranuras de puntas 7, 8 y 9 en el cajón "Assays" (Ensayos).

Consumible	Nombre que aparece en la pantalla táctil	Número mínimo para 24 reacciones	Número mínimo para 72 reacciones
Puntas con filtro, 1.500 µl (1.024)	1500 µl	2	2
Puntas con filtro, 200 µl (1.024)	200 µl	6	6
Puntas con filtro, 50 µl (1.024)	50 µl	24	72
Bolsas para eliminación de puntas	–	1	1

Fraccionamiento de la mezcla maestra

Aun cuando el kit se encuentra optimizado para 2 x 48 reacciones, pueden realizarse combinaciones diferentes. Los sistemas de pipeteo automático siempre tienen un cierto volumen muerto, por lo que un tubo para el fraccionamiento de 48 reacciones no contiene 2 x 24 reacciones. Ver la tabla siguiente con un resumen de las posibles combinaciones.

Componente(s)	Tubos de la mezcla maestra	Ciclos de PCR	Reacciones por ciclo de PCR*	Muestras de pacientes	Controles†
Tubo de 2 x 48 reacciones	2	2	49	2 x 46	2 x 3
Tubo de 1 x 48 reacciones	1	1	49	1 x 46	1 x 3
Tubo de 1 x 48 reacciones	1	2	17	2 x 14	2 x 3

* Calculado como n muestras de pacientes + 2 controles de CT/NG (CT+/NG- y NG+/CT-) + 1 NTC por ciclo de PCR.

† Control CT+/NG- de CT/NG, Control NG+/CT- de CT/NG y NTC (añadido por el módulo de configuración del ensayo).

RT-PCR en el Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM*

El kit *artus* CT/NG QS-RGQ se puede procesar en el Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM utilizando el análisis manual con el software 2.1 o superior del Rotor-Gene Q o utilizando un análisis automático con el programa Rotor-Gene AssayManager®. En las próximas secciones se describen los ajustes y la configuración empleando los 2 programas de software diferentes.

Prepare el rotor para el ciclo en el instrumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM:

- Coloque un rotor de 72 pocillos en el soporte del rotor.
- Llene el rotor con tubos en tira. Asegúrese de comenzar en la posición 1 y de colocar los tubos en tira en la orientación correcta.
- Utilice tubos en tira vacíos tapados para ocupar todas las posiciones no utilizadas.
- Acople el anillo de bloqueo.
- Cargue el instrumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM con el rotor y el anillo de bloqueo..

* Si procede, un instrumento Rotor-Gene Q 5plex HRM con una fecha de producción igual o posterior a enero de 2010. La fecha de producción puede obtenerse a partir del número de serie indicado en la parte posterior del instrumento. El número de serie se muestra en el formato "mmaannn", en el que "mm" indica el mes de producción en dígitos, "aa" indica los dos últimos dígitos del año de producción y "nnn" indica el identificador exclusivo del instrumento.

RT-PCR con el programa Rotor-Gene AssayManager

Para el análisis automático utilizando el kit *artus* CT/NG QS-RGQ con Rotor-Gene AssayManager, debe instalarse el complemento *artus* Basic plug-in V1.0.3 (disponible para descargar en www.qiagen.com/shop/automated-solutions/accessories/rotor-gene-assaymanager) en Rotor-Gene AssayManager.

Inicie el proceso de instalación haciendo doble clic en el archivo ArtusBasic.Installation.msi y, a continuación, siga las instrucciones de instalación. Si desea ver una descripción detallada, consulte el apartado "Installing Plug-ins" (Instalación de complementos) del manual del usuario de la Rotor-Gene AssayManager Core Application (*Rotor-Gene AssayManager Core Application User Manual*) suministrado.

Para utilizar el perfil de ensayo *artus*_CTNG_sample400_QS (nombre abreviado: CTNG_a) con el kit *artus* CT/NG QS-RGQ, debe importarse el archivo AP_artus_CTNG_sample400_QS_V2_0_0.iap (disponible para descargar en www.qiagen.com/products/artusctngqsrqkitce) en Rotor-Gene AssayManager.

Para importar el perfil de ensayo en Rotor-Gene AssayManager:

1. Vaya al entorno "Configuration" (Configuración) y acceda a la ficha "Assay Profile" (Perfil de ensayo).
2. Haga clic en "Import" (Importar) y seleccione el archivo AP_artus_CTNG_sample400_QS_V2_0_0.iap en el cuadro de diálogo para abrir archivos.
3. Haga clic en "Open" (Abrir); el perfil de ensayo se cargará y se añadirá a la lista de perfiles de ensayo disponibles.

