

Junio de 2023

# Instrucciones de uso de QIAscreen<sup>®</sup> HPV PCR Test (Manual de uso)



Versión 1



Para uso diagnóstico in vitro

Para uso con el equipo Rotor-Gene<sup>®</sup> Q MDx



617005



Self-screen B.V., Plesmanlaan 125, 1066 CX Amsterdam, Países Bajos



1132289ES

# Contenido

Uso previsto .....	4
Resumen y explicación .....	5
Principio del procedimiento .....	6
Materiales suministrados .....	7
Materiales requeridos pero no suministrados .....	8
Consumibles, reactivos e instrumentos para la preparación de las muestras .....	8
Consumibles para el equipo Rotor-Gene Q MDx .....	8
Equipo .....	8
Equipo para extracción y real-time PCR .....	9
Advertencias y precauciones.....	10
Información de seguridad.....	10
Precauciones generales.....	10
Almacenamiento y manipulación de los reactivos .....	12
Manipulación y almacenamiento de material de muestra .....	13
Preparación de las muestras .....	15
Protocolo: QIAscreen HPV PCR Test en el equipo Rotor-Gene Q MDx.....	18
PCR en equipos Rotor-Gene Q MDx con rotor de 72 tubos .....	21
Interpretación de los resultados .....	24
Limitaciones .....	26
Características de rendimiento .....	28
Límite de detección (Limit of Detection, LoD).....	28
Especificidad analítica .....	29

Rendimiento clínico en materiales de muestra cervicouterinos (raspados) .....	29
Reproducibilidad* .....	30
Rendimiento de materiales de muestra (cervico-)vaginales recogidos por la propia paciente .....	30
Sustancias interferentes* .....	30
Referencias .....	31
Guía para la resolución de problemas .....	33
Símbolos .....	35
Información de contacto .....	37
Información para pedidos .....	38
Historial de revisiones del documento .....	40

# Uso previsto

La QIAscreen HPV PCR Test es un ensayo in vitro basado en real-time PCR para la detección cualitativa de ADN del virus del papiloma humano (VPH) de los siguientes 15 (posibles) genotipos de VPH de alto riesgo, es decir, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 y 68.

Las muestras que pueden analizarse con la QIAscreen HPV PCR Test incluyen ADN aislado de materiales de muestra que se recogen de las siguientes formas:

- Materiales de muestra cervicouterinos recogidos mediante un dispositivo de recogida de tipo escobillón o cepillo (recogidas por el médico)
- Materiales de muestra vaginales recogidos mediante un dispositivo de tipo escobillón-cepillo o de lavado (recogidas por la propia paciente)

## Indicaciones de uso:

- Como prueba primaria en la evaluación de mujeres en riesgo de contraer (pre)cáncer cervicouterino para determinar la necesidad de solicitar una colposcopia u otros procedimientos de seguimiento
- Como prueba de seguimiento para mujeres con resultados de la prueba de Papanicolaou con células escamosas atípicas con significancia indeterminada (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) o neoplasia intraepitelial escamosa de bajo grado (low-grade squamous intra-epithelial neoplasia, LSIL) para determinar la necesidad de solicitar una colposcopia u otros procedimientos de seguimiento

Este producto está destinado a profesionales, técnicos y técnicos de laboratorio expertos en los procedimientos de diagnóstico in vitro, en técnicas de biología molecular y en el Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System.

# Resumen y explicación

Los virus del papiloma humano (VPH) son pequeños virus de ADN bicatenario que pertenecen a la familia Papillomaviridae. El genoma circular tiene un tamaño aproximado de 7,9 kilobases. Se han identificado más de 100 tipos de VPH, de los cuales determinados tipos conocidos como VPH de alto riesgo (VPH-AR), como VPH 16 y 18, están asociados con la inducción de lesiones de las mucosas que pueden evolucionar a neoplasia maligna. El cáncer cervicouterino y sus lesiones precursoras (neoplasia intraepitelial cervical, NIC) son las complicaciones más frecuentes de una infección recurrente con un tipo de VPH de alto riesgo<sup>(1-3)</sup>.

El genoma vírico contiene genes tempranos (early, E) y tardíos (late, L) que codifican las proteínas necesarias para las etapas tempranas y tardías del ciclo de vida del VPH, respectivamente. Los productos genéticos E6 y E7 de los tipos de VPH-AR tienen propiedades cancerígenas y son necesarios para la transformación a neoplasias malignas de la célula huésped<sup>(4)</sup>. La evolución a una neoplasia maligna a menudo está asociada con la integración vírica en un genoma de la célula huésped<sup>(5)</sup>. La integración provoca la interrupción del genoma vírico en una región que puede extenderse desde el marco de lectura abierto E1 al L1<sup>(6)</sup>. Esto puede tener consecuencias en la amplificación mediada por PCR del ADN vírico en estas regiones. Dado que no solo la iniciación sino también el mantenimiento del fenotipo transformado depende de la expresión continua de las oncoproteínas víricas<sup>(7, 8)</sup>, la región E6/E7 vírica se conserva invariablemente en genomas víricos integrados en cánceres cervicouterinos<sup>(6)</sup>. La QIAscreen HPV PCR Test está dirigida a una región conservada dentro del gen E7. El ensayo se ha validado clínicamente de acuerdo con las directrices internacionales para los ensayos de detección de VPH y en otros estudios<sup>(9, 10, 14, 15)</sup>.

# Principio del procedimiento

La QIAscreen HPV PCR Test es un ensayo múltiple, basado en real-time PCR e indicado contra el gen E7 de 15 (probables) tipos de VPH-AR, que usa sondas fluorescentes para la detección de uno o más productos de PCR acumulados. Durante cada ciclo PCR, la señal fluorescente aumenta de forma logarítmica, lo que genera una curva de amplificación. En cuanto la curva de amplificación del analito supera su umbral, se considera que la muestra es positiva para ese analito. El formato múltiple permite la detección simultánea de cuatro colorantes fluorescentes diferentes por reacción, donde cada colorante fluorescente representa diferentes analitos. Los cuatro analitos diferentes son: **1.** VPH 16, **2.** VPH 18, **3.** los otros 13 tipos de VPH-AR como grupo y **4.** el gen de  $\beta$ -globina humana. La QIAscreen HPV PCR Test detecta por separado VPH 16, VPH 18 y el grupo de los otros 13 genotipos de VPH-AR. El gen de  $\beta$ -globina humana se usa como control de muestra al determinar la calidad del ADN de muestra y la presencia de sustancias potencialmente inhibitoras.

# Materiales suministrados

## Contenido del kit

<b>QIAscreen HPV PCR Test Kit</b>		<b>72 reacciones</b>
<b>N.º de catálogo</b>		<b>617005</b>
QIAscreen Master Mix (1 tubo)	Color transparente	1080 µl
QIAscreen Positive Control (Control positivo QIAscreen) (1 tubo)	Color transparente	100 µl
QIAscreen Negative Control (Control negativo QIAscreen) (1 tubo)	Color transparente	100 µl
<i>Instrucciones de uso de la QIAscreen HPV PCR Test (Manual)</i>		1

## Materiales requeridos pero no suministrados

Cuando trabaje con productos químicos, use siempre una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección adecuados. Para obtener más información, consulte las hojas de datos sobre seguridad (Safety Data Sheets, SDS) correspondientes, que puede solicitar al proveedor del producto.

