



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A. N. M. A. T

DISPOSICIÓN N° 5656

BUENOS AIRES 15 JUL 2015

VISTO, el expediente n° 1-47-3110-3008/14-7 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones la firma CROMOION S.R.L solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos de los Productos para diagnóstico de uso "in Vitro" denominados 1) Olerup SSP® HLA/ ENSAYOS DISEÑADOS PARA LA TIPIFICACIÓN DE LOS ALELOS HLA DE CLASE I Y DE CLASE II, MEDIANTE MUESTRAS DE ADN HUMANO; 2) Olerup SSP® DNA Size Marker/ ESTANDAR DE PESO MOLECULAR PARA EL CONTROL DEL TAMAÑO DE LOS PRODUCTOS DE PCR EN LAS REACCIONES DE TIPIFICACIÓN Olerup SSP®; 3) Olerup SSP® DNA Size Marker for short gel runs/ ESTANDAR DE PESO MOLECULAR PARA EL CONTROL DEL TAMAÑO DE LOS PRODUCTOS DE PCR, EN CORRIDAS CORTAS DE GEL, EN LAS REACCIONES DE TIPIFICACIÓN Olerup SSP®; 4) Olerup SSP® HLA Negative Control/ PARA USO COMO CONTROL NEGATIVO EN LAS REACCIONES DE TIPIFICACIÓN Olerup SSP® 5) Olerup SSP® HLA Wipe Test/ PARA USO COMO CONTROL NEGATIVO Y COMO CONTROL DE CONTAMINACIÓN EN LAS REACCIONES DE TIPIFICACIÓN Olerup SSP®.

Que a fs. 463 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que el producto reúne las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A. N. M. A. T

DISPOSICIÓN Nº

5 6 5 6

Que la Dirección Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establece la Ley 16.463, Resolución Ministerial Nº 145/98 y Disposición A N M A T Nº 2674/99.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por el Artículo 8º inciso 11) del Decreto Nº 1490/92 y 1886/14.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACION NACIONAL DE
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MÉDICA

D I S P O N E:

ARTICULO 1º.- Autorízase la venta a laboratorios de análisis clínicos de los Productos para diagnóstico de uso "in Vitro" denominados 1) Olerup SSP® HLA/ ENSAYOS DISEÑADOS PARA LA TIPIFICACIÓN DE LOS ALELOS HLA DE CLASE I Y DE CLASE II, MEDIANTE MUESTRAS DE ADN HUMANO; 2) Olerup SSP® DNA Size Marker/ ESTANDAR DE PESO MOLECULAR PARA EL CONTROL DEL TAMAÑO DE LOS PRODUCTOS DE PCR EN LAS REACCIONES DE TIPIFICACIÓN Olerup SSP®; 3) Olerup SSP® DNA Size Marker for short gel runs/ ESTANDAR DE PESO MOLECULAR PARA EL CONTROL DEL TAMAÑO DE LOS PRODUCTOS DE PCR, EN CORRIDAS CORTAS DE GEL, EN LAS REACCIONES DE TIPIFICACIÓN Olerup SSP®; 4) Olerup SSP® HLA Negative Control/ PARA USO COMO CONTROL



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A. N. M. A. T

DISPOSICIÓN Nº

5 6 5 6

NEGATIVO EN LAS REACCIONES DE TIPIFICACIÓN Olerup SSP® 5) Olerup SSP® HLA Wipe Test/ PARA USO COMO CONTROL NEGATIVO Y COMO CONTROL DE CONTAMINACIÓN EN LAS REACCIONES DE TIPIFICACIÓN Olerup SSP® que serán elaborados por OLERUP SSP AB, Franzéngatan 5, SE-112 51 Stockholm. (SUECIA) e importados por CROMOION S.R.L a expenderse en envases conteniendo VER ANEXO I; cuya composición se detalla a fojas 55 a 56 y 59 con un período de vida útil de 1) 30 (TREINTA) meses, desde la fecha de elaboración conservado a -20°C; 2) y 3) 24 (VEINTICUATRO) meses, desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8 °C; 4) y 5) 24 (VEINTICUATRO) meses, desde la fecha de elaboración conservado a -20°C.

ARTICULO 2º.- Acéptense los rótulos y manual de instrucciones obrantes a fojas 129 a 440, desglosándose las fojas 129 a 134, 148 a 150, 159 a 188, 250 a 278, 338 a 339, 345 a 347, 354 a 356, 363 a 368, 381 a 386, 399 a 405, 420 a 426 debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTICULO 3º.- Extiéndase el Certificado correspondiente.

ARTICULO 4º.- LA ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA, se reserva el derecho de reexaminar los métodos de control, estabilidad y elaboración cuando las circunstancias así lo determinen.

ARTICULO 5º.- Regístrese; gírese a Dirección de Gestión de Información Técnica a sus efectos, por el Departamento de Mesa de Entradas notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A. N. M. A. T.

DISPOSICIÓN N°

5 6 5 6

y Anexo, junto con la copia de los proyectos de rótulos, manual de instrucciones y el Certificado correspondiente. Cumplido, archívese.-

Expediente nº: 1-47-3110-3008/14-7.

DISPOSICIÓN N°:

5 6 5 6

av.

Ing ROGELIO LOPEZ
Administrador Nacional
A.N.M.A.T.



ROTULOS EXTERNOS

Para los productos Olerup SSP del grupo HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP, HLA-A, HLA-B y HLA -C

Para productos Olerup SSP sin Taq polimerasa

OLERUP SSP

[Nombre de producto]* - SSP

Prod. Nº.: [Nº de catálogo]u – sin Taq Polimerasa

Para la tipificación de ADN de los alelos [Nombre del alelo]*

El equipo contiene:

Set de primer – [T]* Tests – cada ensayo consiste de una placa PCR de [N]** pocillos.

Mezcla maestra PCR sin Taq, [V]¹ ul

(n)* sellador PCR

1 inserto de producto

Nº US Estándar de Potencia

Almacenar en la oscuridad a -20°C

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote Nº: Fecha de expiración:

CE **IVD**

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR. CROMOION S.R.L.
Oporto 6125 (C1408CEA) C.A.B.A. - Argentina
Tel./Fax (011) 4644-3205/06
Legajo empresa: 908
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amaboldi
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro
Certif. / PM:
Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - República Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO

5 6 5 6

1 5 JUL 2015

Nota aclaratoria:

[Nombre de producto]* (se detallan en el listado Anexo I). Por Ejemplo: DRB4

[Nombre del alelo]*. Por Ejemplo: Para la tipificación de los alelos DRB4.

[T]* = describe el número de determinaciones (se detallan en las presentaciones del listado Anexo I).

Por Ejemplo: 6 Tests.

[N]** = describe el número de pocillos de la placa. Por ejemplo: 16 pocillos.

[V]¹ Describe el volumen. Por ejemplo: 275 ul.

(n)* = número de selladores (dependiente del número de determinaciones). Por ej.: 1 ó 4 selladores

Para productos Olerup SSP con Taq polimerasa

OLERUP SSP

[Nombre de producto]* - SSP

Prod. Nº.: [Nº de catálogo] – incluyendo Taq Polimerasa

Para la tipificación de ADN de los alelos [Nombre del alelo]

El equipo contiene:

Set de primer – [T]* Tests – cada ensayo consiste de una placa PCR de [N]** pocillos.

Mezcla maestra PCR incluyendo Taq, V¹ ul

(n)* sellador PCR

1 inserto de producto

Nº US Estándar de Potencia

Almacenar en la oscuridad a -20°C

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote Nº: Fecha de expiración:

CE **IVD**

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR. CROMOION S.R.L.
Oporto 6125 (C1408CEA) C.A.B.A. - Argentina
Tel./Fax (011) 4644-3205/06
Legajo empresa: 908
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amaboldi
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro
Certif. / PM:
Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - República Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO

Bioinformación Sialino
C/ Avda. de la Técnica
P.O. Box N.º 7809
CROMOION S.R.L.

Nota aclaratoria:

[Nombre de producto]* (se detallan en el listado Anexo I). Por Ejemplo: DRB4

[Nombre del alelo]*. Por Ejemplo: Para la tipificación de los alelos DRB4.

[T]* = describe el número de determinaciones (se detallan en las presentaciones del listado Anexo I).

Por Ejemplo: 6 Tests.

[N]** = describe el número de pocillos de la placa. Por ejemplo: 16 pocillos.

[V]¹ Describe el volumen. Por ejemplo: 275 ul.

(n)* = número de selladores (dependiente del número de determinaciones). Por ej.: 1 ó 4 selladores



Para los productos Olerup SSP del grupo SSP Combi

Para productos Olerup SSP Combi sin Taq polimerasa

OLERUP SSP

[Nombre de producto]* - SSP – Combi Tray

Prod. Nº.: [Nº de catálogo]u – sin Taq Polimerasa

Para la tipificación de ADN de los alelos [Nombre de la combinación de alelos]*

El equipo contiene:

Set de primer – [T]* Tests – cada ensayo consiste de una placa PCR de [N]** pocillos.

Mezcla maestra PCR sin Taq, [V]¹ ul

(n)* sellador PCR

1 inserto de producto

Nº US Estándar de Potencia

Almacenar en la oscuridad a -20°C

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote Nº: Fecha de expiración:

CE **IVD**

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: CROMOION S.R.L.
Oporto 6125 (C1408CEA) C.A.B.A. - Argentina
Tel./Fax (011) 4644-3205/06
Legajo empresa: 906
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amaboldi
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro
Certif. / PM:
Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - República Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO

5 6 5 6

Nota aclaratoria:

[Nombre de producto]* (se detallan en el listado Anexo I). Por Ejemplo: *A-B-DR*.

[Nombre de la combinación de alelos]*. Por Ejemplo: Para la tipificación de los alelos *HLA-A, B, DR*.

[T]* = describe el número de determinaciones (se detallan en las presentaciones del listado Anexo I).

Por Ejemplo: *6 Tests*.

[N]** = describe el número de pocillos de la placa. Por ejemplo: *96 pocillos*.

[V]¹ Describe el volumen. Por ejemplo: *1 caja de 6 x 312 ul*.

(n)* = número de selladores (dependiente del número de determinaciones). Por ej.: *6 ó 26 selladores*.

Para productos Olerup SSP Combi con Taq polimerasa

OLERUP SSP

[Nombre de producto]* - SSP – Combi Tray

Prod. Nº.: [Nº de catálogo] – incluyendo Taq Polimerasa

Para la tipificación de ADN de los alelos [Nombre de la combinación de alelos]

El equipo contiene:

Set de primer – [T]* Tests – cada ensayo consiste de una placa PCR de [N]** pocillos.

Mezcla maestra PCR incluyendo Taq, V¹ ul

(n)* sellador PCR

1 inserto de producto

Nº US Estándar de Potencia

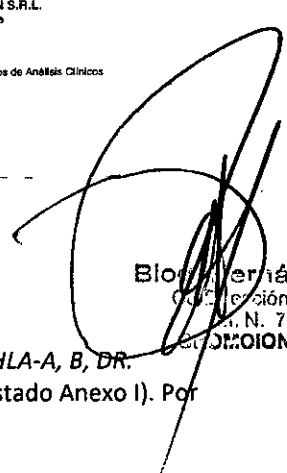
Almacenar en la oscuridad a -20°C

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote Nº: Fecha de expiración:

CE **IVD**

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: CROMOION S.R.L.
Oporto 6125 (C1408CEA) C.A.B.A. - Argentina
Tel./Fax (011) 4644-3205/06
Legajo empresa: 906
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amaboldi
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro
Certif. / PM:
Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - República Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO


Blora Verián Stalino
Directora Técnica
C.I.N. N. 7899
CROMOION S.R.L.

Nota aclaratoria:

[Nombre de producto]* (se detallan en el listado Anexo I). Por Ejemplo: *A-B-DR*.

[Nombre de la combinación de alelos]*. Por Ejemplo: Para la tipificación de los alelos *HLA-A, B, DR*.

[T]* = describe el número de determinaciones (se detallan en las presentaciones del listado Anexo I). Por Ejemplo: *6 Tests*.

[N]** = describe el número de pocillos de la placa. Por ejemplo: *96 pocillos*.

[V]¹ Describe el volumen. Por ejemplo: *1 caja de 6 x 312 ul*.

(n)* = número de selladores (dependiente del número de determinaciones). Por ej.: *6 ó 26 selladores*.

J

Para los productos Olerup SSP del grupo Alelos KIR



5 6 5 6

Para productos Olerup SSP KIR Genotiping sin Taq polimerasa

OLERUP SSP

KIR GENOTYPING - SSP

Prod. Nº.: [Nº de catálogo]u – sin Taq Polimerasa

Para la genotipificación KIR.

El equipo contiene:

Set de primer – 12 Tests – cada ensayo consiste de una placa PCR de 24 pocillos.

Mezcla maestra PCR sin Taq, 1025 ul

3 selladores PCR

1 inserto de producto

Nº US Estándar de Potencia

Almacenar en la oscuridad a -20°C

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote Nº: Fecha de expiración:

CE **IVD**

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: CROMOION S.R.L.
Oporto 6125 (C1408CEA) C.A.B.A. - Argentina
Tel./Fax (011) 4644-3205/06
Legajo empresa: 908
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amaboldi
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro
Certif. / PM:
Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - República Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO

Para productos Olerup SSP KIR Genotiping con Taq polimerasa

OLERUP SSP

KIR GENOTYPING - SSP

Prod. Nº.: [Nº de catálogo]u – incluyendo Taq Polimerasa

Para la genotipificación KIR.

El equipo contiene:

Set de primer – 12 Tests – cada ensayo consiste de una placa PCR de 24 pocillos.