Nota: No puede importarse dos veces la misma versión de un perfil de ensayo.

Inicio de un ciclo con Rotor-Gene AssayManager

Después de instalar el complemento y de importar el perfil de ensayo, Rotor-Gene AssayManager puede usar la información contenida en el archivo de resultados del QIASymphony AS para preparar un ciclo para amplificación de PCR en tiempo real y para la subsiguiente interpretación automatizada de los resultados.

Los archivos de resultados del QIASymphony AS pueden descargarse mediante un lápiz USB o mediante el programa QIASymphony Management Console. Si el archivo de resultados del QIASymphony AS se descarga mediante un lápiz USB, se guarda en formato .zip en la carpeta x:\Log\results\AS.

Nota: Antes de importar el archivo de resultados del QIASymphony AS, es necesario extraer el archivo .zip. Este paso no es necesario si el archivo de resultados del QIASymphony AS se transfiere mediante el programa QIASymphony Management Console (QMC).

Para realizar un ciclo de PCR:

1. Inicie Rotor-Gene AssayManager.
2. Cambie al entorno "Setup" (Preparación) y seleccione el origen "QIASymphony" como "Import type" (Tipo de importación). En el cuadro de diálogo "Select file" (Seleccionar archivo), abra el archivo de resultados del QIASymphony AS correspondiente y haga clic en "Open". A continuación se añade la lista de trabajo a la lista de listas de trabajo disponibles.
3. El ciclo puede iniciarse desde la tabla "Available work lists" (Listas de trabajo disponibles) haciendo clic en "Apply" (Aplicar) en la barra de botones en la entrada apropiada de la lista de trabajo (introduzca el nombre de las listas de trabajo QS importadas).
4. Introduzca un nombre de experimento.
5. Seleccione un termociclador y confirme que el anillo de bloqueo está acoplado.
6. Haga clic en el botón verde "Start run" (iniciar ciclo).

Finalización y publicación de un ciclo

Para ver el progreso del ciclo, cambie a la pantalla del termociclador correspondiente. Cuando haya finalizado el ciclo, haga clic en "Finish run" (Finalizar ciclo) para validar el termociclador y aprobar la muestra en el entorno "Approval" (Aprobación)..

7. Seleccione el entorno "Approval".
8. Haga clic en "Apply filter" (Aplicar filtro) (o seleccione sus propias opciones de filtro de antemano).
9. Seleccione el experimento.
10. Haga clic en "Start Approval" (Iniciar aprobación).
11. Apruebe los resultados de cada muestra de ensayo: Utilice el botón "Accepted" (Aceptada) para las muestras de ensayo con cuyos resultados analizados por Rotor-Gene AssayManager esté usted de acuerdo. Utilice el botón

“Rejected” (Rechazada) si el resultado de la muestra de ensayo evaluado por Rotor-Gene AssayManager no es aceptable por cualquier motivo.

Nota: Un resultado definido automáticamente como “Invalid” (No válido) por Rotor-Gene AssayManager ya no puede convertirse en un resultado válido aunque se rechace el resultado.

12. Haga clic en “Release/report data...” (Publicar/Generar informe de datos).

13. Seleccione un perfil de informe y haga clic en “OK” (Aceptar). Se generará y se guardará automáticamente el informe.

Nota: El usuario requiere derechos de aprobación para aprobar un ciclo.

14. Descargue el instrumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM y deseche los tubos en tira conforme a la normativa local en materia de seguridad.

Interpretación de los resultados con el programa Rotor-Gene AssayManager

El *artus* CT/NG QS-RGQ AssayProfile para muestras de orina establece automáticamente el umbral y contiene todas las reglas para interpretar de forma automática los resultados del ensayo. Sobre esta base, el software evaluará la validez o falta de validez de las muestras y de los controles. Este análisis automático puede proporcionar estos marcadores.

IMPORTANTE: En el canal NG se aplica un valor de corte de 40 CT que producirá un resultado “INVALID” (no válido) con un marcador “CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE” (Ct por encima del intervalo aceptado). Se debe seguir la siguiente instrucción con cuidado.