### Consumibles, reactivos e instrumentos para la preparación de las muestras

- Hologic PreservCyt® Solution (para el almacenamiento de muestras recogidas por la propia paciente)
- Kits de extracción de ADN estándar, como QIAamp® DSP Virus Spin Kit (QIAGEN, n.º de cat. 61704) y QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit (QIAGEN, n.º de cat. 937055) y NucleoMag 96 Tissue kit (Macherey-Nagel, n.º de cat. 744300)
- PBS para la manipulación de material de muestras cervicouterinas en medio de recogida PreservCyt
- AL Buffer (QIAGEN, n.º de cat. 19075) para el pretratamiento del material de muestras cervicouterinas recogidas en medio de recogida SurePath y CellSolutions

### Consumibles para el equipo Rotor-Gene Q MDx

- 0,1 ml Strip Tubes and Caps, para uso con 72-well rotor (QIAGEN, n.º de cat. 981103 o n.º de cat. 981106)

### Equipo

- Pipetas exclusivas\* (ajustables) para PCR (1-10 µL; 10-100 µL)
- Exclusivas puntas de pipeta estériles sin ADNasa con filtro
- Guantes desechables

\* Compruebe que los equipos se han revisado y calibrado según las recomendaciones del fabricante.

- Centrífuga de mesa\*
- Agitador vórtex\*

## Equipo para extracción y real-time PCR

- Módulo QIASymphony SP (n.º de cat. 9001297) (para la automatización opcional de la extracción)
- Rotor-Gene Q 5plex HRM System (n.º de cat. 9002033) o equipo Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (n.º de cat. 9002032) con software Rotor-Gene Q, versión 2.3.1 o superior\*
- Plantilla de serie QIAScreen para Rotor-Gene Q. La plantilla se llama "**QIAScreen RGQ profile v1.0.ret**".
- Plantillas de análisis de canal QIAScreen para los canales verde (VPH 16), amarillo (VPH otros), naranja ( $\beta$ -globina) y rojo (VPH 18). Las plantillas tienen una extensión de archivo ".qut".

\* Si corresponde, equipo Rotor-Gene Q 5plex HRM con una fecha de producción de enero de 2010 o posterior. La fecha de producción se puede obtener del número de serie situado en la parte posterior del equipo. El número de serie tiene el formato "mmaann", donde "mm" indica el mes de fabricación en dígitos, "aa" indica los dos últimos dígitos del año de fabricación y "nnn" indica el número de identificación exclusivo del instrumento.

# Advertencias y precauciones

## 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. Puede obtenerlas en línea en el práctico y compacto formato PDF en [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), desde donde también podrá buscar, ver e imprimir las SDS de todos los kits y componentes de los kits de QIAGEN.

- Los controles positivo y negativo de la QIAscreen HPV PCR Test contienen azida sódica como conservante (0,01 %). La azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo o cobre y formar azidas metálicas explosivas. Al desecharla por el fregadero, vierta abundante agua fría para evitar que se acumule azida.

## Precauciones generales

El uso de pruebas de PCR exige la adopción de buenas prácticas de laboratorio, como el correcto mantenimiento del equipo, que cumplan los reglamentos vigentes y las normas aplicables específicas para laboratorios de biología molecular.

Respete siempre las siguientes instrucciones:

- Use guantes protectores desechables sin talco, una bata de laboratorio y protección para los ojos cuando manipule material de muestras.
- Evite la contaminación microbiana y con nucleasas (ADNasa) del material de la muestra y el kit. La ADNasa puede causar la degradación del molde de ADN.
- Evite la contaminación por arrastre de ADN o de productos de la PCR, ya que podría generar una señal positiva falsa.
- Use siempre puntas de pipeta desechables sin ADNasa resistentes a aerosoles.

- Los reactivos de la QIAscreen HPV PCR Test presentan una dilución óptima. No debe realizarse una mayor dilución de los reactivos puesto que podrían perder eficacia.
- Todos los reactivos suministrados con la QIAscreen HPV PCR Test se suministran para su uso exclusivo con otros reactivos del mismo kit. No sustituya ningún reactivo de un kit por el mismo reactivo de otro QIAscreen HPV PCR Test Kit, ni siquiera del mismo lote, ya que el rendimiento podría verse afectado.
- Consulte el manual del usuario del equipo Rotor-Gene Q MDx para conocer las advertencias, las precauciones y los procedimientos adicionales.
- Antes de la primera serie del día, realice una serie de calentamiento del Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM a 95 °C durante 10 minutos.
- Un cambio en los tiempos y las temperaturas de incubación puede causar resultados erróneos o dispares.
- No use componentes del kit cuya fecha de caducidad haya pasado o que se hayan almacenado incorrectamente.
- Reduzca al máximo la exposición de los componentes a la luz: las mezclas de reacciones pueden alterarse debido a la exposición.
- Extreme la precaución para evitar la contaminación de las mezclas con los materiales sintéticos contenidos en los reactivos de PCR.
- Deseche los residuos de muestras y ensayos conforme a los procedimientos de seguridad local.

# Almacenamiento y manipulación de los reactivos

## Condiciones de envío

La QIAscreen HPV PCR Test se suministra en hielo seco. Si alguno de los componentes de la QIAscreen HPV PCR Test no está congelado a la llegada, si el embalaje externo se ha abierto durante el transporte o si el envío no incluye la nota de embalaje, el manual o los reactivos, póngase en contacto con los departamentos del servicio técnico de QIAGEN (visite [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Condiciones de almacenamiento

La QIAscreen HPV PCR Test debe almacenarse inmediatamente en un congelador a una temperatura constante de  $-30$  a  $-15$  °C tras su recepción y protegerla de la luz.

## Estabilidad

Si se almacena en las condiciones especificadas, la QIAscreen HPV PCR Test se mantiene estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja.

Una vez abiertos, los reactivos deben almacenarse en el embalaje original a una temperatura comprendida entre  $-30$  °C y  $-15$  °C. Se debe evitar la descongelación y la congelación repetidas. No exceda el máximo de 5 ciclos de congelación-descongelación.

- Mezcle cuidadosamente invirtiendo el tubo 10 veces y centrifugue todos los tubos antes de abrirlos.
- Las fechas de caducidad de cada reactivo figuran en las etiquetas de cada componente. En las condiciones de almacenamiento adecuadas, el producto mantendrá su rendimiento durante el período de estabilidad siempre que se utilicen los mismos lotes de componentes.
- Los procedimientos de control de calidad de QIAGEN emplean pruebas funcionales de liberación de kit para cada lote de kit individual. No se deben mezclar reactivos de distintos kits, ni siquiera si pertenecen al mismo lote.