Mezcla maestra PCR incluyendo Taq. 1025 ul

3 selladores PCR

1 inserto de producto

Nº US Estándar de Potencia

Almacenar en la oscuridad a -20°C

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote Nº: Fecha de expiración:

CE **IVD**

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: CROMOION S.R.L.
Oporto 6125 (C1408CEA) C.A.B.A. - Argentina
Tel./Fax (011) 4644-3205/06
Legajo empresa: 908
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amaboldi
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro
Certif. / PM:
Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - República Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO

Para productos Olerup SSP KIR HLA Ligand sin Taq polimerasa

OLERUP SSP

KIR HLA Ligand - SSP

Prod. Nº.: [Nº de catálogo]u – sin Taq Polimerasa

Para la tipificación de ligandos KIR de HLA-A, B y C

El equipo contiene:

Set de primer – 12 Tests – cada ensayo consiste de una placa PCR de 8 pocillos

Mezcla maestra PCR sin Taq, 375 ul

1 sellador PCR

1 inserto de producto

Nº US Estándar de Potencia

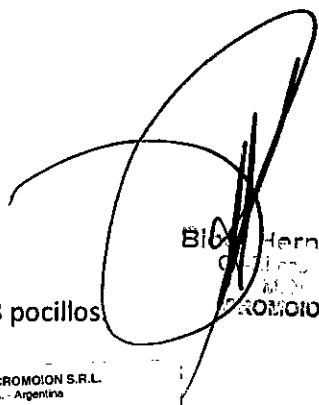
Almacenar en la oscuridad a -20°C

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote Nº: Fecha de expiración:

CE **IVD**

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: CROMOION S.R.L.
Oporto 6125 (C1408CEA) C.A.B.A. - Argentina
Tel./Fax (011) 4644-3205/06
Legajo empresa: 908
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amaboldi
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro
Certif. / PM:
Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - República Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO


BIO Hernán Stalino
Directora Técnica
M.D. 1113
CROMOION S.R.L.

Para productos Olerup SSP KIR HLA Ligand con Taq polimerasa



5656

OLERUP SSP

KIR HLA Ligand - SSP

Prod. Nº.: [Nº de catálogo]u – incluyendo Taq Polimerasa

Para la tipificación de ligandos KIR de HLA-A, B y C

El equipo contiene:

Set de primer – 12 Tests – cada ensayo consiste de una placa PCR de 8 pocillos.

Mezcla maestra PCR incluyendo Taq. 375 ul

1 sellador PCR

1 inserto de producto

Nº US Estándar de Potencia

Almacenar en la oscuridad a -20ºC

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote Nº: Fecha de expiración:

CE **IVD**

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: CROMOION S.R.L.
Oporto 6125 (C1408CEA) C.A.B.A. - Argentina
Tel./Fax (011) 4644-3205/06
Legajo empresa: 908
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amaboldi
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro
Certif. / PM:
Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - República Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO

Para los productos Accesorios Olerup SSP

OLERUP SSP

DNA Size Marker

Prod. Nº.: [Nº de catálogo]

Ladder de 50,100,200,300,400,500,1000 pares de bases

2 x 500 ul

Listo para la carga, 10 ul por banda de gel.

Almacenar en la oscuridad a 2º -8ºC

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote Nº: Fecha de expiración:

CE **IVD**

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: CROMOION S.R.L.
Oporto 6125 (C1408CEA) C.A.B.A. - Argentina
Tel./Fax (011) 4644-3205/06
Legajo empresa: 908
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amaboldi
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro
Certif. / PM:
Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - República Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO

OLERUP SSP

DNA Size Marker

Prod. Nº.: [Nº de catálogo]

Ladder de 50,100,200,300,400,500,1000 pares de bases

10 x 500 ul

Listo para la carga, 10 ul por banda de gel.

Almacenar en la oscuridad a 2º -8ºC

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote Nº: Fecha de expiración:

CE **IVD**

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: CROMOION S.R.L.
Oporto 6125 (C1408CEA) C.A.B.A. - Argentina
Tel./Fax (011) 4644-3205/06
Legajo empresa: 908
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amaboldi
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro
Certif. / PM:
Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - República Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO

OLERUP SSP

DNA Size Marker for short gel runs

Prod. Nº.: [Nº de catálogo]

Ladder de 50,200,500,1000 pares de bases

2 x 500 ul

Listo para la carga, 10 ul por banda de gel.

Almacenar en la oscuridad a 2º -8ºC

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote Nº: Fecha de expiración:

CE **IVD**

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: CROMOION S.R.L.
Oporto 6125 (C1408CEA) C.A.B.A. - Argentina
Tel./Fax (011) 4644-3205/06
Legajo empresa: 908
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amaboldi
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro
Certif. / PM:
Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - República Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO

Blaq. Hernán Stalino
Co-Dirección Técnica
M. N. 7899
CROMOION S.R.L.



5 6 5 6

OLERUP SSP

DNA Size Marker for short gel runs

Prod. N°.: [N° de catálogo]

Ladder de 50,200,500,1000 pares de bases
10 x 500 ul

Listo para la carga, 10 ul por banda de gel.

Almacenar en la oscuridad a 2° -8°C

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote N°: Fecha de expiración:

CE **IVD**

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: CROMOION S.R.L.
Oporto 6125 (C1408CEA) C.A.B.A. - Argentina
Tel./Fax (011) 4644-3205/06
Legajo empresa: 908
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amaboldi
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro
Certif. / PM:
Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - República Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO

OLERUP SSP

HLA – NEGATIVE CONTROL SSP

Prod. N°.: [N° de catálogo]u – sin Taq Polimerasa

Para uso como control negativo en las tipificaciones SSP.

El equipo contiene:

Set de primer – 96 Tests – cada 8 pocillos de la placa PCR consisten de 8 ensayos,

Mezcla maestra PCR sin Taq, 375 ul

1 sellador PCR

1 inserto de producto

N° US Estándar de Potencia

Almacenar en la oscuridad a -20°C

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote N°: Fecha de expiración:

CE **IVD**

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: CROMOION S.R.L.
Oporto 6125 (C1408CEA) C.A.B.A. - Argentina
Tel./Fax (011) 4644-3205/06
Legajo empresa: 908
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amaboldi
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro
Certif. / PM:
Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - República Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO

OLERUP SSP

HLA – NEGATIVE CONTROL SSP

Prod. N°.: [N° de catálogo] – incluyendo Taq Polimerasa

Para uso como control negativo en las tipificaciones SSP.

El equipo contiene:

Set de primer – 96 Tests – cada 8 pocillos de la placa PCR consisten de 8 ensayos,

Mezcla maestra PCR incluyendo Taq, 375 ul

1 sellador PCR

1 inserto de producto

N° US Estándar de Potencia

Almacenar en la oscuridad a -20°C

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote N°: Fecha de expiración:

CE **IVD**

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: CROMOION S.R.L.
Oporto 6125 (C1408CEA) C.A.B.A. - Argentina
Tel./Fax (011) 4644-3205/06
Legajo empresa: 908
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amaboldi
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro
Certif. / PM:
Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - República Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO

Blor. Hernán Stalino
D. Dirección Técnica
M.N. 7899
CROMOION S.R.L.



OLERUP SSP

HLA – WIPE TEST- NEGATIVE CONTROL SSP

Prod. N°.: [N° de catálogo]u – sin Taq Polimerasa

Para detección de contaminaciones con amplicones generados por equipos Olerup HLA.

El equipo contiene:

Set de primer – 96 Tests – cada 8 pocillos PCR consisten de unos 8 ensayos.

Mezcla maestra PCR sin Taq, 375 ul, Control positivo DNA, hisopos con aplicador plástico,

1 sellador PCR, inserto de producto

N° US Estándar de Potencia

Almacenar en la oscuridad a -20°C

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote N°: Fecha de expiración:

CE **IVD**

5 6 5 6

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: CROMOION S.R.L.
Oporto 6125 (C1406CEA) C.A.B.A. - Argentina
Tel./Fax (011) 4644-3205/06
Logajo empresa: 909
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amaboldi
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro
Certif. / PM:
Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - República Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO

OLERUP SSP

HLA – WIPE TEST- NEGATIVE CONTROL SSP

Prod. N°.: [N° de catálogo] – incluyendo Taq Polimerasa

Para detección de contaminaciones con amplicones generados por equipos Olerup HLA.

El equipo contiene:

Set de primer – 96 Tests – cada 8 pocillos PCR consisten de unos 8 ensayos.

Mezcla maestra PCR incluyendo Taq, 375 ul, Control positivo DNA, hisopos con aplicador plástico, 1 sellador PCR, 1 inserto de producto

N° US Estándar de Potencia

Almacenar en la oscuridad a -20°C

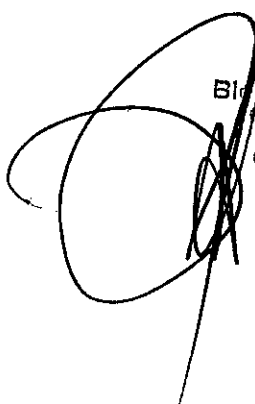
Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote N°: Fecha de expiración:

CE **IVD**

IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR: CROMOION S.R.L.
Oporto 6125 (C1406CEA) C.A.B.A. - Argentina
Tel./Fax (011) 4644-3205/06
Logajo empresa: 909
Directora Técnica: Dra. Cecilia Amaboldi
Producto Médico - Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos
Uso Diagnóstico In Vitro
Certif. / PM:
Autorizado por la ANMAT
Ministerio de Salud - República Argentina
VER INSTRUCCIONES DE USO

↓


Blas Hernán Stalino
Co-Dirección Técnica
M. N. 7899
CROMOION S.R.L.

ROTULOS INTERNOS

Rótulo interno Primer set - (Para productos Olerup SSP del grupo HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP, HLA-A, HLA-B y HLA -C)

5656

OLERUP SSP

[Nombre de producto]* - SSP

Prod. Nº.: [Nº de catálogo]/ [Nº de catálogo]u

Para la tipificación de ADN de los alelos [Nombre del alelo]

La caja contiene:

Primer set – [T]* Tests – cada ensayo consiste de una placa de PCR de [N]** pocillos.

Nº US Estándar de Potencia

Almacenar en la oscuridad a -20°C

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote Nº: Fecha de expiración:

CE

Nota aclaratoria:

[Nombre de producto]* (se detallan en el listado Anexo I). Por Ejemplo: DRB4

[Nombre del alelo]*. Por Ejemplo: Para la tipificación de los alelos DRB4.

[T]* = describe el número de determinaciones (se detallan en las presentaciones del listado Anexo I).

Por Ejemplo: 6 Tests.

[N]** = describe el número de pocillos de la placa. Por ejemplo: 16 pocillos.

Rótulo interno Primer set - (Para los productos Olerup SSP del grupo SSP Combi)

OLERUP SSP

[Nombre de producto]* - SSP – Combi Tray

Prod. Nº.: [Nº de catálogo]/ [Nº de catálogo]u

Para la tipificación de ADN de los alelos [Nombre de la combinación de alelos]

La caja contiene:

Primer set – [T]* Tests – cada ensayo consiste de una placa de PCR de [N]** pocillos.

Nº US Estándar de Potencia

Almacenar en la oscuridad a -20°C

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote Nº: Fecha de expiración:

CE

Nota aclaratoria:

[Nombre de producto]* (se detallan en el listado Anexo I). Por Ejemplo: A-B-DR

[Nombre de la combinación de alelos]*. Por Ejemplo: Para la tipificación de los alelos HLA-A,B,DR.

[T]* = describe el número de determinaciones (se detallan en las presentaciones del listado Anexo I).

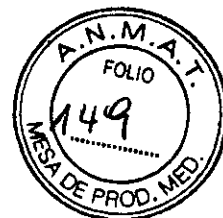
Por Ejemplo: 6 Tests.

[N]** = describe el número de pocillos de la placa. Por ejemplo: 96 pocillos.

1



Bloq. Hernán Sialino
Co-Dirección Técnica
M. N. 7899
CROMOION S.R.L.



5 6 5 6

Rótulo interno Primer set - (Para los productos Olerup SSP KIR Genotyping)

OLERUP SSP

KIR Genotyping - SSP

Prod. Nº.: [Nº de catálogo]/ [Nº de catálogo]u

Para la genotipificación KIR.

Primer set – 12 Tests – cada ensayo consiste de una placa de PCR de 24 pocillos.

Nº US Estándar de Potencia

Almacenar en la oscuridad a -20°C

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote Nº: Fecha de expiración:

CE

Rótulo interno Primer set - (Para los productos Olerup SSP KIR HLA Ligand - SSP)

OLERUP SSP

KIR HLA – Ligand - SSP

Prod. Nº.: [Nº de catálogo]/ [Nº de catálogo]u

Para Tipificación de ligandos HLA-A,B y C.

Primer set – 12 Tests – cada ensayo consiste de una placa de PCR de 8 pocillos.

Nº US Estándar de Potencia

Almacenar en la oscuridad a -20°C

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote Nº: Fecha de expiración:

CE

Rótulo interno Master Mix sin Taq polimerasa

OLERUP SSP

PCR MASTER MIX - SIN TAQ polimerasa

Para la tipificación de ADN.

V¹ ul - 3 ul cada 10 ul de reacción SSP,

Nucleótidos, buffer, glicerol, rojo cresol.

Almacenar a -20°C

Elaborador por OLERUP SSP AB

Lote Nº: Fecha de expiración:

Nota aclaratoria:

[V]¹ Describe el volumen. Por ejemplo: 2060 ul.

Rótulo interno Master Mix con Taq polimerasa

OLERUP SSP

PCR MASTER MIX - INCLUYENDO TAQ polimerasa

Para la tipificación de ADN.

V¹ ul - 3 ul cada 10 ul de reacción SSP,

Taq polimerasa, nucleótidos, buffer, glicerol, rojo cresol.