- Si NG se comunica como no válido con el marcador “CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE” (Ct por encima del intervalo aceptado), y se detecta el control interno (IC) como válido, la muestra se puede tratar como una **muestra válida sin NG**. No es necesario repetir el análisis.
- Si NG se comunica como no válido con cualquier otro marcador, será necesario analizar la muestra otra vez.
- Si CT se comunica como no válido con cualquier otro marcador, será necesario analizar la muestra otra vez.

Marcador	Comportamiento	Descripción
ASSAY_INVALID	Inválido	El ensayo se considera inválido porque, como mínimo, uno de los controles externos resulta inválido.
CT_ABOVE_ACCEPTED_RANGE	Inválido	El valor C_T detectado es mayor que el valor de corte definido para C_T . IMPORTANTE: Si NG se comunica como no válido con este marcador, la muestra se puede tratar como una muestra sin NG válida siempre y cuando el control interno (IC) sea válido.

Marcador	Comportamiento	Descripción
CT_BELOW_ACCEPTED_RANGE	Inválido	El valor C_T detectado es menor que el valor de corte definido para C_T .
CURVE_SHAPE_ANOMALY	Inválido	La curva de amplificación de los datos sin procesar tiene una forma que se desvía del comportamiento establecido en este ensayo. La probabilidad de que los resultados sean erróneos o de que no se interpreten correctamente es alta.
FLAT_BUMP	Inválido	La curva de amplificación tiene una forma parecida a una protuberancia plana, desviándose así del comportamiento establecido para este ensayo. La probabilidad de que los resultados sean erróneos o de que no se interpreten correctamente (determinación errónea del valor C_T) es alta.
FLUORESCENCE_TOO_LOW	Inválido	La señal de fluorescencia es menor que el valor de corte definido para la fluorescencia.
IC_INVALID	Inválido	El control interno no es válido. El analito y el control interno comparten el mismo tubo.
IC_NO_SIGNAL	Inválido	No se ha detectado señal del control interno. El analito y el control interno comparten el mismo tubo.
INHIBITION_BY_CT	Inválido	Se ha superado el intervalo máximo de C_T definido entre el valor C_T para el control interno de esa muestra y el valor C_T para el control interno del NTC.
INHIBITION_BY_FLUORESCENCE	Inválido	Se ha superado la diferencia máxima de fluorescencia definida entre la fluorescencia del control interno del NTC y la fluorescencia del control interno de esa muestra para el último ciclo.

Marcador	Comportamiento	Descripción
LOW_FLUORESCENCE_CHANGE	Advertencia	<p>El cambio porcentual de fluorescencia para esta muestra con respecto al tubo de muestra con el mayor cambio de fluorescencia es inferior al límite definido.</p> <p>Nota: Si se marca una muestra válida con este marcador, el responsable de la aprobación deberá prestar especial atención al hecho descrito por este marcador antes de decidir aceptar o rechazar el resultado.</p>
MULTI_THRESHOLD_CROSSING	Inválido	La curva de amplificación atraviesa más de una vez el umbral. No se puede determinar un valor inequívoco de C_T .
NO_CT_DETECTED	Inválido	No se detecta ningún C_T para esta diana.
NORM_FACTOR_ALTERATION	Advertencia	Desviación durante el procedimiento de normalización. La curva de amplificación se muestra con una normalización predeterminada; deben comprobarse manualmente los resultados para determinar si son correctos.
OTHER_TARGET_INVALID	Inválido	Otro analito para la misma muestra no es válido.
SATURATION	Inválido	La fluorescencia de los datos sin procesar se satura intensamente antes del punto de inflexión de la curva de amplificación.
SPIKE	Advertencia	<p>Se detecta una espiga en la fluorescencia de los datos sin procesar en la curva de amplificación, aunque fuera de la región donde se determina el valor C_T.</p> <p>Nota: Si se marca una muestra válida con este marcador, el responsable de la aprobación deberá prestar especial atención al hecho descrito por este marcador antes de decidir aceptar o rechazar el resultado.</p>
SPIKE_CLOSE_TO_CT	Inválido	Se ha detectado en la curva de amplificación un pico próximo al valor C_T .