Debe prestar especial atención a las fechas de caducidad y condiciones de almacenamiento impresas en las cajas y etiquetas de todos los componentes. No utilice componentes caducados o mal almacenados.

# Manipulación y almacenamiento de material de muestra

<p><b>PRECAUCIÓN</b></p> 	<p>Todos los material de muestra deben tratarse como material potencialmente infeccioso.</p>
--	--

## Material de muestras cervicouterinas

La QIAscreen HPV PCR Test está diseñada para su uso con muestras de ADN genómico obtenidas de materiales de muestra cervicouterinos (raspados). Los medios de recogida validados para materiales de muestra cervicouterinos (raspados) son los medios de recogida PreservCyt, CellSolutions®, Pathtezt® y Surepath®. La temperatura óptima de almacenamiento de las muestras clínicas es 2-8 °C tras su recepción en el laboratorio. En las condiciones de almacenamiento especificadas, las muestras en el medio de recogida PreservCyt permanecen estables durante 3 meses y en un medio de recogida Surepath permanecen estables durante 2 semanas antes de la extracción de ADN.

Las muestras cervicouterinas obtenidas en PreservCyt pueden conservarse hasta 210 días tras la recogida de las muestras a 18-25 °C, hasta dos años y medio a 2-8 °C y hasta 2 años a <20 °C. Las muestras cervicouterinas recogidas en Surepath pueden conservarse hasta 10 semanas después de su recogida a 2-30 °C, hasta dos años y medio a 2-8 °C, y hasta 210 días a <20 °C.

## Material de muestras de cepillado vaginal recogidas por la propia paciente

La QIAscreen HPV PCR Test está diseñada para su uso con muestras de ADN genómico extraídas de cepillados vaginales y materiales de muestra de lavado cervicovaginal recogidos por la propia paciente. Los materiales de muestra de cepillado vaginal recogidos por la propia paciente pueden recogerse y enviarse en seco o en solución salina (0,9 % p/v NaCl) y, al llegar al laboratorio, se conservan en PreservCyt. Los materiales de muestra de lavado cervicovaginal recogidos por la propia paciente se recogen y se envían en solución salina (0,9 % p/v NaCl) y, al llegar al laboratorio, se conservan en PreservCyt. Las muestras recogidas por la propia paciente en PreservCyt pueden conservarse hasta 210 días después de su recogida a 18-25 °C, hasta dos años y medio a 2-8 °C, y hasta 2 años a <20 °C.

## Muestras de ADN genómico

Una vez que se extrae el ADN genómico, se puede almacenar a 2-8 °C para un almacenamiento a corto plazo ( $\leq 2$  días) o a una temperatura de -30 °C a -15 °C durante un período máximo de 12 meses.

# Preparación de las muestras

## Extracción de ADN

Los kits de extracción de ADN estándar (p. ej., kits basados en columnas y microesferas magnéticas, como QIAamp® DSP Virus Spin Kit, QIAasymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit y NucleoMag 96 Tissue Kit, (Macherey-Nagel) son compatibles con este ensayo. Los detalles sobre el funcionamiento de QIAasymphony® DSP Virus/Pathogen Midi se indican a continuación.

## Muestras clínicas en medio de recogida PreservCyt o PathTezt

Para los materiales de muestras cervicouterinas (raspados) suspendidos en medio de recogida PreservCyt o PathTezt, la fracción de ADN que se utilizará como entrada en la PCR representa el 0,125 % de los 20 ml de la muestra de raspado cervicouterino PreservCyt o PathTezt, lo que corresponde a 25 µl de los tipos de muestra originales. Dado que como máximo solo se pueden utilizar 5 µl del ADN extraído como entrada en la PCR, los procedimientos de extracción de ADN deben realizarse de modo que la extracción de 5 µl de ADN coincida con los 25 µl del material de muestra cervicouterino (raspado) para garantizar que en la PCR se use la fracción correcta de la muestra cervicouterina. Los medios equivalentes con (p. ej., Surepath) o sin (p. ej., PreservCyt) formaldehído deben procesarse del mismo modo.

**Importante:** El medio PreservCyt puede interferir con el proceso de extracción de ADN. Este problema se puede evitar de dos maneras diferentes.

1. Diluya la alícuota de la muestra en PreservCyt en un volumen igual de PBS o tampón de lisis del kit de extracción del ADN y mezcle, antes de comenzar la extracción del ADN. Asegúrese de que el volumen total de la muestra es compatible con el kit de extracción del ADN. Si el volumen total resulta ser demasiado elevado para el kit de extracción, se recomienda utilizar el método 2, que se describe a continuación.

2. Centrifugue la muestra en PreservCyt ( $\geq 3400 \times g$  durante 10 minutos) y elimine el sobrenadante. El sedimento vuelve a ponerse en suspensión en un volumen adecuado de PBS o tampón de lisis que sea compatible con el kit de extracción del ADN (para el QIAamp DSP Virus Spin Kit: vuelva a ponerlo en suspensión en 200  $\mu$ l de PBS y siga las instrucciones del fabricante para la extracción del ADN, eluya en 100  $\mu$ l; para el Margery Nagel Nucleomag96 Tissue Kit: vuelva a ponerlo en suspensión en 100  $\mu$ l de tampón T1 de dicho kit y siga las instrucciones del fabricante, eluya en 100  $\mu$ l)

Los medios equivalentes deben procesarse del mismo modo.

### Detalles de funcionamiento de QIAAsymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit

Protocolo QSDSP: 500  $\mu$ l de muestra cervicouterina en PreservCyt se mezcla con 500  $\mu$ l de PBS. Se inicia una serie integrada que lleve a cabo el protocolo Complex800\_V6\_DSP en el QIAAsymphony siguiendo los pasos descritos en "QIAAsymphony® SP/AS Consolidated Operating Guide – 12.3 Integrated run". El ADN se eluye en 60  $\mu$ l y 5  $\mu$ l se utilizan para el QIAscreen HPV PCR Test. Si solo utiliza el módulo QIAAsymphony SP, se lleva a cabo una serie de preparación de la muestra mediante el protocolo Complex800\_V6\_DSP con el instrumento QIAAsymphony SP. Siga los pasos descritos en las "Instrucciones de uso del QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit (manual de uso): Protocolo general de purificación".

Para los materiales de muestras cervicouterinas (raspados) suspendidos en medio de recogida SurePath o CellSolutions, la fracción de ADN que se utilizará como entrada en la PCR representa el 0,25 % de los 10 ml de la muestra de raspado cervicouterino SurePath o CellSolutions, lo que corresponde a 25  $\mu$ l de la muestra original. Dado que como máximo solo se pueden utilizar 5  $\mu$ l del ADN extraído como entrada en la PCR, el volumen de muestra y el volumen de elución de ADN deben seleccionarse de modo que la extracción de 5  $\mu$ l de ADN coincida con los 25  $\mu$ l del material de muestra cervicouterino (raspado) para garantizar que en la PCR se use la fracción correcta de la muestra cervicouterina.