Almacenar a -20°C

Elaborador por OLERUP SSP AB

Lote Nº: Fecha de expiración:

Nota aclaratoria:

[V]¹ Describe el volumen. Por ejemplo: 450 ul.

Bloq. Hernán Stalino
Co-Dirección Técnica
M.N. 7899
CRONION S.R.L.



5656

Rótulos internos para Accesorios Olerup SSP

OLERUP SSP

DNA Size Marker

Prod. Nº.: [Nº de catálogo]

500 ul

Almacenar en la oscuridad a 2º -8ºC

Lote Nº: Fecha de expiración:

OLERUP SSP

DNA Size Marker for short gel runs

Prod. Nº.: [Nº de catálogo]

500 ul

Almacenar en la oscuridad a 2º -8ºC

Lote Nº: Fecha de expiración:

Rótulo interno Primer set - (Para HLA-Negative Control)

OLERUP SSP

HLA-Negative Control -SSP

Prod. Nº.: [Nº de catálogo]/ [Nº de catálogo]u

Para detección de contaminación con amplicones, generada por los equipos Olerup HLA

Primer set – 96 Tests – cada 8 pocillos de la placa PCR consisten en 8 ensayos.

Nº US Estándar de Potencia

Almacenar en la oscuridad a -20ºC

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote Nº: Fecha de expiración:

CE

Rótulo interno Primer set - (Para HLA-Wipe Control)

OLERUP SSP

HLA-Wipe Test – Negative Control - SSP

Prod. Nº.: [Nº de catálogo]/ [Nº de catálogo]u

Para detección de contaminaciones con amplicones, generada por los equipos Olerup HLA

Primer set – 96 Tests – cada 8 pocillos de la placa PCR consisten en 8 ensayos.

Nº US Estándar de Potencia

Almacenar en la oscuridad a -20ºC

Elaborador por OLERUP SSP AB – Suecia

Lote Nº: Fecha de expiración:

CE

Bloq. Hernán Ciriano
Co-Dirección Técnica
M. N. 1889
GRUPO OLERUP S.R.L.



Olerup SSP®
Instrucciones de uso

5 6 5 6

Para el diagnóstico *in vitro*

APLICACIONES

Los kits de tipificación de HLA Olerup SSP® son equipos de diagnóstico cualitativo *in vitro* para la tipificación mediante ADN de los alelos HLA de clase I y de clase II. Los productos se utilizan en centros médicos por profesionales experimentados para determinar el fenotipo HLA. El material original que se analiza es el ADN.

RESUMEN Y DESCRIPCION

Normalmente, los antígenos leucocitarios humanos (HLA) se determinaban mediante la prueba de linfocitotoxicidad. Sin embargo, esta prueba ha sido sustituida por las técnicas de tipificación del ADN basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a causa de su tasa de error y la falta de resolución a nivel de alelo. En la mayoría de técnicas basadas en PCR, el proceso de PCR se utiliza únicamente como fase de amplificación del ADN diana y se requiere una fase de postamplificación para hacer distinciones entre los diferentes alelos. Por el contrario, en la metodología PCR-SSP (sequence-specific primer, SSP [cebador específico de secuencia]), la distinción entre los diferentes alelos se produce durante el proceso de PCR. Así se acorta y se simplifica la fase de postamplificación hasta una fase simple de detección mediante electroforesis en gel. Los resultados de la prueba SSP pueden ser positivos o negativos, con lo cual se elimina la necesidad de interpretación complicada de los resultados. Además, la resolución de tipificación de la PCR-SSP es mayor que la de otras técnicas de tipificación basadas en PCR, ya que cada par de cebadores define dos motivos secuenciales ubicados en *cis*, es decir, en el mismo cromosoma. Además, por la naturaleza sintética de los reactivos SSP, se ha mejorado la estabilidad y se ha reducido la variación de los lotes.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

La metodología PCR-SSP se basa en el principio de que los cebadores oligonucleótidos, totalmente o casi totalmente apareados sin malapareamientos del extremo 3', se utilizan de forma más eficaz en la PCR que los cebadores mal apareados a través de polimerasas de ADN termoestables sin propiedades correctoras. Los pares de cebadores están diseñados para aparearse con alelos simples o grupos de alelos, según el grado de resolución requerido para la tipificación. Con condiciones de PCR estrictamente controladas, los pares de cebadores apareados o casi totalmente apareados permiten que se produzca la amplificación, es decir, un resultado positivo, mientras los pares de cebadores no apareados no permiten que se produzca la amplificación, es decir, un resultado negativo.

Después del proceso de PCR, los fragmentos de ADN amplificado se separan por tamaños, p. ej. por electroforesis en gel de agarosa, se visualizan por tinción con

Bloq. Mención Estelino
Código de Control



bromuro de etidio y exposición a luz ultravioleta, se documentan por fotografía y se interpretan. La interpretación de los resultados de PCR-SSP se basa en la presencia o ausencia de producto/s de PCR específico/s. Los tamaños relativos del/de los producto/s de PCR específico/s pueden ser útiles para la interpretación de los resultados. La metodología PCR-SSP para HLA la describió por primera vez O. Olerup en 1991 y 1992^{1,2}.

5 6 5 6

Como el proceso de PCR puede verse afectado negativamente por varios factores (p. ej. errores de pipeteado, concentración de ADN demasiado baja, mala calidad del ADN, presencia de inhibidores de la PCR, exactitud del termociclador), se incluye un par de cebadores de control positivo interno en cada reacción de PCR². El par de cebadores de control positivo interno aparean regiones conservadas del gen de la hormona de crecimiento humano, que se encuentra en todas las muestras de ADN humano. Si hay un producto de PCR específico de un/os alelo/s de HLA, es posible que el producto de la banda de control positivo interno sea débil o no esté presente. Los amplicones generados por los pares de cebadores de HLA específicos son más cortos que los amplicones del par de cebadores de control positivo interno, aunque más largos que los cebadores no incorporados (véase *Valores previstos*).

REACTIVOS

A. Identificación

Los kits de tipificación Olerup SSP® contienen cebadores específicos de secuencia, optimizados previamente y secos para la amplificación por PCR de alelos HLA y del gen de la hormona de crecimiento humano, mezcla maestra de PCR con Taq polimerasa ("mezcla maestra"), sellados adhesivos de PCR y el prospecto del producto, que consta de las instrucciones de uso, información específica del lote y la hoja de trabajo.

Las soluciones del cebador se preparan previamente en alícuotas y se secan en varios pocillos de 0,2 mL de placas de PCR de paredes finas y cortadas. Cada pocillo de la placa contiene una solución de cebador seca compuesta por una mezcla específica de cebadores: cebadores de HLA específicos de grupos y alelos, así como un par de cebadores de control positivo interno apareados con secuencias no alélicas listos para la adición de la muestra de ADN, la mezcla maestra y H₂O.

Cada placa de tipificación de baja resolución (excepto la baja resolución de DQ) y combi incluye un pocillo de reacción de control negativo que detecta la presencia de productos PCR generados por más del 95% de los amplicones del HLA de clase I Olerup SSP®, DRB, DQB1 y DPB1, así como los amplicones generados por pares de cebadores de control positivo interno.

Los cebadores están diseñados para una amplificación de PCR óptima al utilizar la mezcla maestra y el programa del termociclador de ADN recomendado (véase *Programación del termociclador*).



Consulte las tablas provistas de especificidad e interpretación específicas del lote o la hoja de trabajo de los alelos HLA específicos amplificados por cada mezcla de cebadores.

5 6 5 6

B. Advertencias y precauciones

1. Para el diagnóstico *in vitro*.
2. Este producto no puede utilizarse como única base para tomar una decisión clínica.
3. **Advertencia de peligro biológico:** todos los productos sanguíneos deben tratarse como potencialmente infecciosos. Ningún método de prueba conocido puede ofrecer garantías de que los productos derivados de la sangre humana no transmiten agentes infecciosos.
4. **Advertencia de peligro biológico:** el bromuro de etidio utilizado para la tinción del ADN en la electroforesis en gel de agarosa es cancerígeno. Manipúlelo con un equipo de protección personal adecuado.
5. **Precaución:** utilice protección para los ojos contra UV y no mire directamente a la fuente de luz UV cuando examine o fotografíe geles.
6. Las pipetas y otros equipos utilizados para las manipulaciones **posteriores** a PCR **no** deben utilizarse para manipulaciones **previas** a PCR.
7. Para obtener más información, consulte la hoja de datos de seguridad del material (<http://www.olerup-ssp.com>).

C. Instrucciones de uso

Consulte más adelante el apartado *Instrucciones de uso*.

D. Instrucciones de almacenamiento

Almacene los componentes del kit en un lugar oscuro y a las temperaturas indicadas en las etiquetas de los envases.

Utilícelos antes de la fecha de caducidad impresa en las etiquetas de los envases.

E. Purificación o tratamiento requerido para el uso

Consulte más adelante el apartado *Instrucciones de uso*.

F. Indicaciones de inestabilidad

1. No utilice placas de cebadores con fisuras en las paredes o daños en el borde superior de los pocillos, ya que esto podría generar evaporación durante la amplificación por PCR. No utilice tiras de tapones PCR con fisuras, ya que esto podría generar evaporación durante la amplificación por PCR.
2. Los *pellets* de los pocillos deben ser rojos. Si hay una decoloración amarillenta en el *pellet*, puede indicar degradación.
3. La mezcla maestra debe ser de un color entre rojo y púrpura. Si hay una decoloración entre amarillo y naranja, puede indicar degradación.



5656

REQUISITOS DE LOS INSTRUMENTOS**A. Instrumento**

Debe utilizarse un termociclador con las especificaciones mínimas siguientes:

- Tapa térmica con una temperatura de 104 °C para una operación sin aceite.
- Bloque de muestras (aluminio, plata o plata bañada en oro) para utilizarse con una placa de PCR de 96 pocillos o tubos de reacción de paredes finas de 0,2 mL.
- Índice de aumento de temperatura de como mínimo 0,7 °C/s.
 Nota: Los kits de Olerup SSP son validados con el termociclador GeneAmp 9700 en modo 9600. Elevadas tasas de incremento de temperatura, mayores que las descritas, pueden tener efectos en los resultados de la tipificación.
- Intervalo de temperatura de 4,0 °C a 99,9 °C.
- Precisión de temperatura de $\pm 0,25$ °C en el intervalo de 35°C a 99,9 °C.
- Uniformidad de temperatura del bloque de muestras $\leq 0,75$ °C en el intervalo de 55°C a 95 °C.
- Calibración de la temperatura según un estándar de referencia (NIST).

Programa el termociclador según los parámetros del termociclador de PCR que se describen a continuación, en el apartado B.

Si desea obtener información específica del termociclador, consulte el manual de instrucciones del fabricante. Los termocicladores deben calibrarse de acuerdo con las normas de acreditación ASHI (American Society of Histocompatibility and Immunogenetics) o EFI (European Federation of Immunogenetics).

Programa el termociclador antes de abordar las instrucciones de uso que se describen más abajo.

B. Parámetros del termociclador de PCR

- | | | | | |
|----|------------------|-------|-------|-------------------------|
| 1. | 1 ciclo | 94 °C | 2 min | desnaturalización |
| 2. | 10 ciclos | 94 °C | 10 s | desnaturalización |
| | | 65 °C | 60 s | hibridación y extensión |
| 3. | 20 ciclos | 94 °C | 10 s | desnaturalización |
| | | 61 °C | 50 s | hibridación |
| | | 72 °C | 30 s | extensión |
| 4. | Final - mantener | | TA | si son menos de 8 horas |
| | 4 °C | | | si son más de 8 horas |

Volumen de reacción total en cada pocillo, 10 μ L.

Dr. Hernán Sialino
 Co-Dirección Técnica
 M.N. 7899
 CROMOGEN S.R.L.



Para todos los kits Olerup SSP® se utilizan los mismos parámetros de termociclador de PCR.

5 6 5 6

RECOGIDA Y PREPARACION DE MUESTRAS

Para tipificaciones SSP se necesita ADN extraído de alta pureza. Las muestras de ADN que se utilizarán para la tipificación de HLA por PCR-SSP deben volver a suspenderse en dH₂O. La relación A260/A280 debe ser de 1,6-2,0 por espectrofotometría UV para una visualización óptima de banda durante la electroforesis.

Recomendamos la extracción de ADN automática con el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN. Como material de inicio debe utilizarse sangre en ACD.

Como alternativa, el ADN puede extraerse mediante cualquier método por el cual se obtenga ADN puro. Si utiliza métodos alternativos, la concentración de ADN debe ajustarse a 30 ng/∞L. **No utilice sangre heparinizada con estos métodos.**

Concentración de ADN recomendada:

Si se utiliza ADN extraído por EZ1, 15 ng/∞L.

Si se utiliza ADN extraído por otros métodos,

30 ng/∞L.

Las concentraciones que superen los 50 ng/∞L aumentarán el riesgo de amplificaciones no específicas y bandas adicionales débiles, especialmente para tipificaciones SSP de alta resolución de HLA de clase I. En caso necesario, diluya el ADN extraído en dH₂O.

Las muestras de ADN no deben volver a suspenderse en soluciones que contengan agentes quelantes como EDTA, con una concentración superior a 0,5 mM.

Las muestras de ADN pueden utilizarse inmediatamente después de la extracción o almacenarse a +4 °C durante un máximo de 2 semanas sin que se produzcan efectos adversos en los resultados. Las muestras de ADN pueden conservarse a -20 °C o menos durante 9 meses. Antes de la tipificación de HLA, si las muestras de ADN extraído se han conservado durante un periodo largo deberá analizarse su pureza y concentración para comprobar si son aceptables.