Marcador	Comportamiento	Descripción
STEEP_BASELINE	Inválido	En la curva de amplificación se detecta un ascenso brusco de la línea de base de la fluorescencia de los datos sin procesar.
STRONG_BASELINE_DIP	Inválido	En la curva de amplificación se detecta un descenso fuerte de la línea de base de la fluorescencia de los datos sin procesar.
STRONG_NOISE	Inválido	Se detecta un ruido fuerte fuera de la fase de crecimiento (exponencial) de la curva de amplificación.
STRONG_NOISE_IN_GROWTH_PHASE	Inválido	Se detecta un ruido fuerte dentro de la fase de crecimiento (exponencial) de la curva de amplificación..
UNEXPECTED_CT_DETECTED	Inválido	Se ha detectado un valor C_T para un analito que no debe amplificarse.
UPSTREAM	Variable	<p>El estado de la muestra se ajustó como no válido o como dudoso debido a un proceso anterior (p. ej., configuración del ensayo en QIA Symphony).</p> <p>Nota: El comportamiento del programa Rotor-Gene AssayManager ante un marcador “unclear” (dudoso) se define en el entorno “Configuration” (Configuración).</p> <p>Rotor-Gene AssayManager invalida siempre estas muestras con un marcador “invalid” (inválido) debido a procesos anteriores.</p>
WAVY_BASE_FLUORESCENCE	Inválido	En la curva de amplificación se detecta una línea de base ondulante de la fluorescencia de los datos sin procesar.

Los resultados del program Rotor-Gene AssayManager exigen la aprobación o el rechazo del usuario con la función de usuario “Approver” (Responsable de la aprobación). Si desea más información sobre el proceso de aprobación consulte el manual del usuario del *artus Basic Plugin* del programa Rotor-Gene AssayManager (*Rotor-Gene AssayManager artus Basic Plug-in User Manual*).

PCR en tiempo real con el software 2.1 o superior del Rotor-Gene Q

Ajustes específicos del kit *artus* CT/NG QS-RGQ

Los ajustes específicos con el software 2.1 del Rotor-Gene se muestran a continuación.

Volumen de la reacción (µl)	25
Retención	Temperatura de retención: 95 °
	Tiempo de retención: 15 minutos
Ciclos	45 ciclos
	95 ° durante 11 segundos
	60 ° durante 20 segundos
	72 ° durante 20 segundos
Configuración de la optimización de ganancia automática	60 grados
	(Muestras: CT: Green [verde], NG: Orange [naranja]; IC: Yellow [amarillo])

Si desea instrucciones más detalladas, consulte la hoja de protocolo "Settings to run *artus* QS-RGQ Kits" (Ajustes del análisis con los kits *artus* QS-RGQ) en www.qiagen.com/products/artusctngqsrqkitce.

Interpretación de los resultados con el software 2.1 o superior del Rotor-Gene Q

El kit *artus* CT/NG QS-RGQ se puede procesar en el Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM instrument utilizando el análisis manual con el software 2.1 o superior del Rotor Gene Q. En esta sección se describe la interpretación de los resultados obtenidos en el RotorGene Q MDx 5plex HRM instrument. Revise asimismo la información sobre el estado de las muestras en los ficheros de resultados del QIASymphony SP/AS para el análisis del flujo de trabajo completo desde la muestra hasta el resultado. Solo se deben emplear muestras con un estado válido.

Detección de la señal y conclusiones

Señal en el canal Cycling Green	Señal en el canal Cycling Orange $\leq 40 C_t$	Señal en el canal Cycling Orange $> 40 C_t$	Señal en el canal Cycling Yellow	Interpretación
Sí	No	No	Sí/No*	Resultado válido: ADN de CT detectado, ADN de NG no detectado
Sí	No	Sí	Sí/No*	Resultado válido: ADN de CT detectado, ADN de NG no detectado
No	Sí	No	Sí/No*	Resultado válido: ADN de CT no detectado, ADN de NG detectado
Sí	Sí	No	Sí/No*	Resultado válido: ADN de CT y NG detectado
No	No	Sí	Sí	Resultado válido: ningún ADN de CT o NG detectado [†]
No	No	No	Sí	Resultado válido: ningún ADN de CT o NG detectado [†]
No	No	Sí	No	Resultado no válido: No puede obtenerse un resultado [‡]
No	No	No	No	Resultado no válido: No puede obtenerse un resultado [‡]

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

† Si el valor C_t para el control interno de una muestra negativa supera en más de 5 ciclos el valor C_t del control interno para el control sin molde en el ciclo ($C_{TIC\ Muestra} - C_{TIC\ NTC} > 5$), la muestra se deberá tratar como no válida. No puede obtenerse un resultado.

‡ En el apartado "Troubleshooting guide" (Guía para la resolución de problemas) del manual del kit *artus CT/NG QS-RGQ* (*artus CT/NG QS-RGQ Kit Handbook*).