**IMPORTANTE:** Las muestras clínica recogidas en los medios SurePath y CellSolutions deben pretratarse antes de utilizarlos para evitar la reticulación inducida por el formaldehído utilizando el protocolo que se describe a continuación.

## Pretratamiento de muestras clínicas recogidas en los medios SurePath y CellSolutions:

1. Mezcle la muestra en SurePath o CellSolutions con un volumen 1:1 de tampón AL (QIAGEN) y mezcle bien.
2. Incube a 90 °C durante 20 minutos y luego equilibre a temperatura ambiente antes de continuar con la extracción del ADN.

Los medios equivalentes que contengan formaldehído deben procesarse del mismo modo.

En el caso de los materiales de muestra de cepillado vaginal recogidos por la propia paciente suspendidos en Hologic PreservCyt Solution, los procedimientos de extracción de ADN deben realizarse de modo que la extracción de 5 µl de ADN que se usa como entrada en la PCR represente el 0,5 % de la muestra vaginal. Por ejemplo, la muestra vaginal recogida por la propia paciente se suspenderá en 2 ml de PreservCyt Solution, entonces los 5 µl de ADN introducido corresponden a los 10 µl de la suspensión de la muestra recogida por la propia paciente.

En el caso de los materiales de muestra de lavado cervicovaginal recogidos por la propia paciente, la fracción de ADN que se utilizará como entrada en la PCR representa el 0,5 % de la muestra de lavado recogida por la propia paciente. Por lo tanto, en caso de que el volumen total de lavado sea 3 ml, los procedimientos de extracción de ADN deben realizarse de modo que los 5 µl de ADN introducido coincidan con los 15 µl de la muestra de lavado original recogida por la propia paciente.

# Protocolo: QIAscreen HPV PCR Test en el equipo Rotor-Gene Q MDx

## Cuestiones importantes antes de comenzar

Tómese su tiempo para familiarizarse con el equipo Rotor-Gene Q MDx antes de iniciar el protocolo. Lea el manual del usuario del equipo.

Antes de la primera serie del día, realice una serie de calentamiento del Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM a 95 °C durante 10 minutos.

Para realizar la prueba se necesita una plantilla del software Rotor-Gene Q series. Asegúrese de usar la plantilla QIAscreen RGQ profile v1.0.ret.

Para analizar la prueba para cada uno de los cuatro canales de detección, se requiere una plantilla del software Rotor-Gene Q. Asegúrese de que se utilice la plantilla correcta para cada canal, como se indica a continuación:

- Se debe utilizar "QIAscreen RGQ Green Channel analysis template.qut" para el análisis de las señales en el canal verde (VPH 16).
- Se debe utilizar "QIAscreen RGQ Orange Channel analysis template.qut" para el análisis de las señales en el canal naranja ( $\beta$ -globina).
- Se debe utilizar "QIAscreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut" para el análisis de las señales en el canal amarillo (VPH, otro).
- Se debe utilizar "QIAscreen RGQ Red Channel analysis template.qut" para el análisis de las señales en el canal rojo (VPH 18).

## Procesamiento de muestras en equipos Rotor-Gene Q MDx con rotor de 72 tubos

Se pueden analizar hasta 70 muestras de ADN genómico dentro del mismo experimento, además de un control positivo y un control negativo. El esquema que se muestra en la tabla 1 proporciona un ejemplo de la configuración del bloque de carga o el rotor para un experimento con la QIAscreen HPV PCR Test. Los números indican la posición en el bloque de carga y la posición final del rotor.

**Tabla 1. Configuración de la placa y el rotor para un experimento con la QIAscreen HPV PCR Test en el equipo Rotor-Gene Q MDx**

Tira	Posición del tubo	Nombre de la muestra	Tira	Posición del tubo	Nombre de la muestra	Tira	Posición del tubo	Nombre de la muestra
<b>1</b>	1	Control positivo	<b>7</b>	25	Muestra 23	<b>13</b>	49	Muestra 47
	2	Control negativo		26	Muestra 24		50	Muestra 48
	3	Muestra 1		27	Muestra 25		51	Muestra 49
	4	Muestra 2		28	Muestra 26		52	Muestra 50
<b>2</b>	5	Muestra 3	<b>8</b>	29	Muestra 27	<b>14</b>	53	Muestra 51
	6	Muestra 4		30	Muestra 28		54	Muestra 52
	7	Muestra 5		31	Muestra 29		55	Muestra 53
	8	Muestra 6		32	Muestra 30		56	Muestra 54
<b>3</b>	9	Muestra 7	<b>9</b>	33	Muestra 31	<b>15</b>	57	Muestra 55
	10	Muestra 8		34	Muestra 32		58	Muestra 56
	11	Muestra 9		35	Muestra 33		59	Muestra 57
	12	Muestra 10		36	Muestra 34		60	Muestra 58
<b>4</b>	13	Muestra 11	<b>10</b>	37	Muestra 35	<b>16</b>	61	Muestra 59
	14	Muestra 12		38	Muestra 36		62	Muestra 60
	15	Muestra 13		39	Muestra 37		63	Muestra 61
	16	Muestra 14		40	Muestra 38		64	Muestra 62
<b>5</b>	17	Muestra 15	<b>11</b>	41	Muestra 39	<b>17</b>	65	Muestra 63
	18	Muestra 16		42	Muestra 40		66	Muestra 64
	19	Muestra 17		43	Muestra 41		67	Muestra 65
	20	Muestra 18		44	Muestra 42		68	Muestra 66
<b>6</b>	21	Muestra 19	<b>12</b>	45	Muestra 43	<b>19</b>	69	Muestra 67
	22	Muestra 20		46	Muestra 44		70	Muestra 68
	23	Muestra 21		47	Muestra 45		71	Muestra 69
	24	Muestra 22		48	Muestra 46		72	Muestra 70

Nota: Coloque tubos vacíos en todas las posiciones no utilizadas.

## PCR en equipos Rotor-Gene Q MDx con rotor de 72 tubos

### 1. Configure la QIAscreen HPV PCR Test.

**Nota:** Para reducir al máximo el riesgo de contaminación de las reacciones de PCR, se recomienda encarecidamente usar una cabina para PCR con capacidad de irradiación ultravioleta.

**Importante:** La dispensación de la QIAscreen Master Mix debe realizarse en un área separada de aquella en la cual se realiza la extracción de ADN.

1a. Limpie la superficie de la mesa, las pipetas y la gradilla de tubos antes de usarlos con una solución degradante de ADN para evitar la contaminación de moldes o nucleasas.

**Nota:** Cambie las puntas para cada tubo con el fin de evitar la contaminación no específica de moldes o mezclas de reacción, lo que puede arrojar resultados falsos positivos.

1b. Mezcle suavemente invirtiendo 10 veces y centrifugue brevemente antes de su uso para recoger la solución que se deposita en el fondo del tubo.