Las muestras de ADN deben transportarse a +4 °C o menos para conservar su integridad durante el envío.

PROCEDIMIENTO

A. Materiales provistos

Blog. Hernán Stalino
Co-Dirección Técnica
M. N. 7309
CROCEM S.R.L.



Para el diagnóstico *in vitro*

IFU-01

N.º de rev.: 05

Marzo del 2013



1. Placas de cebadores Olerup SSP®.
2. Mezcla maestra (volumen adecuado para las placas del kit). Para todos los kits Olerup SSP® se utiliza la misma mezcla maestra.
3. Sellados adhesivos de PCR (cantidad adecuada para las placas del kit).
4. Prospecto del producto.

5 6 5 6

B. Materiales necesarios pero no provistos

1. Kit/equipo de aislamiento de ADN.
2. Espectrofotómetro UV.
3. Dispositivos de pipeteado. Recomendamos un dispensador electrónico de un canal que pueda dispensar alícuotas de 10 μ L para añadir la mezcla ADN-mezcla maestra-dH₂O en los pocillos de la placa.
4. Puntas de pipetas desechables.
5. Tubos de polipropileno.
6. Mezclador de vórtice.
7. Microcentrífuga.
8. Gradillas de placas PCR.
9. Termociclador con tapa térmica para PCR con formato para 96 pocillos, un gradiente de temperatura en todo el bloque calefactor $\leq 0,75$ °C y placa/retenedor para pocillos de reacción de paredes finas de 0,2 mL.
10. Horno microondas o placa caliente para calentar soluciones con agarosa.
11. Agarosa para electroforesis, como Seakem LE (FMC).
12. 0,5 x tampón de TBE; 1 x tampón de TBE es de 89 mM tris-borato, 2 mM de EDTA disódico, pH 8,0.
13. Frasco cuentagotas de bromuro de etidio, n.º de producto 103.301-10.
14. Dispositivo de pipeteado de carga de gel. Recomendamos una pipeta de 8 canales para la carga de gel, con un volumen ajustable de 5-25 μ L.
15. Marcador de peso molecular de ADN para cubrir un rango de 50-1.000 pb, p. ej. escalera de 100 pares de bases, N.º de producto de marcador de tamaño de ADN 103.202-100 o marcador de peso molecular de ADN para tiradas de gel cortas 103.203-100.
16. Equipo de electroforesis/alimentación eléctrica
17. Transiluminador UV.
18. Sistema de documentación de imágenes o fotográfico.

C. Procedimiento paso a paso

Consulte más adelante el apartado *Instrucciones de uso*.



INSTRUCCIONES DE USO

A. Preparación de la muestra

1. Purifique el ADN genómico de la muestra de leucocitos por el método elegido. Consulte *Recogida y preparación de muestras* más arriba.
2. Si desea obtener información específica sobre la preparación y conservación de muestras, consulte *Recogida y preparación de muestras* más arriba.
3. Realice la amplificación por PCR en una muestra de ADN purificada utilizando una placa de tipificación Olerup SSP®, o guarde la muestra de ADN hasta que esté lista para la tipificación.

B. Preparación del reactivo/equipo

1. Programe un termociclador para que lleve a cabo el programa PCR de Olerup SSP®; consulte *Requisitos de los instrumentos – Parámetros de termociclador de PCR* más arriba.
2. Prepare el gel para la electroforesis; consulte el apartado C **Preparación de la electroforesis en gel** más abajo.

C. Preparación de la electroforesis en gel

Para Olerup SSP® Gel System 96 (n.º de producto 103.101-01).

1. Instalación

- Nivele la cubeta para 1 gel (n.º de producto 103.101-31) o la cubeta para 3 geles (n.º de producto 103.101-33) mediante la burbuja de nivelación y las patas ajustables de tres alturas.
- Coloque la/s placa/s de gel en la cubeta.

2. Preparación del gel de agarosa al 2% (peso/volumen)

Utilice una agarosa para electroforesis de alta calidad, capaz de resolver 50-2.000 fragmentos de pares de bases de ADN.

- Al tampón de 5 mL de 10 x TBE (tris-borato EDTA), añada 150 mL de agua destilada y 2 g de agarosa en un frasco de vidrio de 500 mL.
- Disuelva la agarosa hirviéndola en un horno microondas hasta que se forme una solución homogénea de 100 mL.
- Deje que la solución del gel diluido se enfríe a 60 °C, p. ej. en un armario térmico.
- Tiña el gel antes del colado con bromuro de etidio (10 mg/mL), 5 µL por 100 mL de solución de gel. Para manipularlo con la máxima comodidad, utilice nuestros frascos cuentagotas de bromuro de etidio (n.º de producto 103.301-10). **Nota: el bromuro de etidio es cancerígeno. Manipúlelo con un equipo de protección personal adecuado.**
- Vierta 100 mL de solución de gel en la placa de gel de la cubeta. Coloque 6 peines de gel (n.º de producto 103.101-21) en las ranuras de la placa de gel.
- Deje que el gel se solidifique durante 15 minutos.

Blaiz Hernán Stalino
Dirección Técnica
M. N. 7839
LABORATORIO S.R.L.

Para el diagnóstico *in vitro*



5656

- Vierta 750 mL de tampón de 0,5 x TBE en el depósito de gel. Sumerja la placa de gel en la caja de gel y extraiga con cuidado los 6 peines de gel hacia arriba.

Si utiliza sistemas de electroforesis alternativos, siga las instrucciones del fabricante. Para utilizarlos con los kits de tipificación de HLA Olerup SSP®, estos sistemas deben poder resolver productos de PCR en un intervalo de 50 a 1.100 pares de base de tamaño.

D. Procedimiento paso a paso

1. Retire de la/s temperatura/s de almacenamiento indicada/s: la cantidad adecuada de muestras de ADN, la/s placa/s de cebadores y el volumen de mezcla maestra necesaria para la/s muestra/s de ADN o la/s placa/s de cebadores seleccionadas. Descongélalas a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C).

Para todos los kits Olerup SSP® se utiliza la misma mezcla maestra.

2. Mezcle brevemente la/s muestra/s de ADN por vórtice.
3. Coloque la/s placa/s de cebadores en un gradilla de placas PCR.

4. Kits de alta y baja resolución

- Agite en vórtice la mezcla maestra antes de tomar alícuotas.
- Utilice una pipeta manual de un canal, añada a temperatura ambiente la mezcla maestra y dH₂O en un tubo de 0,5 mL o 1,5 mL. (Consulte más abajo en la tabla 1 las cantidades adecuadas.)
- Tape el tubo y agítelo en vórtice durante 5 segundos. Pulse y gire el tubo en una microcentrífuga para que baje todo el líquido de las paredes del tubo.
- Kits de baja resolución: utilizando una pipeta manual de un canal, añada 8 µl de la mezcla de mezcla maestra y dH₂O y 2 µl de dH₂O en el pocillo de control negativo, es decir, el pocillo con los pares de cebadores de control negativo de la placa de cebadores.
- Utilizando una pipeta manual de un canal, añada la muestra de ADN a temperatura ambiente en la mezcla rgradilla de mezcla maestra y dH₂O. (Consulte más abajo en la tabla 1 las cantidades adecuadas.)
- Tape el tubo y agítelo en vórtice durante 5 segundos. Pulse y gire el tubo en una microcentrífuga para que baje todo el líquido de las paredes del tubo.
- Utilizando un dispensador electrónico de un canal, introduzca alícuotas de 10 µl de la muestra de mezcla de reacción en cada pocillo, excepto en el pocillo de control negativo de la placa de cebadores.
- Kits de alta resolución: utilizando una pipeta manual de un canal, añada la muestra de ADN a temperatura ambiente en la mezcla de mezcla maestra y dH₂O. (Consulte más abajo en la tabla 1 las cantidades adecuadas.)



- Tape el tubo y agítelo en vórtice durante 5 segundos. Pulse y gire el tubo en una microcentrífuga para que baje todo el líquido de las paredes del tubo.
- Utilizando un dispensador electrónico de un canal, introduzca alícuotas de 10 µl de la muestra de mezcla de reacción en cada pocillo.

5 6 5 6

Tabla 1: Volúmenes de los componentes necesarios por prueba para varios números de pocillos al utilizar una mezcla maestra que incluya Taq polimerasa.

N.º de pocillos por prueba	Volumen de mezcla maestra (µl)	Volumen de muestra de ADN (µl)	Volumen de dH ₂ O (µl)	N.º de pocillos por prueba	Volumen de mezcla maestra (µl)	Volumen de muestra de ADN (µl)	Volumen de dH ₂ O (µl)
2	12	8	20	25	87	58	145
3	15	10	25	26	90	60	150
4	18	12	30	27	93	62	155
5	21	14	35	28	96	64	160
6	24	16	40	29	99	66	165
7	27	18	45	30	102	68	170
8	30	20	50	31	105	70	175
9	33	22	55	32	108	72	180
10	36	24	60	36	126	84	210
11	39	26	65	40	138	92	230
12	42	28	70	44	150	100	250
13	45	30	75	48	162	108	270
14	48	32	80	52	174	116	290
15	51	34	85	56	186	124	310
16	54	36	90	60	198	132	330
17	60	40	100	64	210	140	350
18	63	42	105	68	228	152	380
19	66	44	110	72	240	160	400
20	69	46	115	76	252	168	420
21	72	48	120	80	264	176	440
22	75	50	125	84	276	184	460
23	78	52	130	88	288	192	480
24	81	54	135	92	300	200	500
				96	312	208	520

Los volúmenes recomendados de la lista anterior incluyen el volumen para compensar las variaciones de pipetas y para pérdidas de líquido dentro de las paredes de los tubos.

5. Kits Combi A-B-DR, A-B-C, A-B-DR-DQ y DPB1-DQ-DR
Kit de alta resolución HLA-C

- Agite en vórtice la mezcla maestra.
- Utilizando una pipeta manual de un canal, añada a temperatura ambiente 520 µl de dH₂O en el tubo de 1,5 mL provisto que contiene 312 µl de mezcla maestra.

f



[Handwritten signature]
 Director General de Salud Pública
 Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica
 Calle de Arce 37, 28002 Madrid, España
 Teléfono: +34 91 566 0900
 Fax: +34 91 566 0901
 E-mail: info@idre.isg.es



5 6 5 6

- Tape el tubo y agítelo en vórtice durante 5 segundos. Pulse y gire el tubo en una microcentrífuga para que baje todo el líquido de las paredes del tubo.
- Utilizando una pipeta manual de un canal, añada 8 µl de la mezcla de mezcla maestra y dH₂O y 2 µl de dH₂O en el pocillo de control negativo n.º 96, es decir, el pocillo con los pares de cebadores de control negativo.
- Utilizando una pipeta manual de un canal, añada 206 µl de la muestra de ADN a temperatura ambiente en la mezcla rgradilla de mezcla maestra y dH₂O.
- Tape el tubo y agítelo en vórtice durante 5 segundos. Pulse y gire el tubo en una microcentrífuga para que baje todo el líquido de las paredes del tubo.
- Utilizando un dispensador electrónico de un canal, introduzca alícuotas de 10 µl de la muestra de mezcla de reacción en cada pocillo, excepto en el pocillo de control negativo n.º 96 de la placa de cebadores.

Importante:

Asegúrese de aplicar a la muestra anterior los cebadores (secados en el fondo de cada pocillo de la placa de cebadores) para evitar la contaminación cruzada entre pocillos. Toque la pared interna del pocillo con la punta de la pipeta para permitir que la muestra se deslice hasta el fondo del pocillo. Compruebe que todas las muestras han caído hasta el fondo de cada pocillo. Si no es así, toque suavemente la placa en la parte superior del banco para que todas las muestras se depositen en el fondo del pocillo antes de iniciar la PCR.

6. Cubra la/s placa/s de cebadores con los sellados adhesivos de PCR provistos. Compruebe que todos los pocillos de reacción queden totalmente cubiertos para evitar la pérdida por evaporación durante la amplificación por PCR. Puede aplicarse la almohadilla de compresión Olerup SSP® (n.º de producto 103.505-06) encima de los sellados adhesivos de PCR para evitar la evaporación durante el termociclado.
7. Coloque la/s placa/s de cebadores en el termociclador con un adaptador adecuado entre tubo y placa. No deje que pasen más de 5 minutos entre la instalación de PCR y el termociclado.
8. Introduzca el número de programa de Olerup SSP®. Especifique un volumen de reacción de 10 µl.
9. Inicie el programa PCR. El programa dura aproximadamente 1 hora y 20 minutos.
10. Extraiga la/s placa/s de cebadores del termociclador. Examine la placa de PCR para asegurarse de que hay aproximadamente el mismo volumen de líquido en cada pocillo de PCR. Someta a electroforesis las muestras; consulte más abajo el apartado E, *Electroforesis en gel*. Interprete los resultados de tipificación con las **tablas de especificidad e interpretación específicas del lote o la hoja de trabajo**; consulte **Valores previstos** más abajo.

**E. Electroforesis en gel**

1. Una vez completada la reacción PCR, disponga la placa de cebadores y la cubeta de gel. El orden de los pocillos va de izquierda a derecha y de arriba abajo.
2. Retire con cuidado el sellado PCR sin salpicar los productos de PCR.
3. Cargue los productos de PCR en la secuencia para el gel de agarosa al 2%. (No es necesario añadir tampón de carga de gel.) Para la carga del gel se recomienda utilizar una pipeta de 8 canales.
4. Cargue un marcador de peso molecular de ADN (escalera de 100 pares de bases, n.º de producto del marcador de peso molecular de ADN 103.202-100 o del marcador de peso molecular de ADN para tiradas de gel cortas 103.203-100) en un pocillo por fila.
5. Tape la caja de gel con su tapa.
6. Someta al gel a electroforesis en tampón de 0,5 x TBE, sin recirculación del tampón, durante 15-20 minutos a 8-10 V/cm.
7. Pase la placa de gel con gel a un transiluminador UV.
8. Fotografíe el gel con o sin la placa de gel.
9. Marque la fotografía según las normas del laboratorio.