Configuración del umbral para el análisis de PCR

Los ajustes recomendados del umbral para el análisis *artus CT/NG* se indican en la siguiente tabla.

Ajustes recomendados del umbral

Canal de fluorescencia	Ajuste del umbral
Cycling Green	0,07
Cycling Orange	0,10
Cycling Yellow	0,03

Ejemplos de reacciones positivas y negativas de PCR

El kit *artus* CT/NG QS-RGQ contiene 2 controles para vigilar el procedimiento de extracción y la PCR: el control CT+/NG- de CT/NG y el control NG+/CT- de CT/NG. Estos controles se cargan en el QIA Symphony SP/AS y se tratan igual que las demás muestras. El control interno (CT/NG RG IC) se añade a la muestra durante el proceso de extracción del ADN y está presente en todas las muestras y en el NTC.

Los controles se usan en el proceso de configuración de la PCR y deben dar resultados específicos en la PCR, similares a los que se ilustran en las siguientes figuras.

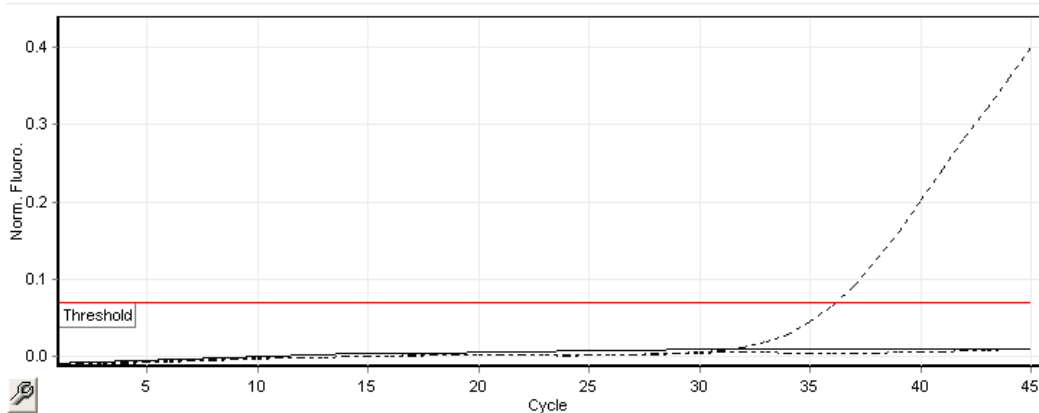


Figura 1. Cycling Green: Control positivo de CT. Resultados de un ciclo con el control CT+/NG- de CT/NG.

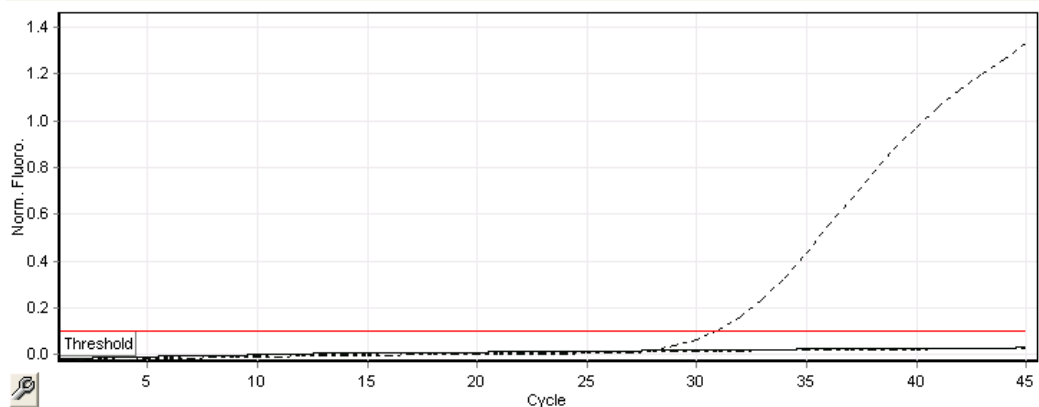


Figura 2. Cycling Orange: Control negativo de NG. Resultados de un ciclo con el control NG+/CT- de CT/NG.