1c. Coloque 15 µl de la QIAscreen Master Mix en los tubos adecuados de las tiras de tubos (como máximo 72 tubos por análisis de Rotor-Gene Q MDx). La configuración de la reacción puede realizarse a temperatura ambiente.

1d. Devuelva la QIAscreen Master Mix al congelador para evitar que el material se degrade. Lleve los tubos a una zona separada para dispensar el QIAscreen Positive Control y el ADN de la muestra.

1e. Añada 5 µl del control negativo a la posición 2 del tubo, mezcle mediante pipeteo ascendente y descendente o sacudiendo el tubo y cierre el tubo presionando el tapón sobre el tubo.

1f. Añada 5 µl del QIAscreen Positive Control a la posición 1 del tubo, mezcle mediante pipeteo ascendente y descendente o sacudiendo el tubo y ciérrelo.

**Nota:** Cambie las puntas para cada tubo con el fin de evitar la contaminación no específica de moldes o mezclas de reacción, lo que puede arrojar resultados falsos positivos.

- 1g. Añada 5 µl del ADN de la muestra a los tubos adecuados que contienen la QIAscreen Master Mix, mezcle mediante pipeteo ascendente y descendente o sacudiendo los tubos y ciérrelos presionando los tapones sobre los tubos.
  - 1h. Coloque el tapón en los tubos después de haber llenado 4 de ellos.  
**Nota:** Los tubos de PCR pueden almacenarse durante 30 minutos entre el pipeteo de las muestras en los tubos de PCR y el inicio del experimento en la máquina a 2-8 °C en la oscuridad.
2. Prepare el equipo Rotor-Gene Q MDx e inicie el experimento tal como se indica a continuación:
- Importante:** Antes de la primera serie del día, realice una serie de calentamiento del Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM a 95 °C durante 10 minutos.
- 2a. Coloque un rotor de 72 pocillos en el soporte del rotor.
  - 2b. Rellene el rotor con tubos de tiras según las posiciones asignadas, empezando por la posición 1, tal como se indica en la tabla 1, con tubos de tiras tapados vacíos colocados en todas las posiciones que no se utilizan.  
**Nota:** Asegúrese de insertar el primer tubo en la posición 1 y de que los tubos de tiras estén colocados en la orientación y posición correcta tal y como se indica en la tabla 1.
  - 2c. Coloque el anillo de bloqueo.
  - 2d. Cargue el equipo Rotor-Gene Q MDx con el rotor y el anillo de bloqueo y cierre la tapa del equipo.
  - 2e. Vaya a la ventana New Run (Nueva serie) y haga clic en Open a template in another folder... (Abrir una plantilla en otra carpeta...).
  - 2f. Seleccione la QIAscreen run template (Plantilla de serie QIAscreen) denominada QIAscreen RGQ profile v1.0.ref.
  - 2g. Seleccione Rotor type (Tipo de rotor): 72-well rotor (rotor de 72 pocillos) y Locking ring attached (anillo de fijación sujeto) y haga clic en Next (Siguiendo).
  - 2h. Introduzca las iniciales en operator (operador) y haga clic en Next (Siguiendo).
  - 2i. En la ventana siguiente, haga clic en Next (Siguiendo).
  - 2j. Haga clic en Start run (Iniciar serie).  
Para introducir los nombres de las muestras, haga clic en Edit Samples (Editar muestras). Esto también se puede hacer después de que se complete la serie.

**Tabla 2. Configuración de analitos y canales\***

Diana	Canal de detección
$\beta$ -globina	Orange
VPH 16	Green
VPH 18	Red
VPH otros*	Yellow

\* VPH otros incluye el grupo de 13 tipos de VPH, excepto 16/18.

### 3. Analice los datos.

- 3a. Seleccione los tubos que se usarán en el análisis.
  - 3b. Vaya a la ventana Analysis tool (Herramienta de análisis), seleccione Cycling A. Green y haga clic en Show (Mostrar). Haga clic en Import (Importar) en Imported Settings (Ajustes importados) (parte inferior derecha de la ventana) y seleccione el archivo QIAScreen RGQ Green Channel analysis template.qut. Seleccione Cycling A. Green y haga clic en Hide (Ocultar).
  - 3c. Seleccione Cycling A. Orange y haga clic en Show (Mostrar). Haga clic en Import (Importar) en Imported Settings (Ajustes importados) y seleccione el archivo QIAScreen RGQ Orange Channel analysis template.qut. Seleccione Cycling A. Orange y haga clic en Hide (Ocultar).
  - 3d. Seleccione Cycling A. Red y haga clic en Show (Mostrar). Haga clic en Import (Importar) en Imported Settings (Ajustes importados) y seleccione el archivo QIAScreen RGQ Red Channel analysis template.qut. Seleccione Cycling A. Red y haga clic en Hide (Ocultar).
  - 3e. Seleccione Cycling A. Yellow y haga clic en Show (Mostrar). Haga clic en Import (Importar) en Imported Settings (Ajustes importados) y seleccione el archivo QIAScreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut.
  - 3f. Haga clic en Save (Guardar).
  - 3g. OPCIONAL: Para poder interpretar los resultados, los datos pueden exportarse como archivo .csv. Vaya a File (Archivo) > Save as (Guardar como) > Excel Analysis Sheet (Hoja de análisis de Excel) y guarde el archivo de exportación.
4. Descargue el equipo Rotor-Gene Q MDx y deseche los tubos de tiras conforme a los requisitos locales de seguridad.

# Interpretación de los resultados

Los criterios de validación de muestras y de la serie analítica se indican a continuación en A y B, respectivamente. Las medidas adecuadas se indican en caso de que no se cumpla un criterio (o más de uno).

## A. Criterio de validación de los controles de la QIAscreen HPV PCR Test

Los analitos del QIAscreen Positive Control deben arrojar valores  $C_T$  que sean inferiores a 29 para la  $\beta$ -globina, inferiores a 30 para VPH 16 y VPH 18 e inferiores a 32 para VPH otros. Si este no es el caso y los ajustes del análisis son correctos, se debe repetir el experimento.

Ninguno de los analitos del QIAscreen Negative Control debe proporcionar una señal que supere el umbral hasta finalizar el proceso de PCR (es decir, ciclo 40 o no definido). Si se observa una señal antes del ciclo 40 y los ajustes del análisis son correctos, se debe repetir el experimento.

**Nota:** Si los controles no cumplen con los límites establecidos y la repetición excluye errores en la técnica, compruebe los siguientes elementos:

- Fecha de caducidad en el envase del reactivo
- La temperatura de los reactivos
- Los ajustes del sistema PCR y del software
- Contaminación

Si los controles continúan siendo no válidos, póngase en contacto con el servicio de atención al cliente del fabricante o con su distribuidor local.

## B. Interpretación de los resultados de la muestra

El resultado de una muestra se determina de la siguiente manera (tabla 3).