5 6 5 6

CONTROL DE CALIDAD

Las directrices ASHI para la prueba de HLA indican que debe incluirse un pocillo de control negativo (contaminación) en cada instalación de PCR. (Normas para laboratorios acreditados, American Society for Histocompatibility and Immunogenetics, normas revisadas definitivas aprobadas por el consejo de administración de ASHI: 31 de agosto de 2007, versión final de la guía de enero de 2008). Se incluye un pocillo de control negativo en los kits de baja resolución de HLA-A, HLA-B, HLA-C y DR, los kits de alta resolución de HLA-C para alelos frecuentes y de alta resolución de DQB1 para alelos frecuentes y en los kits de placa Combi A-B-DR, A-B-C, A-B-DR-DQ, DPB1-DQ-DR y DQ-DR y en los kits de DQA1*02,05;DQB1*02,03:02 y HLA-B*57:01.

Consulte *Interpretación del gel* en la página 14.

RESULTADOS

Con cada kit se proporcionan hojas de validación de líneas celulares específicas del lote y certificado de análisis.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. El proceso PCR-SSP requiere condiciones de prueba altamente controladas para garantizar una amplificación discriminatoria adecuada. Debe seguirse estrictamente el procedimiento descrito en *Instrucciones de uso*.
2. La muestra de ADN extraído es el patrón para el proceso de amplificación por PCR específico. El ADN purificado debe tener una relación A260/A280 entre 1,6 y 2,0 para obtener una visualización óptima de las bandas por electroforesis.



656

3. Todos los instrumentos, como el termociclador, dispositivos de pipeteado, etc., deben calibrarse de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.
4. En el prospecto del producto se proporciona información específica del lote: *Información específica del lote*, y en la hoja de trabajo específica del lote.
5. Basándose en la prueba realizada, se evaluaron las sustancias siguientes con tres (3) métodos de extracción a las concentraciones de la lista y no influyeron en la realización de la prueba.

Método de extracción	Sustancias que interfieren	Concentración de interferencia*
Sistema EZ1 DSP DNA Blood	Bilirrubina	200 mg/L
	Hemoglobina	200 g/L
	Triglicéridos	30 g/L
	Proteínas	110 g/L
Kit QIAamp DSP DNA Blood	Bilirrubina	200 mg/L
	Hemoglobina	200 g/L
	Triglicéridos	18,2 g/L
	Proteínas	77 - 96 g/L
Método Gentra PureGene	Bilirrubina	200 mg/L
	Hemoglobina	200 g/L
	Triglicéridos	18,2 g/L
	Proteínas	119-146 g/L

6. Las placas de PCR son compatibles con la mayoría de termocicladores del mercado. Vea más abajo la tabla de compatibilidad de los termocicladores. La tabla pretende ser solamente una guía.

5656

Tabla de compatibilidad		
Fabricante	Termociclador	
Biometra	Uno	+
	Uno II	+
	Tpersonal Cyclor	-
	T1 Thermocycler	+
	T3 Thermocycler	-
	TGradient	+
	TRobot	+
Bio-Rad	Genecycler	-
	iCycler™	+
	MyCycler	+
Corbett Research	Palm Cyclor™	-
Eppendorf	Mastercycler® Gradient	+
	MasterCycler EP Gradient	+
	M384	-
Ericomp	SingleBlock System	+
	TwinBlock System	+
	Deltacyclor I	+
ThermoHybaid	PCR Sprint	-
	PCR Express, Px2, PxE	+
	MultiBlock System and MBS®	+
	Touchdown	+
	Omnigene	+
MJ Research™	Omn-E	+
	PTC-200 DNA Engine™	+
	PTC-225/220/221 DNA Tetrad™/ Dyad™	+
MWG	PTC-100™ with 96-well block	+
	Primus 96	+
	Primus 384	-
ABI	TheQ Lifecyclor™	+
	GeneAmp® 2400	-
	Geneamp® 2700\2720	+
	Geneamp® 9600	+
	Geneamp® 9700	+
Stratagene	Geneamp® 9800 FAST Block	-
	Robocyclor	+
Takara	TP 240	-
	TP 3000	+
Techne	TC-412/512	+
	Touchgene Gradient	+
	Flexigene	+
	Genius	+
G-Storm	GS1/GS4/GSX	-

VALORES PREVISTOS

IFU-01
 N.º de rev.: 05
 Marzo del 2013



Fioq. Hernán Stalino
 Co-Dirección Técnica
 M. N. 7809
 PROMCION S.R.L.
 Para el diagnóstico *in vitro*

**A. Análisis de los datos**

Examine meticulosamente la fotografía del gel y determine los carriles positivos.

1. Si se amplificaron alelos de HLA específicos, en un carril de gel se observará una banda más corta y de migración más rápida. Esto indica un resultado de la prueba positivo.
 - a. Registre la presencia y la ausencia de productos de PCR específicos.
 - b. Es útil monitorizar las longitudes correspondientes de los productos de PCR específicos según los prospectos de los productos específicos del lote al interpretar los resultados del gel. Varios carriles tienen dos o más longitudes posibles de productos de PCR específicos. Estos pocillos contienen varios pares de cebadores que generan productos de PCR de varios tamaños según el/los alelo/s de HLA de la muestra de ADN.
 - c. Haga corresponder el patrón de carriles de gel con productos de PCR específicos con la información de las tablas de especificidad e interpretación específicas del lote para obtener la tipificación de HLA de la muestra de ADN.
2. Debe ver una banda de control positivo interno, de migración más lenta y más larga, en todos los carriles de gel excepto en el carril de gel de control negativo, como un control de una amplificación correcta. Es posible que la banda de control positivo interno sea débil o no se encuentre en los carriles de gel positivos.
 - a. Registre la presencia y las longitudes correspondientes de las bandas de control positivo interno. Las bandas de control de diferentes tamaños ayudarán en la orientación correcta de la tipificación, así como en la identificación de kits.
 - b. La ausencia de banda de control positivo interno sin un producto de PCR específico indica una reacción PCR fallida.
 - i. Si pueden determinarse alelos de HLA en presencia de reacción/es PCR fallida/s y esta/s no cambian la asignación de los alelos, no será necesario repetir la prueba.
 - ii. Si, no obstante, la/s reacción/es PCR fallida/s pueden cambiar la asignación de alelos de HLA, deberá repetirse la tipificación.
3. La presencia de productos de PCR específicos o banda de control positivo interno en el/los carril/es de control negativo indica la contaminación con producto/s de PCR e invalida todos los resultados de la prueba. En el/los carril/es de control negativo pueden observarse oligómeros de cebadores con un tamaño entre 40 y 60 pares de bases. Esto no constituye una contaminación.

5 6 5 6



5656

B. Interpretación del gel

	Reacción positiva	Reacción negativa	Fallo en la reacción PCR
Pocillo			
Banda de control positivo interno			
Banda específica			
Banda del cebador			

1. Debe hacerse pasar un marcador de peso molecular de ADN (escalera de 100 pares de bases, n.º de producto del marcador de peso molecular de ADN 103.202-100 o del marcador de peso molecular de ADN para tiradas de gel cortas 103.203-100) en un pocillo por fila del gel o siguiendo las directrices de acreditación del laboratorio local.
2. Pueden obtenerse bandas más largas que la banda de control positivo interno y estas deben descartarse en la interpretación de los resultados de tipificación.
3. Los cebadores no utilizados formarán una banda difusa más corta que 50 pares de bases.
4. Pueden observarse artefactos de oligómeros en los cebadores. Estos son más largos que la banda del cebador, aunque más cortos que las bandas específicas.

CARACTERISTICAS ESPECIFICAS DEL FUNCIONAMIENTO

Control de calidad del lote del kit

Cada solución de cebadores se prueba en comparación con un panel de 48 muestras de ADN de líneas celulares caracterizadas en pocillos del IHWC; consulte la/s hoja/s de validación de líneas celulares específicas del lote en el prospecto del producto, información específica del lote.

Estudio 1 comparativo de métodos

Fue un estudio multicéntrico en el que se evaluó la concordancia del kit de tipificación de HLA de baja resolución DR Olerup SSP® y la placa de tipificación de ADN de HLA One Lambda Micro SSP™ en tres laboratorios clínicos de los Estados Unidos.



5656

Los resultados de tipificación analizados del kit de tipificación de baja resolución DR Olerup SSP® y de la placa de tipificación de ADN de HLA One Lambda Micro SSP™ mostraron una concordancia del 98,4% (123/125; IC del 95%: 94,3-99,8) al considerar discordantes dos resultados ambiguos de Olerup. La concordancia fue del 100% (123/123; IC del 95%: 97,1-100) cuando en el análisis no se incluyeron los resultados ambiguos de Olerup, reflejo de la práctica clínica normal.

Estudio 2 comparativo de métodos

Este estudio se diseñó para demostrar la concordancia de los resultados de tipificación de baja resolución de alelos de HLA (A, B, C, DQ) obtenidos con los kits de tipificación de HLA en investigación Olerup SSP® y los kits de referencia One Lambda LABType SSO. Se recogieron muestras de sangre total en ACD de 95 sujetos distribuidos en 3 centros clínicos de los Estados Unidos. Se extrajo el ADN y se analizó el ADN purificado resultante con el método de HLA en investigación Olerup SSP® y el de referencia One Lambda LabType SSO.

La concordancia global en alelos de clase I fue del 99,6% (278/279; IC del 95%: 98,0 - 100). En alelos de clase II, la concordancia fue del 100% (94/94; IC del 95%: 96,2 - 100).

Tabla 1

Concordancia global de los resultados de Olerup SSP® y One Lambda SSO para alelos de clase I y de clase II.

Locus de HLA	Total	
	n/N	% concordancia (IC del 95%)
A	95 / 95	100 (96,2 - 100)
B	90 / 90	100 (96,0 - 100)
C	93 / 94	98,9 (94,2 - 100)
Todos los locus clase I	278 / 279	99,6 (98,0 - 100)
Locus clase II (DQ)	94 / 94	100 (96,2 - 100)

Estudio de reproducibilidad de resultados del kit

En este estudio se compararon los resultados de tipificación HLA de Olerup SSP® entre tres laboratorios de análisis de HLA utilizando un panel de



5656

muestras de ADN caracterizadas en 10 pocillos cuyos resultados de concordancia se incluyen en el banco de ADN de HLA UCLA para HLA de clase I (A, B y C), alelos comunes de clase II (DRB1*, DRB3*/DRB4*/DRB5* y DQB1*) y los alelos de clase II investigados con menos frecuencia (DQA1*, DPA1* y DPB1*).

Tabla 2: Resumen de los resultados de los estudios de reproducibilidad del kit de HLA Olerup SSP®

Tipo de alelo HLA	% de precisión de tipificación n/N	
	Intervalo de conf. del 95% (LL, UL)	
	Resultado ambiguo considerado discordante	Resultado ambiguo considerado como indeterminado y excluido del análisis
Clase I baja resolución (A y B combinados)	98,3 (59/60) 91,1, 100	100 (59/59) 93,9, 100
Clase I alta resolución (A, B y C combinados)	94,7 (142/150) 89,8, 97,7	98,6 (142/144) 95,1, 99,8
Clase II baja resolución (DRB1* y DRB3*/DRB4*/DRB5*)	100 (60/60) 94,0, 100	100 (60/60) 94,0, 100
Clase II alta resolución - Alelos comunes (DRB1*, DRB3*/DRB4*/DRB5* y DQB1*)	98,3 (118/120) 94,1, 99,8	100 (118/118) 96,9, 100
Clase II alta resolución Alelos investigados con menos frecuencia (DQA1*, DPA1* y DPB1*)	83,3 (75/90) 74,0, 90,4	86,2 (75/87) 77,2, 92,7

En este estudio se utilizó un panel de diez (10) muestras de DNA con resultados de tipificación de HLA caracterizado en pocillos.

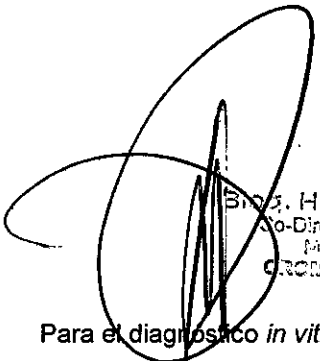


5656

Las concordancias inferiores observadas para los alelos de alta resolución y clase II investigados con menos frecuencia reflejan la mayor incertidumbre en los "resultados de concordancia" de las muestras de ADN UCLA, teniendo en cuenta la información de secuencia incompleta disponible para los alelos DQA1*, DPA1* y DPB1*. Para 9 de los 11 resultados discordantes observados durante el estudio de reproducibilidad (una determinación de DQA1*0505 por Olerup SSP® frente a "tipificación concordante" de DQA1*0501), los tres centros de análisis lograron el mismo resultado, lo que indica el funcionamiento concordante del kit DQA1* Olerup.

BIBLIOGRAFÍA

1. Olerup O, Zetterquist H. HLA-DRB1*01 subtyping by allele-specific PCR-amplification: A sensitive, specific and rapid technique. *Tissue Antigens* 1991; **37**: 197-204.
2. Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: An alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantations. *Tissue Antigens* 1992; **39**: 225-235.
3. Los alelos de HLA actuales pueden encontrarse en:
 - a. <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla> o
 - b. <http://www.anthonynolan.org.uk/HIG>


Sr. Hernán Sialino
Co-Dirección Técnica
M. N. 7839
CRONOMETRÍA S.A.S.