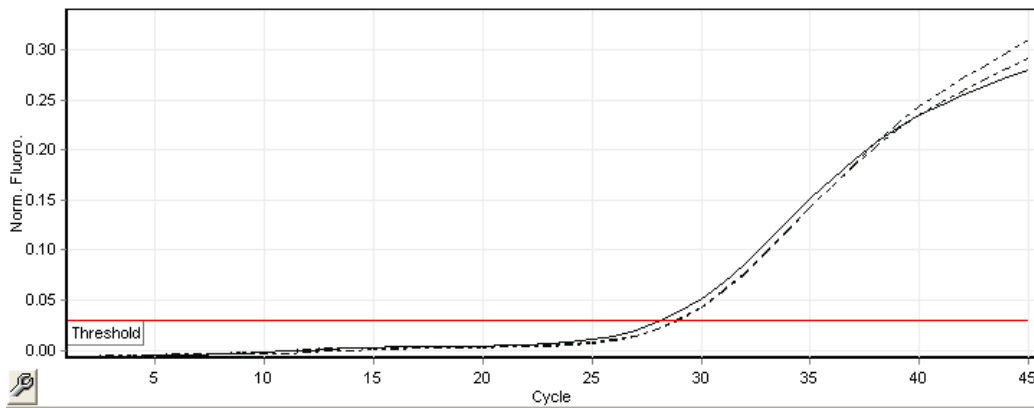


Figura 3. Cycling Yellow: control interno. Resultados de un ciclo con el CT/NG RG IC.

Los valores C_T esperados para los controles de un experimento satisfactorio y válido de PCR se muestran en la siguiente tabla.

Valores C_T esperados

Control/muestra	Intervalo C_T (mínimo – máximo)		
	Cycling Green	Cycling Yellow	Cycling Orange
Control CT+/NG-	28,99-37,94	$\leq 33,44$	-
Control NG+/CT-	-	$\leq 33,44$	27,22-35,08
NTC	-	$\leq 33,44$	-
Muestra de paciente	Cualquiera	\leq valor C_T de NTC en el ciclo actual + 5 C_T	Cualquiera

Si falla la señal de uno de los controles o del IC correspondiente, hay que calificar el ciclo como inválido.

Limitaciones

Se realizó un estudio para evaluar el rendimiento del kit *artus CT/NG QS-RGQ* con muestras que contenían una concentración elevada de CT o NG en presencia de otro patógeno con un reducido número de copias. Los resultados se ilustran en la tabla siguiente.

Rendimiento del kit *artus CT/NG QS-RGQ* con concentraciones diferentes del ADN diana

Patógeno A	Patógeno B	Tasa de resultados positivos del patógeno B (%)
1,00 x 10 ⁶ ufc/ml de <i>N. gonorrhoeae</i>	23 CE/ml de <i>C. trachomatis</i>	100
1,00 x 10 ⁵ CE/ml de <i>C. trachomatis</i>	58,5 ufc/ml de <i>N. gonorrhoeae</i>	100

Nota: Las concentraciones más bajas del "patógeno B" pueden dar tasas menores de resultados positivos.

Si desea obtener información actualizada sobre la licencia y las exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual del usuario o el manual 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 a los servicios técnicos de QIAGEN o a su distribuidor local.

Marcas comerciales: QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN Group); BD™ (Becton, Dickinson and Company); eNaT™ (Copan Italia Spa).

Acuerdo de licencia limitada para el kit *artus* CT/NG QS-RGQ

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

1. El producto debe utilizarse exclusivamente de acuerdo con los protocolos proporcionados con el producto y este manual de uso, así como con los componentes contenidos en el kit. QIAGEN no ofrece licencia alguna bajo ninguna de sus propiedades intelectuales para utilizar o incorporar los componentes suministrados en estos kits con componentes no incluidos en los mismos, excepto según se describe en los protocolos proporcionados con el producto, este manual de uso y otros protocolos disponibles en www.qiagen.com. Algunos de estos protocolos adicionales han sido proporcionados por usuarios de QIAGEN para otros usuarios. QIAGEN no ha probado ni optimizado estos protocolos en profundidad. Por ello, QIAGEN no los garantiza ni asegura que no infrinjan los derechos de terceros.
2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, QIAGEN no garantiza que estos kits ni su uso no infrinjan los derechos de terceros.
3. Este kit y sus componentes tienen licencia para un solo uso y no se pueden reutilizar, reacondicionar ni revender.
4. QIAGEN renuncia específicamente a cualquier otra licencia, explícita o implícita, distinta de las licencias expresamente especificadas.
5. El comprador y el usuario de los kits 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 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.

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 otra licencia de ningún tipo que sea distinta de este derecho específico de uso derivado de la compra.

HB-1517-S02-003 07-2017

© 2017 QIAGEN, Reservados todos los derechos.