Tabla 3. Interpretación de los resultados

Valor C <sub>T</sub> de los analitos del VPH	Valor C <sub>T</sub> de β-globina	Interpretación
1 VPH 16 o VPH 18 <36 o VPH otros <33,5	Cualquiera	Positivo para VPH
2 VPH 16 y VPH 18 ≥36 o no definido y VPH otros ≥33,5 o no definido	≤30	Negativo para VPH
3 VPH 16 y VPH 18 ≥36 o no definido y VPH otros ≥33,5 o no definido	>30	No válido

**1. Positivo para VPH.** Si los valores C<sub>T</sub> de VPH 16 o VPH 18 son <36 o VPH otros es <33,5 (independientemente del valor C<sub>T</sub> de β-globina). El canal indica los tipos presentes. **2. Negativo para VPH.** Si el valor C<sub>T</sub> de β-globina es ≤30 y los valores C<sub>T</sub> de VPH 16 y VPH 18 son ≥36 o no muestran señal y VPH otros es ≥33,5 o no muestra señal. **3. No válido.** Si el valor C<sub>T</sub> de β-globina es >30 y los valores C<sub>T</sub> de VPH 16 y VPH 18 son ≥36 o no muestran señal y VPH otros es ≥33,5 o no muestra señal.

# Limitaciones

- Para el uso previsto indicado, la prueba debe realizarse en materiales de muestra de raspado cervicouterino o muestras (cervico-)vaginales recogidas por la propia paciente. Sin embargo, también se ha evaluado el uso de la QIAscreen HPV PCR Test con ADN extraído de materiales de muestra de biopsia incluidos en parafina y fijados con formol (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE).
- La recogida, el transporte y el almacenamiento del material de muestra pueden afectar al número de copias de un analito en el material de muestra, lo que puede dar lugar a un resultado falso positivo o falso negativo.
- Estas instrucciones solo se aplican al equipo Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.
- Un rendimiento deficiente de la extracción de ADN puede generar resultados de prueba no válidos. Consulte con su distribuidor local o con el servicio de atención al cliente para obtener asesoramiento técnico sobre el protocolo de extracción de ADN si el problema persiste.
- Con la repetición del análisis se pueden confirmar las muestras con resultados dudosos debido a un reducido número de copias de los analitos.
- En contadas ocasiones, las lesiones cervicouterinas pueden ser causadas por variantes naturales del VPH o por tipos de VPH no abordados por la QIAscreen HPV PCR Test.
- Los reactivos de la QIAscreen HPV PCR Test pueden utilizarse exclusivamente para diagnóstico in vitro.
- El uso de pruebas de PCR exige la adopción de buenas prácticas de laboratorio, como el correcto mantenimiento del equipo, que cumplan los reglamentos vigentes y las normas aplicables específicas para laboratorios de biología molecular.
- Los reactivos y las instrucciones que se suministran con la QIAscreen HPV PCR Test han sido validados para ofrecer un rendimiento óptimo.
- La QIAscreen HPV PCR Test está destinada para ser utilizada por profesionales de laboratorio que hayan recibido formación en el uso de los equipos Rotor-Gene Q MDx.

- Este producto debe ser utilizado exclusivamente por personal que haya recibido formación y preparación específicas en las técnicas de real-time PCR y en los procedimientos de diagnóstico in vitro solamente. La interpretación de los resultados de diagnóstico obtenidos debe realizarse en combinación con otros resultados clínicos o de laboratorio.
- Para obtener resultados óptimos con la QIAscreen HPV PCR Test es necesario un cumplimiento estricto de las instrucciones de uso (manual).
- Debe prestarse atención a las fechas de caducidad impresas en la caja y en las etiquetas de todos los componentes. No utilice componentes caducados.
- Todos los reactivos suministrados con la QIAscreen HPV PCR Test se suministran para su uso exclusivo con otros reactivos del mismo kit. De lo contrario, el rendimiento podría verse afectado.
- Cualquier uso no autorizado de este producto o modificación de los componentes eximirá a Self-screen B.V. de posibles responsabilidades.
- 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.

# Características de rendimiento

## Límite de detección (Limit of Detection, LoD)

El límite de detección (Limit of Detection, LoD) se determinó utilizando bloques g (es decir, bloques de ADN genómico bicatenario) que contienen parte del gen E7 de un genotipo de VPH. Las series de diluciones de bloques g en serie de 3 ciclos de los 15 tipos de VPH selectivos (es decir, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 y 68) se prepararon en un fondo de 50 ng de ADN humano y se analizaron en serie de 8 ciclos. En el caso de la  $\beta$ -globina, el LoD se evaluó en series de diluciones en serie de 3 ciclos en agua de un bloque g que contenía parte del gen de  $\beta$ -globina que se analizó en serie de 8 ciclos.

**Tabla 4. Límite de detección (Limit of Detection, LoD) del ensayo de la QIAscreen HPV PCR Test de 15 tipos de VPH y el gen de  $\beta$ -globina**

Diana	LoD (copias por PCR)
VPH 16	206
VPH 18	69
VPH 39, 45	617
VPH 31, 33, 35, 51, 56, 59, 66, 67	1852
VPH 52, 58, 68	5556
$\beta$ -globina	617

## Especificidad analítica\*

Se determinó la especificidad analítica frente a ADN plasmídicos de genomas de VPH no selectivos (es decir, VPH 6, 11, 26, 40, 42, 43, 53, 61 y 70) en una concentración de al menos 46 000 copias/prueba y frente a los 3 microorganismos vaginales con mayor potencial patogénico *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Candida albicans* en una concentración de al menos 10 000 copias/prueba. La prueba no presentó ninguna reactividad cruzada con los tipos de VPH no selectivos 6, 11, 26, 40, 42, 43, 53 y 61 o los microorganismos. Solo en VPH 70, se observó una señal positiva en el canal "VPH otros" (es decir, el canal que detecta el grupo de 13 tipos de VPH excepto 16/18), los cuales después de más diluciones podrían detectarse en >17 000 copias/prueba. Se considera que VPH 70 probablemente es cancerígeno según estudios epidemiológicos, filogenéticos y funcionales<sup>(11-13)</sup>.

## Rendimiento clínico en materiales de muestra cervicouterinos (raspados)

La sensibilidad y especificidad clínicas de la prueba para neoplasias intraepiteliales cervicales de grado 2 o más graves (NIC 2+) en material de muestras cervicouterinas (raspados) almacenados en PreservCyt se validaron en dos estudios diferentes mediante un análisis de no inferioridad en relación con HPV GP5+/6+ PCR(10) de alto riesgo o el Hybrid Capture 2 (14) de acuerdo con las directrices internacionales relativas a los requisitos de la prueba de VPH para la evaluación de cáncer cervicouterino<sup>(9)</sup>. Las sensibilidades clínicas de NIC 2+ fueron del 96,8 % (61/63) y el 92,9 % (91/98) y las especificidades clínicas de NIC 2+ fueron del 95,1 % (783/823) y el 94,2 % (933/990), respectivamente. La sensibilidad y la especificidad clínicas no fueron inferiores a las de los ensayos de referencia GP5+/6+ PCR<sup>(10)</sup> o Hybrid Capture 2 (14), lo que indica un muy buen rendimiento clínico. En el caso de mujeres con ASC-US o LSIL, los valores de sensibilidad y especificidad clínicas de CIN2+ fueron del 97,4 % (37/38; IC del 95 %: 83,5-99,6) y del 59,8 % (52/87; IC del 95 %: 49,2-69,5), respectivamente.<sup>(14)</sup>

\* Se indican las características de rendimiento para la versión de prueba ABI7500. El análisis de equivalencia demostró rendimiento y validación similares para la QIAscreen HPV PCR Test del Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.