CE
0088

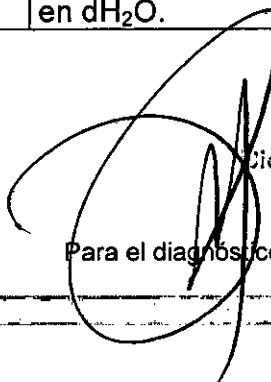
Para el diagnóstico *in vitro*

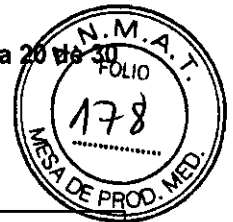


RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Problema	Motivo	Acción
No hay amplificación (ni amplificación de los fragmentos de control interno ni amplificaciones específicas).	Poca cantidad de ADN.	Mida la concentración de ADN y compruebe si la cantidad añadida es correcta. La contaminación de ARN puede provocar una sobrestimación espectrofotométrica de la concentración de ADN. Repita la extracción de ADN con cuidado con soluciones recién preparadas. Recomendamos la extracción de ADN automática con el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN.
	El ADN contiene inhibidores de la PCR, como proteínas, etanol (de los pasos de precipitación), matrices rgradillas de productos de la purificación de ADN en fase sólida.	Mida la calidad del ADN. Recomendamos una relación A260/A280 de 1,6-2,0 por espectrofotometría UV. Siga estrictamente el protocolo de extracción de ADN de los distribuidores. Vuelva a extraer el ADN. Recomendamos la extracción de ADN automática con el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN.
	El ADN se ha extraído de sangre heparinizada.	Utilice sangre no heparinizada o protocolos de extracción de ADN para sangre heparinizada.
	El ADN se disuelve en un tampón que contiene EDTA.	Repita la extracción de ADN y disuelva el ADN en dH ₂ O.

5 6 5 6


Bioq. Hernán Sialino
Co-Dirección Técnica
M. N. 7589
CROCIÓN S.R.L.
Para el diagnóstico *in vitro*



Problema	Motivo	Acción
Continuación: No hay amplificación (ni amplificación de los fragmentos de control interno ni amplificaciones específicas).	Introducción accidental de lejía en la prueba.	Revise las zonas en las que se haya podido introducir lejía.
	Los kits no se conservan a una temperatura adecuada.	Conserve los kits a -20°C.
	El termociclador no funciona correctamente.	Calibre el termociclador y compruebe el programa de PCR. Un termociclador utilizado para la tipificación PCR-SSP de rutina debe calibrarse cada 6-12 meses.
	Contacto incorrecto entre el bloque calefactor del termociclador y la placa de tipificación SSP.	Utilice una placa o un retenedor adecuados para pocillos de reacción de paredes finas de 0,2 mL; consulte el manual del termociclador.
Fallo ocasional de la amplificación (caídas).	Los sellados o tapas de tubos PCR que no estén bien cerrados provocarán la evaporación y, en consecuencia, fallos en la amplificación.	Asegúrese de que los sellados y tapas PCR están bien cerrados. Puede aplicarse la almohadilla de compresión Olerup SSP® (n.º de producto 103.505-06) encima de los sellados adhesivos de PCR para evitar la evaporación durante el termociclado.
	Errores de carga de gel.	Compruebe que se ha cargado la cantidad de pocillos correcta y que cada pocillo contiene aproximadamente el mismo volumen de mezcla PCR.
	Uso de pipetas no calibradas.	Calibre todas las pipetas de forma habitual de acuerdo con las recomendaciones del proveedor.
	Errores de pipeteado.	Realice el pipeteado con más cuidado.

5 6 5 6



5656

	<p>La mezcla maestra y la muestra de ADN no se han mezclado bien antes del uso.</p>	<p>Mézclelas brevemente en vórtice antes de su uso. Recomendamos agitar en vórtice cada fila.</p>
	<p>Se ha añadido un volumen desigual de mezcla maestra y ADN en los pocillos.</p>	<p>Realice el pipeteado con más cuidado.</p>

f

IFU-01
 N.º de rev.: 05
 Marzo del 2013



[Handwritten Signature]
 Blvd. Hernán Stalino
 Dirección Técnica
 Tel. N.º 7809
 MESA DE PROD. MED. S.R.L.
 Para el diagnóstico *in vitro*



5 6 5 6

Problema	Motivo	Acción
Fragmentos de control interno débiles.	ADN impuro.	Mida la calidad del ADN. La relación A260/A280 debe ser de 1,6-2,0 por espectrofotometría UV. La contaminación del ARN puede provocar una sobrestimación espectrofotométrica de la concentración de ADN. El ADN degradado hace surgir manchas en los carriles de gel. Repita la extracción de ADN con cuidado con soluciones recién preparadas. Recomendamos la extracción de ADN automática con el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN.
	Poca cantidad de ADN.	Mida la concentración de ADN y ajústela a 30 ng/µl o 15 ng/µl para ADN extraído por el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN. La contaminación del ARN puede provocar una sobrestimación espectrofotométrica de la concentración de ADN. El ADN degradado hace surgir manchas en los carriles de gel. Repita la extracción de ADN con cuidado con soluciones recién preparadas. Recomendamos la extracción de ADN automática con el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN.



5 6 5 6

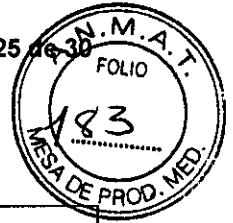
Problema	Motivo	Acción
Continuación: Fragmentos de control interno débiles.	Temperatura de hibridación demasiado alta, el termociclador no está calibrado.	Calibre el termociclador y compruebe el programa de PCR. Un termociclador utilizado para la tipificación PCR-SSP de rutina debe calibrarse cada 6-12 meses.
	La mezcla maestra de PCR se ha conservado a +4 °C durante más de 2 semanas.	Conserve la mezcla maestra de PCR a -20°C.

Amplificación no específica (escaleras o manchas).	Uso de una muestra de ADN excesiva.	Mida la concentración de ADN y ajústela a 30 ng/µl o 15 ng/µl para ADN extraído por el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN. Algunas soluciones de cebadores tienen una mayor tendencia a generar amplificación no específica; vea las notas al pie de cada tabla de especificidad específica del lote.
	ADN impuro.	En la interpretación de los resultados obtenidos, deben descartarse todos los fragmentos mayores que el fragmento de control interno. Compruebe la calidad del ADN. Repita la extracción de ADN. Recomendamos la extracción de ADN automática con el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN. Algunas soluciones de cebadores tienen una mayor tendencia a generar amplificación no específica; vea las notas al pie de cada tabla de especificidad específica del lote.



5 6 5 6

Problema	Motivo	Acción
Señales de amplificación cada vez más débiles al cabo del tiempo.	La solución de tinción de gel de agarosa con bromuro de etidio es vieja.	Prepare una nueva solución de bromuro de etidio para conseguir una mejor tinción del gel de agarosa y una mejor señal. Las nubes de los cebadores son fáciles de detectar si la tinción del gel de agarosa es normal.
	Una de las lámparas UV está rota.	Compruebe el equipo de iluminación UV. Las nubes de los cebadores son fáciles de detectar si la iluminación UV es normal.
	Se ha utilizado una muestra de ADN demasiado pequeña.	Mida la concentración de ADN y ajústela a 30 ng/µl o 15 ng/µl para ADN extraído por el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN.
	Temperatura de hibridación demasiado alta, el termociclador no está calibrado.	Calibre el termociclador y compruebe el programa de PCR. Un termociclador utilizado para la tipificación PCR-SSP de rutina debe calibrarse cada 6-12 meses.
Patrones de amplificación extraños.	Se utiliza una tabla u hoja de trabajo de interpretación específica del lote incorrecta.	Compruebe el número de lote del producto utilizado y la hoja de trabajo o tabla de interpretación utilizada.
	Orden incorrecto en la carga de gel.	Compruebe la alineación de mezclas y carriles de gel.
	El patrón de amplificación contiene un falso positivo.	Véase a continuación.
	El patrón de amplificación contiene un falso negativo.	Véase a continuación.



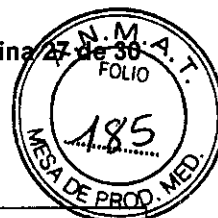
Problema	Motivo	Acción
Amplificaciones de falsos positivos.	Contaminación del ADN.	Utilice guantes, puntas de pipeta con barreras (tapones de filtro) y espacios separados para la manipulación previa a la PCR y la posterior a la PCR. Asegúrese de manipular con cuidado todas las muestras en cada paso. Compruebe la presencia de contaminación con un kit de contaminación Olerup SSP® (Wipe Test kit).
	ADN impuro.	Mida la calidad del ADN. Siga estrictamente el protocolo de extracción de ADN de los distribuidores. Pruebe otros sistemas de extracción de ADN. Vuelva a extraer el ADN. Recomendamos la extracción de ADN automática con el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN.
	Uso de una muestra de ADN excesiva.	Mida la concentración de ADN y ajústela a 30 ng/μl o 15 ng/μl para ADN extraído por el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN.
	Temperatura de hibridación muy baja.	Calibre el termociclador y compruebe el programa de PCR. Un termociclador utilizado para la tipificación PCR-SSP de rutina debe calibrarse cada 6-12 meses.
	Demasiado tiempo transcurrido entre la instalación de PCR y el inicio del termociclado.	No debe permitirse un retraso superior a 5 minutos antes del termociclado.
	Mucho tiempo transcurrido entre la colocación de las placas de tipificación en el termociclador y el inicio del termociclado.	Utilice un termociclador precalentado.

5 6 5 6



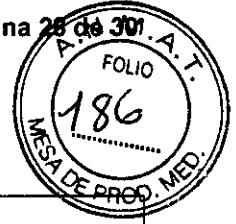
5 6 5 6

Problema	Motivo	Acción
Continuación: Amplificaciones de falsos positivos.	Uso de bromuro de etidio excesivo.	Utilice la cantidad recomendada de bromuro de etidio.
	Interpretación incorrecta de un artefacto como una banda específica.	Compruebe la tabla u hoja de trabajo de interpretación específica del lote y la tabla de especificidad para el tamaño de banda correcto y las notas al pie.
	El patrón de amplificación contiene un falso positivo.	Compruebe si todas las amplificaciones específicas tienen el tamaño adecuado o si se ha malinterpretado como amplificación un artefacto (arrastre de muestra, dímero del cebador).
	Orden incorrecto en la carga de gel.	Compruebe la alineación de mezclas y carriles de gel.
Amplificaciones de falsos negativos.	El termociclador no está bien calibrado.	Calibre el termociclador y compruebe el programa de PCR. Un termociclador utilizado para la tipificación PCR-SSP de rutina debe calibrarse cada 6-12 meses. Si no se corrige con la recalibración, vuelva a tipificar la prueba con una muestra de referencia de la misma especificidad. Si se confirma la negatividad, póngase en contacto con el departamento de atención al cliente.
	Orden incorrecto en la carga de gel.	Compruebe la alineación de mezclas y carriles de gel.



5 6 5 6

Problema	Motivo	Acción
Problemas generales con el gel (geles borrosos y/o carriles manchados).	Muestra de ADN degradado.	Aparece una mancha en los carriles de gel. Aísle el ADN de una muestra reciente.
	Muchas estrías en algunos pocillos.	Suspensiones irregulares de ADN. Asegúrese de que la muestra de ADN esté disuelta antes de tomar una alícuota. Agite en vórtice la muestra de ADN diluido.
	El producto de PCR ha rebasado los bordes del pocillo.	Alinee cuidadosamente las puntas de pipeta con los pocillos de gel y dispense lentamente.
	Es posible que el tampón de electroforesis esté demasiado caliente.	Prepare un nuevo tampón de TBE. Hágalo circular a un voltaje más bajo.
	Se ha utilizado un porcentaje incorrecto de gel de agarosa.	Asegúrese de que utiliza el gel de agarosa al 2% recomendado.
	La agarosa no se ha disuelto totalmente.	Vuelva a hervirla brevemente para que se funda la agarosa.
	Concentración de TBE incorrecta.	Utilice la concentración de 0,5 x TBE recomendada.
	Geles colados hace poco.	Los geles no están listos para usarse hasta pasados 15 minutos desde el colado.
	Geles demasiado viejos.	No cuele los geles demasiado pronto.
	El peine de gel utilizado tiene ranuras demasiado gruesas.	Utilice peines finos (4 x 1 mm).
	La placa de gel no es transparente a UV.	Extraiga el gel de la placa antes de visualizarlo.
	Fotografía de gel demasiado brillante.	Uso de bromuro de etidio excesivo. Compruebe la configuración de la cámara.
	Fotografía de gel demasiado oscura.	Utilice la cantidad recomendada de bromuro de etidio. Compruebe la configuración de la cámara.



Problema	Motivo	Acción
Problemas generales con falsos negativos en la amplificación o problemas dependientes test-a-test de cualquier naturaleza.	Tasa de incremento de temperatura demasiado alta.	Los kits de Olerup SSP son validados con el termociclador GeneAmp 9700 en modo 9600. Elevadas tasas de incremento de temperatura, mayores que las descritas, pueden tener efectos en los resultados de la tipificación.

5 6 5 6

**MARCAS COMERCIALES UTILIZADAS EN ESTE DOCUMENTO/PRODUCTO**

Olerup SSP® es una marca comercial registrada de Olerup SSP AB.

Qiagen™ es una marca comercial de QIAGEN.

GARANTIA

Olerup SSP AB garantiza al comprador original que sus productos no presentan defectos de material o de mano de obra si se utilizan y aplican de forma normal. La única obligación de Olerup SSP AB de acuerdo con esta garantía será cambiar, sin ningún coste, cualquier producto que no cumpla los niveles de funcionamiento indicados en la hoja de especificación del producto.