## Reproducibilidad\*

La reproducibilidad dentro de un mismo laboratorio y la concordancia entre laboratorios de la prueba se validaron de acuerdo con las directrices internacionales relativas a los requisitos de la prueba de VPH para la evaluación de cáncer cervicouterino<sup>(9)</sup>. La reproducibilidad dentro de un mismo laboratorio en los materiales de muestra cervicouterinos (raspados) a lo largo del tiempo fue de 99,5 % (544/547) con un valor kappa de 0,99 y la concordancia entre laboratorios fue de 99,2 % (527/531) con un valor kappa de 0,98, lo cual indica una muy buena concordancia<sup>(10)</sup>.

## Rendimiento de materiales de muestra (cervico-)vaginales recogidos por la propia paciente\*

Se ha validado el rendimiento de la prueba en materiales de muestra (cervico-)vaginales recogidos por la propia paciente para dos métodos de muestreo diferentes: 1) materiales de muestra de lavado recogidos por la propia paciente y 2) materiales de muestra de cepillado recogidos por la propia paciente. Para los materiales de muestra de lavado recogidos por la propia paciente, la concordancia con el ensayo de referencia GP5+/6+ PCR fue del 96,7 % (59/61) con una sensibilidad CIN 2+ de 91,4 % (21/23)<sup>(10)</sup>. Para los materiales de muestra de cepillado recogidos por la propia paciente, la concordancia con GP5+/6+ PCR fue del 92,9 % (104/112) con una sensibilidad CIN 2+ de 93,9 % (31/34)<sup>(10)</sup>.

## Sustancias interferentes\*

Los restos de EDTA (0,5 M), HCl (1N), microesferas de sílice (1 µl), sangre (1 µl), urea (40 g/100 ml) y tampón de lisis inhibieron el rendimiento de la prueba. ETOH al 96 % (1 µl) y DMSO al 4 % (v/v) no presentaron efecto inhibitorio en el rendimiento de la prueba. La inhibición se supervisa mediante el control de la muestra (p. ej., analito de β-globina).

\* Se indican las características de rendimiento para la versión de prueba ABI7500. El análisis de equivalencia demostró rendimiento y validación similares para la QIAscreen HPV PCR Test del Rotor-Gene Q MDx Splex HRM.

# Referencias

1. Walboomers, J.M., et al. (1999) Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J. Pathol.* 189 (1), 12.
2. Munoz, N., et al. (2003) Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N. Engl. J. Med.* 348, 518.
3. Bosch, F.X., Lorincz, A., Munoz, N., Meijer, C.J., Shah, K.V. (2002) The casual relationship between human papillomavirus and cervical cancer. *J. Clin. Pathol.* 55, 244.
4. Snijders, P.J., Steenbergen, R.D., Heideman, D.A., Meijer, C.J. (2006) HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J. Pathol.* 208(2), 152.
5. Vinokurova, S., et al. (2008) Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions. *Cancer Res.* 68(1), 307.
6. Kraus, I., Driesch, C., Vinokurova, S., Hovig, E., Schneider, A., von Knebel, D.M., Durst, M. (2008) The majority of viral-cellular fusion transcripts in cervical carcinomas cotranscribe cellular sequences of known or predicted genes. *Cancer Res.* 68(7), 2514.
7. Horner, S.M., DeFilippis, R.A., Manuelidis, L., DiMaio, D. (2004) Repression of the human papillomavirus E6 gene initiates p53-dependent, telomerase-independent senescence and apoptosis in HeLa cervical carcinoma cells. *J. Virol.* 78, 4063.
8. Butz, K., Ristriani, T., Hengstermann, A., Denk, C., Scheffner, M., Hoppe-Seyler, F. (2003) siRNA targeting of the viral E6 oncogene efficiently kills human papillomavirus-positive cancer cells. *Oncogene* 22(38), 5938.
9. Meijer, C.J., et al. (2009) Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int. J. Cancer* 124(3), 516.
10. Hesselink, A. et al. (2014) Clinical validation of the HPV-Risk assay: a novel, real-time PCR assay for the detection of high-risk human papillomavirus DNA by targeting the E7 region. *J. Clin. Microbiol.* 52, 890.

11. de Sanjose, S. et al. (2010) Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol.* 11, 1048.
12. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. (2012) Biological agents. Volume 100 B. A review of human carcinogens. IARC Mongr. Eval. Carcinog. Risks Hum. 100(Pt B), 1.
13. Hiller, T., Poppelreuther, S., Stubenrauch, F., Iftner, T. (2006) Comparative analysis of 19 genital human papillomavirus types with regard to p53 degradation, immortalization, phylogeny, and epidemiologic risk classification. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 15, 1262.
14. Polman, N. et al. (2017) Evaluation of the Clinical Performance of the HPV-Risk Assay Using the VALGENT-3 Panel. *J. Clin Microbiol.* 2017 Dec;55(12):3544-3551.
15. Heideman, D. et al. (2019) Clinical performance of the HPV-Risk assay on cervical samples in SurePath medium using the VALGENT-4 panel. *J Clin Virol.*;121:104201.

# Guía para la resolución de problemas

Esta guía de resolución de problemas puede ayudarle a resolver cualquier problema que pueda surgir. Para obtener más información, también puede consultar la página de preguntas frecuentes de nuestro Centro de servicio técnico: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Los científicos del servicio técnico de QIAGEN se encargarán de responder cualquier pregunta que tenga sobre la información y/o los protocolos de este manual de uso, así como sobre las tecnologías para la preparación de las muestras y ensayos de biología molecular (encontrará la información de contacto en [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Comentarios y sugerencias

### La muestra se califica como no válida: la amplificación de $\beta$ -globina es demasiado baja o nula

- |    |   |   |
|----|---|---|
| a) | Error de pipeteo u omisión de reactivos. Consulte el apartado "PCR en equipos Rotor-Gene Q MDx con rotor de 72 tubos" en la página 21 | Compruebe el esquema de pipeteo y la configuración de la reacción. Vuelva a repetir con la muestra. |
| b) | Compruebe el eluido de ADN  | Repita la extracción del ADN.   |

### El control positivo se califica como no válido: la amplificación es demasiado baja o nula para uno o más de los analitos