Esta garantía es válida únicamente para productos que se hayan manipulado y almacenado de acuerdo con las recomendaciones de Olerup SSP AB y no sirve para productos que hayan sido objeto de alteración, abuso o uso indebido.

Todas las reclamaciones amparadas por esta garantía deben dirigirse a Olerup SSP AB por escrito y deben ir acompañadas de una copia de la factura del comprador. Esta garantía reemplaza cualquier otra garantía, expresa o implícita, incluidas las garantías de comerciabilidad e idoneidad para un fin concreto. En ningún caso se responsabilizará a Olerup SSP AB de daños accidentales o consecuentes.

Este producto no puede reformularse, reenvasarse o revenderse de ningún modo sin el consentimiento por escrito de Olerup SSP AB, Franzengatan 5, SE-112 51 Stockholm, Suecia.

Manipule todas las muestras como posibles transmisoras de enfermedades. Todas las tareas deben llevarse a cabo con guantes y la protección adecuada.

CERTIFICADO DE GARANTIA

Olerup SSP AB garantiza que los cebadores de las placas de tipificación Olerup SSP® tienen las especificidades indicadas en la hoja de trabajo y las tablas de interpretación y especificidad específica del lote del prospecto del producto.

Si se conservan a -20 °C, los cebadores secos se mantienen estables durante 30 meses a partir de la fecha de fabricación.

Si se conservan a -20 °C, la mezcla maestra de PCR con Taq polimerasa se mantiene estable durante 33 meses a partir de la fecha de fabricación.

Bico, Hernán Stalino
Co-Dirección Técnica
M. N. 7859
CRONCION S.R.L.



5656

DIRECCIONES:

Fabricante:

Olerup SSP AB, Franzengatan 5, SE-112 51 Stockholm, Sweden.

Tel.: +46-8-717 88 27

Fax: +46-8-717 88 18

Correo electrónico: info-ssp@olerup.com

Sitio web: <http://www.olerup-ssp.com>

Distribuido por:

Olerup GmbH, Löwengasse 47 / 6, AT-1030 Viena, Austria.

Tel.: +43-1-710 15 00

Fax: +43-1-710 15 00 10

Correo electrónico: support-at@olerup.com

Sitio web: <http://www.olerup.com>

Olerup Inc., 901 S. Bolmar St., Suite R, West Chester, PA 19382

Tel.: 1-877-OLERUP1

Fax: 610-344-7989

Correo electrónico: info.us@olerup.com

Sitio web: <http://www.olerup.com>

Para obtener información sobre los distribuidores de Olerup SSP a nivel mundial, póngase en contacto con Olerup GmbH.

Bioq. Hernán Stalino
Co-Dirección Técnica
M. N. 7859
CROMCIÓN S.R.L.



Para el diagnóstico *in vitro*



Olerup SSP® Instrucciones de uso

5656

Para diagnóstico *in vitro*

APLICACIONES

Los kits de tipificación de HLA Olerup SSP® son equipos de diagnóstico cualitativo *in vitro* para la tipificación mediante ADN de los alelos HLA de clase I y de clase II. Los productos son utilizados en centros médicos por profesionales experimentados para determinar el fenotipo HLA. El material original que se analiza es el ADN.

RESUMEN Y DESCRIPCIÓN

Habitualmente, los antígenos leucocitarios humanos (HLA) se determinaban mediante la prueba de linfocitotoxicidad. Sin embargo, esta prueba ha sido sustituida por las técnicas de tipificación del ADN basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a causa de su tasa de error y la falta de resolución a nivel de alelo. En la mayoría de técnicas basadas en PCR, el proceso de PCR se utiliza únicamente como fase de amplificación del ADN diana y se requiere una fase de postamplificación para hacer distinciones entre los diferentes alelos. Por el contrario, en la metodología PCR-SSP (sequence-specific primer – SSP [cebador específico de secuencia]), la distinción entre los diferentes alelos se produce durante el proceso de PCR. Así se acorta y se simplifica la fase de postamplificación hasta una fase simple de detección mediante electroforesis en gel. Los resultados de la prueba SSP pueden ser positivos o negativos, con lo cual se elimina la necesidad de una interpretación complicada de los resultados. Además, la resolución de tipificación de la PCR-SSP es mayor que la de otras técnicas de tipificación basadas en PCR, ya que cada par de cebadores define dos motivos secuenciales ubicados en *cis*, es decir, en el mismo cromosoma. Además, por la naturaleza sintética de los reactivos SSP, se ha mejorado la estabilidad y se ha reducido la variación entre lotes.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

La metodología PCR-SSP se basa en el principio de que los cebadores oligonucleótidos, total o casi totalmente apareados sin malapareamientos del extremo 3', se utilizan de forma más eficaz en la PCR que los cebadores mal apareados a través de polimerasas de ADN termoestables sin propiedades correctoras. Los pares de cebadores están diseñados para aparearse con alelos simples o grupos de alelos, según el grado de resolución requerido para la tipificación. Con condiciones de PCR estrictamente controladas, los pares de cebadores apareados o casi totalmente apareados permiten que se produzca la amplificación, es decir, un resultado positivo, mientras los pares de cebadores mal apareados no permiten que se produzca la amplificación, es decir, un resultado negativo.

Después del proceso de PCR, los fragmentos de ADN amplificado se separan por tamaños, p. ej. por electroforesis en gel de agarosa, se visualizan por tinción con



5 6 5 6

bromuro de etidio y exposición a luz ultravioleta, se documentan por fotografía y se interpretan. La interpretación de los resultados de PCR-SSP se basa en la presencia o ausencia de productos de PCR específicos. Los tamaños relativos de los productos de PCR específicos pueden ser útiles para la interpretación de los resultados. La metodología PCR-SSP para HLA fue descrita por primera vez por O. Olerup en 1991 y 1992^{1,2}.

Como el proceso de PCR puede verse afectado negativamente por varios factores (p. ej. errores de pipeteado, concentración de ADN demasiado baja, mala calidad del ADN, presencia de inhibidores de la PCR, exactitud del termociclador), se incluye un par de cebadores de control positivo interno en cada reacción de PCR². El par de cebadores de control positivo interno aparean regiones conservadas del gen de la hormona de crecimiento humano, que se encuentra en todas las muestras de ADN humano. Si hay un producto de PCR específico de algún alelo de HLA, es posible que el producto de la banda de control positivo interno sea débil o no esté presente. Los amplicones generados por los pares de cebadores de HLA específicos son más cortos que los amplicones del par de cebadores de control positivo interno, aunque más largos que los cebadores no incorporados (véase "Valores previstos").

REACTIVOS

A. Identificación

Los kits de tipificación Olerup SSP® contienen cebadores específicos de secuencia, optimizados previamente y secos para la amplificación por PCR de alelos HLA y del gen de la hormona de crecimiento humano, mezcla maestra de PCR sin Taq polimerasa ("mezcla maestra"), precintos adhesivos de PCR y el prospecto del producto, que consta de las instrucciones de uso, información específica del lote y la hoja de trabajo.

Las soluciones del cebador se preparan previamente en alícuotas y se secan en varios pocillos de 0,2 mL de placas de PCR de paredes finas y cortadas. Cada pocillo de la placa contiene una solución de cebador seca compuesta por una mezcla específica de cebadores: cebadores de HLA específicos de grupos y alelos, así como un par de cebadores de control positivo interno apareados con secuencias no alélicas listos para la adición de la muestra de ADN, la mezcla maestra y H₂O.

Cada placa de tipificación de baja resolución (excepto la de baja resolución DQ) y Combi incluye un pocillo de reacción de control negativo que detecta la presencia de productos PCR generados por más del 95% de los amplicones de HLA de clase I, DRB, DQB1 y DPB1 de Olerup SSP®, así como los amplicones generados por pares de cebadores de control positivo interno.

Los cebadores están diseñados para una amplificación de PCR óptima al utilizar la mezcla maestra y el programa del termociclador de ADN recomendado (véase "Programación del termociclador").



Consulte las tablas proporcionadas de especificidad e interpretación específicas del lote o la hoja de trabajo de los alelos HLA específicos amplificados por cada mezcla de cebadores.

5 6 5 6

B. Advertencias y precauciones

1. Para diagnóstico *in vitro*.
2. Este producto no puede utilizarse como única base para tomar una decisión clínica.
3. Advertencia de peligro biológico: todos los productos sanguíneos deben tratarse como potencialmente infecciosos. Ningún método de prueba conocido puede ofrecer garantías de que los productos derivados de la sangre humana no transmiten agentes infecciosos.
4. Advertencia de peligro biológico: el bromuro de etidio utilizado para la tinción del ADN en la electroforesis en gel de agarosa es cancerígeno. Manipúlelo con un equipo de protección personal adecuado.
5. Precaución: utilice protección para los ojos contra rayos UV y no mire directamente a la fuente de luz UV cuando examine o fotografíe geles.
6. Las pipetas y otros equipos utilizados para las manipulaciones **posteriores** a la PCR **no** deben utilizarse para manipulaciones **previas** a la PCR.
7. Para obtener más información, consulte la hoja de datos de seguridad del material (<http://www.olerup-ssp.com>).

C. Instrucciones de uso

Consulte el apartado "Instrucciones de uso".

D. Instrucciones de almacenamiento

Almacene los componentes del kit en un lugar oscuro y a las temperaturas indicadas en las etiquetas de los envases.

Utilícelos antes de la fecha de caducidad impresa en las etiquetas de los envases.

E. Purificación o tratamiento requerido para el uso

Consulte el apartado "Instrucciones de uso".

F. Indicaciones de inestabilidad

1. No utilice placas de cebadores con fisuras en los pocillos o daños en el borde superior de los pocillos, ya que esto podría generar evaporación durante la amplificación por PCR. No utilice tiras de tapones PCR con fisuras, ya que esto podría generar evaporación durante la amplificación por PCR.
2. Los *pellets* de los pocillos deben ser rojos. Si hay una decoloración amarillenta en el *pellet*, puede indicar degradación.
3. La mezcla maestra debe ser de un color entre rojo y púrpura. Si hay una decoloración entre amarillo y naranja, puede indicar degradación.



REQUISITOS DE LOS INSTRUMENTOS

A. Instrumento

Debe utilizarse un termociclador con las especificaciones mínimas siguientes:

- Tapa térmica con una temperatura de 104 °C para una operación sin aceite.
- Bloque de muestras (aluminio, plata o plata bañada en oro) para utilizarse con una placa de PCR de 96 pocillos o tubos de reacción de paredes finas de 0,2 mL.
- Índice de aumento de temperatura de como mínimo 0,7 °C/s.
Nota: Los kits de Olerup SSP son validados con el termociclador GeneAmp 9700 en modo 9600. Elevadas tasas de incremento de temperatura, mayores que las descritas, pueden tener efectos en los resultados de la tipificación.
- Intervalo de temperatura de 4,0 °C a 99,9 °C.
- Precisión de temperatura de $\pm 0,25$ °C en el intervalo de 35 °C a 99,9 °C.
- Uniformidad de temperatura del bloque de muestras $\leq 0,75$ °C en el intervalo de 55 °C a 95 °C.
- Calibración de la temperatura según un estándar de referencia (NIST).

Programa el termociclador según los parámetros del termociclador de PCR que se describen a continuación, en el apartado B.

Si desea obtener información específica del termociclador, consulte el manual de instrucciones del fabricante. Los termocicladores deben calibrarse de acuerdo con las normas de acreditación ASHI (American Society of Histocompatibility and Immunogenetics) o EFI (European Federation of Immunogenetics).

Programa el termociclador antes de abordar las instrucciones de uso que se describen más abajo.

B. Parámetros del termociclador de PCR

- | | | | | |
|----|------------------|-------|-------|-------------------------|
| 1. | 1 ciclo | 94 °C | 2 min | desnaturalización |
| 2. | 10 ciclos | 94 °C | 10 s | desnaturalización |
| | | 65 °C | 60 s | hibridación y extensión |
| 3. | 20 ciclos | 94 °C | 10 s | desnaturalización |
| | | 61 °C | 50 s | hibridación |
| | | 72 °C | 30 s | extensión |
| 4. | Final - mantener | | TA | si son menos de 8 horas |
| | | 4 °C | | si son más de 8 horas |

Volumen de reacción total en cada pocillo, 10 μ L.



Para todos los kits Olerup SSP® se utilizan los mismos parámetros de termociclador de PCR.

5656

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Para tipificaciones SSP se necesita ADN extraído de alta pureza. Las muestras de ADN que se utilizarán para la tipificación de HLA por PCR-SSP deben volver a suspenderse en dH₂O. La relación A260/A280 debe ser de 1,6 – 2,0 por espectrofotometría UV para una visualización óptima de banda durante la electroforesis.

Recomendamos la extracción de ADN automática con el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN. Como material de inicio debe utilizarse sangre en ACD.

Como alternativa, el ADN puede extraerse mediante cualquier método por el cual se obtenga ADN puro. Si utiliza métodos alternativos, la concentración de ADN debe ajustarse a 30 ng/μL. **No utilice sangre heparinizada con estos métodos.**

Concentración de ADN recomendada:

Si se utiliza ADN extraído por EZ1, 15 ng/μL.

Si se utiliza ADN extraído por otros métodos,

30 ng/μL.

Las concentraciones que superen los 50 ng/μL aumentarán el riesgo de amplificaciones no específicas y bandas adicionales débiles, especialmente para tipificaciones SSP de alta resolución de HLA de clase I. En caso necesario, diluya el ADN extraído en dH₂O.

Las muestras de ADN no deben volver a suspenderse en soluciones que contengan agentes quelantes como EDTA, con una concentración superior a 0,5 mM.