- |    |   |  |
|----|---|--|
| a) | Error de pipeteo u omisión de reactivos. Consulte el apartado "PCR en equipos Rotor-Gene Q MDx con rotor de 72 tubos" en la página 21 | Compruebe el esquema de pipeteo y la configuración de la reacción. Vuelva a repetir con la muestra.  |
| b) | Degradación parcial   | Guarde el contenido del kit a una temperatura comprendida entre $-15$ y $-30$ °C<br>Evite los ciclos repetidos de congelación y descongelación a un máximo de cinco ciclos.  |
| c) | Degradación parcial de los reactivos de PCR   | Almacene el contenido del kit entre $-15$ °C y $-30$ °C y mantenga las mezclas de reacción protegidas de la luz.<br>Evite la congelación y descongelación repetidas.         |
| d) | Inversión del tubo de tiras   | Compruebe el esquema de pipeteo y la configuración de la reacción.   |
| e) | Fecha de caducidad  | Compruebe la fecha de caducidad del kit utilizado.   |
| f) | Demora de tiempo entre el pipeteo de las muestras y el inicio de la serie   | Las mezclas de PCR pueden almacenarse durante 30 minutos entre el pipeteo de las muestras en la PCR y el inicio de la serie en la máquina a $2-8^{\circ}$ C en la oscuridad. |

**El control sin molde (No template control, NTC) no es válido**

- |    |   |   |
|----|---|---|
| a) | Error de pipeteo u omisión de reactivos. Consulte el apartado "PCR en equipos Rotor-Gene Q MDx con rotor de 72 tubos" en la página 21 | Compruebe el esquema de pipeteo y la configuración de la reacción. Vuelva a repetir con la muestra. |
|----|---|---|

**Ausencia de señal o señal baja en la muestra, pero el control es correcto**

- |    |  |  |
|----|--|--|
| a) | Efectos inhibitorios   | Compruebe siempre si no quedan restos de tampón durante la extracción de ADN.<br>Repita la extracción del ADN. |
| b) | Error al pasar por la pipeta. Consulte el apartado "PCR en equipos Rotor-Gene Q MDx con rotor de 72 tubos" en la página 21 | Compruebe el esquema de pipeteo y la configuración de la reacción. Repita la serie de PCR.                     |

Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de QIAGEN.

# Símbolos

Los símbolos siguientes pueden aparecer en el embalaje y las etiquetas:

Símbolo	Definición del símbolo
	Fecha de caducidad
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Símbolo de marcado CE-IVD
	Número de catálogo
	Número de lote
	Número de material
	Componentes
	Contenido
	Número
	"R" es la revisión del Manual de instrucciones de uso y "n" es el número de revisión
	Número mundial de artículo comercial
	Limitación de temperatura
	Fabricante

Símbolo

Definición del símbolo

---



Mantener alejado de la luz solar



Consulte las instrucciones de uso



Precaución

## Información de contacto

Para recibir asistencia técnica y solicitar más información, visite nuestro Centro de servicio técnico en el sitio [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support), llame al 00800-22-44-6000 o póngase en contacto con uno de los departamentos del servicio técnico de QIAGEN o con los distribuidores locales (consulte la contraportada o visite [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

# Información para pedidos

Producto	Contenido	N.º de cat.
QIAscreen HPV PCR Test	Para 72 reacciones, incluye: mezcla maestra, control positivo, control negativo, instrucciones de uso	617005
QIAasymphony SP	Módulo de preparación de muestras QIAasymphony (opcional para la extracción)	9001297
<b>Rotor-Gene Q MDx</b>		
Rotor-Gene Q MDx HRM System	Termociclador para real-time PCR y analizador de fusión de alta resolución (High Resolution Melt, HRM) con 5 canales (verde, amarillo, naranja, rojo y carmesí) más un canal HRM, ordenador portátil, software y accesorios: incluye 1 año de garantía en piezas y mano de obra, instalación y formación	9002035
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Termociclador para real-time PCR y analizador de fusión de alta resolución con 5 canales (verde, amarillo, naranja, rojo y carmesí) más un canal HRM, ordenador portátil, software y accesorios: incluye una garantía de 1 año para piezas y mano de obra; no se incluye la instalación y la formación	9002032

Producto	Contenido	N.º de cat.
<b>Accesorios del Rotor-Gene Q MDx</b>		
Loading Block 72 x 0.1 mL Tubes	Bloque de aluminio para la configuración de reacción manual con pipeta de un solo canal en tubos de 72 x 0,1 ml	9018901
Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (250)	250 tiras de 4 tubos y tapones para 1000 reacciones	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (2500)	10 x 250 tiras de 4 tubos y tapones para 10 000 reacciones	981106

Para obtener información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual del usuario o el manual de uso del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales de uso 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 a su distribuidor local.

# Historial de revisiones del documento

Fecha	Cambios
R2, agosto 2018	Se ha actualizado el apartado "Advertencias y precauciones"; se ha añadido CellSolutions® en el apartado "Manipulación y almacenamiento de material de muestra" y en "Marcas comerciales"; se ha revisado el apartado "Preparación de las muestras" para sustituir las representaciones de fracciones por los porcentajes; se ha actualizado "Protocolo: QIAScreen HPV PCR Test en el equipo Rotor-Gene Q MDx"; se ha revisado la columna 3 de la tabla 1 de "Protocolo: QIAScreen HPV PCR Test en el equipo Rotor-Gene Q MDx"; se ha actualizado el apartado "PCR en equipos Rotor-Gene Q MDx con rotor de 72 tubos" para añadir la nota "Importante" y cambiar New experiment (Nuevo experimento) por la ventana New Run (Nueva serie); se ha actualizado el apartado "Características de rendimiento"; se ha corregido el número de catálogo de la QIAScreen HPV PCR Test; y se ha actualizado el diseño
R3, junio de 2023	Se ha actualizado el apartado "Manipulación y almacenamiento de material de muestra"; se actualizó el apartado "Preparación de las muestras" con el pretratamiento de las muestras conservadas en SurePath y las instrucciones para la extracción del ADN con el QIAamp DSP Virus Spin Kit y la extracción del ADN con el QIASymphony utilizando el QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi kit; se actualizó el rendimiento clínico de las muestras conservadas en SurePath y se añadió una referencia sobre la validación de las muestras conservadas en SurePath.

## Acuerdo de licencia limitada para la QIAScreen HPV PCR Test

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 este kit con componentes no incluidos en el mismo, excepto según se describe en los protocolos proporcionados con el producto, este manual de uso y otros protocolos disponibles en [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Algunos de estos protocolos adicionales han sido proporcionados por 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 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](http://www.qiagen.com).

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIASymphony®, MinElute®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); PreservCyf® (Hologic, Inc.); CellSolutions®; PathTezr® (PathTezr); SurePath® (Becton Dickinson and Company). No debe considerarse que los nombres registrados, marcas comerciales, etc., que se utilizan en este documento no están protegidos por la ley.

**Self-screen B.V. es el fabricante legal de la QIAScreen HPV PCR Test.**

**Self-screen B.V. fabrica la QIAScreen HPV PCR Test para QIAGEN.**

1132289ES 06/2023 HB-2579-004 © 2023 QIAGEN. Todos los derechos reservados.