Las muestras de ADN pueden utilizarse inmediatamente después de la extracción o almacenarse a +4 °C durante un máximo de 2 semanas sin que esto tenga efectos negativos en los resultados. Las muestras de ADN pueden conservarse a -20 °C o menos durante 9 meses. Antes de la tipificación de HLA, si las muestras de ADN extraído se han conservado durante un periodo prolongado, deberá analizarse su pureza y concentración para comprobar si son aceptables.

Las muestras de ADN deben transportarse a +4 °C o menos para conservar su integridad durante el envío.

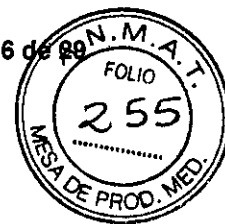
PROCEDIMIENTO

IFU-02
N.º de rev.: 04
Julio del 2012

CE
0088

Para diagnóstico *in vitro*

Stefano Marchionni Sialino
Responsabile Tecnica
P.N. 7869
CROCECROM S.R.L.

**A. Materiales provistos**

1. Placas de cebadores Olerup SSP®.
2. Mezcla maestra sin Taq polimerasa (volumen adecuado para las placas del kit). Para todos los kits Olerup SSP® se utiliza la misma mezcla maestra.
3. Precintos adhesivos de PCR (cantidad adecuada para las placas del kit).
4. Prospecto del producto.

5 6 5 6

B. Materiales necesarios pero no provistos

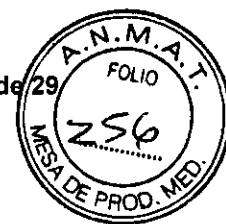
1. Kit/equipo de aislamiento de ADN.
2. Espectrofotómetro UV.
3. Dispositivos de pipeteado. Recomendamos un dispensador electrónico de un canal que pueda dispensar alícuotas de 10 µL para añadir la mezcla DNA-mezcla maestra-dH₂O en los pocillos de la placa.
4. Puntas de pipetas desechables.
5. Tubos de polipropileno.
6. Mezclador de vórtice.
7. Microcentrífuga.
8. Gradillas de placas PCR.
9. Termociclador con tapa térmica para PCR con formato para 96 pocillos, un gradiente de temperatura en todo el bloque calefactor ≤ 0,75 °C y placa/retenedor para pocillos de reacción de paredes finas de 0,2 mL.
10. Horno microondas o placa caliente para calentar soluciones con agarosa.
11. Agarosa para electroforesis, como Seakem LE (FMC).
12. 0,5 x tampón de TBE; 1 x tampón de TBE es de 89 mM tris-borato, 2 mM de EDTA disódico, pH 8,0.
13. Frasco cuentagotas de bromuro de etidio, n.º de producto: 103.301-10.
14. Dispositivo de pipeteado de carga de gel. Recomendamos una pipeta de 8 canales para la carga de gel, con un valor ajustable de 5-25 µL.
15. Marcador de peso molecular de ADN – para cubrir un rango de 50-1.000 bp, p. ej. escalera de 100 pares de bases, n.º de producto del marcador de peso molecular de ADN: 103.202-100, o n.º de marcador de peso molecular de ADN para tiradas de gel cortas: 103.203-100.
16. Equipo de electroforesis/alimentación eléctrica.
17. Transiluminador UV.
18. Sistema de documentación de imágenes o fotográfico.
19. Taq ADN polimerasa de Roche, grado GMP. [N.º de catálogo: 03 734 927 001 (1000 U) o 03 734 935 001 (5000 U)].

C. Procedimiento paso a paso

Consulte el apartado "Instrucciones de uso".

Ing. María Stalino
 MESA DE PROD. MED.
 103 7809
 GRANUCION S.R.L.

Para diagnóstico *in vitro*



INSTRUCCIONES DE USO

A. Preparación de la muestra

1. Purifique el ADN genómico de la muestra de leucocitos mediante el método elegido. Consulte el apartado anterior "Recogida y preparación de muestras".
2. Si desea obtener información específica sobre la preparación y conservación de muestras, consulte el apartado "Recogida y preparación de muestras".
3. Realice la amplificación por PCR en una muestra de ADN purificada utilizando una placa de tipificación Olerup SSP®, o conserve la muestra de ADN hasta que esté lista para la tipificación.

5 6 5 6

B. Preparación del reactivo/equipo

1. Programe un termociclador para que lleve a cabo el programa PCR de Olerup SSP®; consulte "Requisitos de los instrumentos – Parámetros del termociclador de PCR" más arriba.
2. Prepare Taq polimerasa (5 unidades/ μ L), almacenada a -20 °C.
3. Prepare el gel para la electroforesis; consulte el apartado C – "Preparación de la electroforesis en gel" a continuación.

C. Preparación de la electroforesis en gel

Para Olerup SSP® Gel System 96 (n.º de producto: 103.101-01).

1. Instalación
 - Nivele la cubeta para 1 gel (n.º de producto: 103.101-31) o la cubeta para 3 geles (n.º de producto: 103.101-33) mediante la burbuja de nivelación y las patas ajustables de tres alturas.
 - Coloque las placas de gel en la cubeta.
2. Preparación del gel de agarosa al 2% (peso/volumen)

Utilice una agarosa para electroforesis de alta calidad, capaz de resolver 50 – 2.000 fragmentos de pares de bases de ADN.

 - Al tampón de 5 mL de 10 x TBE (tris-borato EDTA), añada 150 mL de agua destilada y 2 g de agarosa en un frasco de vidrio de 500 mL.
 - Disuelva la agarosa hirviéndola en un horno microondas hasta que se forme una solución homogénea de 100 mL.
 - Deje que la solución del gel diluido se enfríe hasta 60 °C, p. ej. en un armario térmico.
 - Tíña el gel antes del colado con bromuro de etidio (10 mg/mL), 5 μ L por 100 mL de solución de gel. Para manipularlo con la máxima comodidad, utilice nuestros frascos cuentagotas de bromuro de etidio (n.º de producto: 103.301-10). **Nota: el bromuro de etidio es cancerígeno. Manipúlelo con un equipo de protección personal adecuado.**
 - Vierta 100 mL de solución de gel en la placa de gel de la cubeta. Coloque 6 peines de gel (n.º de producto: 103.101-21) en las ranuras de la placa de gel.

Biochemical Sciences
S.A. S. de R.L.
Calle 1339
Barranquilla, C.R.
Para diagnóstico *in vitro*

CE
0088



- Deje que el gel se solidifique durante 15 minutos.
- Vierta 750 mL de tampón de 0,5 x TBE en el depósito de gel. Sumerja la placa de gel en la caja de gel y extraiga con cuidado los 6 peines de gel hacia arriba.

Si utiliza sistemas de electroforesis alternativos, siga las instrucciones del fabricante. Para utilizarlos con los kits de tipificación de HLA Olerup SSP®, estos sistemas deben poder resolver productos de PCR en un intervalo de 50 a 1.100 pares de base de tamaño.

D. Procedimiento paso a paso

1. Retire del lugar de almacenamiento con las temperaturas indicadas: la cantidad adecuada de muestras de ADN, las placas de cebadores, el volumen de mezcla maestra y la cantidad de Taq polimerasa (5 unidades/ μ L) necesaria para las muestras de ADN o las placas de cebadores seleccionadas. Descongélalas a temperatura ambiente (entre 20 y 25 °C).

Para todos los kits Olerup SSP® se utiliza la misma mezcla maestra.

2. Mezcle brevemente las muestras de ADN por vórtice.
3. Coloque las placas de cebadores en una gradilla de placas PCR.
4. **Kits de alta y baja resolución**
 - Agite en vórtice la mezcla maestra antes de tomar alícuotas.
 - Utilice una pipeta manual de un canal, añada a temperatura ambiente la mezcla maestra y Taq polimerasa (5 unidades/ μ L) y dH₂O en un tubo de 0,5 mL o 1,5 mL. (Consulte las cantidades adecuadas en la tabla 1, más abajo).
 - Tape el tubo y agítelo en vórtice durante 5 segundos. Pulse y gire el tubo en una microcentrífuga para que baje todo el líquido de las paredes del tubo.
 - Kits de baja resolución: con una pipeta manual de un canal, añada 8 μ L de la mezcla de mezcla maestra – Taq polimerasa – y dH₂O y 2 μ L de dH₂O en el pocillo de control negativo, es decir, el pocillo con los pares de cebadores de control negativo de la placa de cebadores.
 - Utilizando una pipeta manual de un canal, añada la muestra de ADN a temperatura ambiente en la mezcla restante de mezcla maestra – Taq polimerasa – y dH₂O. (Consulte las cantidades adecuadas en la tabla 1, más abajo).
 - Tape el tubo y agítelo en vórtice durante 5 segundos. Pulse y gire el tubo en una microcentrífuga para que baje todo el líquido de las paredes del tubo.
 - Utilizando un dispensador electrónico de un canal, introduzca alícuotas de 10 μ L de la mezcla de reacción de la muestra en cada pocillo, excepto en el pocillo de control negativo de la placa de cebadores.



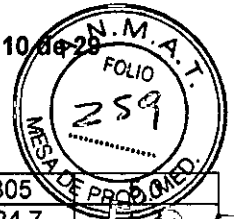
5656

- **Kits de alta resolución:** utilizando una pipeta manual de un canal, añada la muestra de ADN a temperatura ambiente a la mezcla de mezcla maestra – Taq polimerasa – y dH₂O. (Consulte las cantidades adecuadas en la tabla 1, más abajo).
- Tape el tubo y agítelo en vórtice durante 5 segundos. Pulse y gire el tubo en una microcentrífuga para que baje todo el líquido de las paredes del tubo.
- Utilizando un dispensador electrónico de un canal, introduzca alícuotas de 10 µL de la mezcla de reacción de la muestra en cada pocillo.

Tabla 1: volúmenes de los componentes necesarios por prueba para varios números de pocillos al utilizar una mezcla maestra sin Taq polimerasa.

N.º de pocillos por prueba	Volumen de mezcla maestra (µL)	Volumen de muestra de ADN (µL)	Volumen de dH ₂ O (µL)	Volumen de Taq polimerasa (µL)
2	12	8	19,7	0,3
3	15	10	24,6	0,4
4	18	12	29,5	0,5
5	21	14	34,4	0,6
6	24	16	39,4	0,6
7	27	18	44,2	0,8
8	30	20	49,2	0,8
9	33	22	54,1	0,9
10	36	24	59	1,0
11	39	26	63,9	1,1
12	42	28	68,9	1,1
13	45	30	73,8	1,2
14	48	32	78,7	1,3
25	87	58	142,7	2,3
26	90	60	147,6	2,4
27	93	62	152,5	2,5
28	96	64	157,4	2,6
29	99	66	162,4	2,6
30	102	68	167,3	2,7
31	105	70	172,2	2,8
32	108	72	177,1	2,9
36	126	84	206,6	3,4
40	138	92	226,3	3,7
44	150	100	246	4,0
48	162	108	265,7	4,3
52	174	116	285,4	4,6





15	51	34	83,6	1,4
16	54	36	88,6	1,4
17	60	40	98,4	1,6
18	63	42	103,3	1,7
19	66	44	108,2	1,8
20	69	46	113,2	1,8
21	72	48	118,1	1,9
22	75	50	123	2,0
23	78	52	127,9	2,1
24	81	54	132,8	2,2

56	186	124	305	5,3
60	198	132	324,7	5,6
64	210	140	344,4	6,1
68	228	152	373,9	6,4
72	240	160	393,6	6,7
76	252	168	413,3	7,0
80	264	176	433	7,4
84	276	184	452,6	7,7
88	288	192	472,3	8,0
92	300	200	492	8,3
96	312	208	511,7	

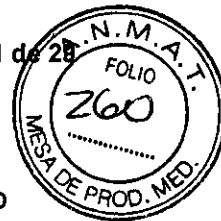
Los volúmenes recomendados de la lista anterior incluyen el volumen para compensar las variaciones de pipetas y las pérdidas de líquido dentro de las paredes de los tubos.

5. Kits Combi A-B-DR y A-B-C, kit de alta resolución HLA-Cw

- Agite en vórtice la mezcla maestra.
- Utilizando una pipeta manual de un canal, añada a temperatura ambiente 8,3 µL de Taq polimerasa (5 unidades/µL) y 511,7 µL de dH₂O en el tubo de 1,5 mL provisto que contiene 312 µL de mezcla maestra.
- Tape el tubo y agítelo en vórtice durante 5 segundos. Pulse y gire el tubo en una microcentrífuga para que baje todo el líquido de las paredes del tubo.
- con una pipeta manual de un canal, añada 8 µL de la mezcla de mezcla maestra – Taq polimerasa – y dH₂O y 2 µL de dH₂O en el pocillo de control negativo número 96, es decir, el pocillo con los pares de cebadores de control negativo.
- Utilizando una pipeta manual de un canal, añada una muestra de ADN de 206 µL a temperatura ambiente en la mezcla restante de mezcla maestra – Taq polimerasa – y dH₂O.
- Tape el tubo y agítelo en vórtice durante 5 segundos. Pulse y gire el tubo en una microcentrífuga para que baje todo el líquido de las paredes del tubo.
- Utilizando un dispensador electrónico de un canal, introduzca alícuotas de 10 µL de la muestra de mezcla de reacción en cada pocillo, excepto en el pocillo de control negativo n.º 96 de la placa de cebadores.

Importante:

Asegúrese de aplicar la muestra encima de los cebadores (secados en el fondo de cada pocillo de la placa de cebadores) para evitar la contaminación cruzada entre pocillos. Toque la pared interna del pocillo con la punta de la pipeta para permitir que la muestra se deslice hasta el fondo del pocillo. Compruebe que todas las muestras han caído hasta el fondo de cada pocillo. Si no es así, toque suavemente la placa por la parte



superior del banco para que todas las muestras se depositen en el fondo del pocillo antes de iniciar la PCR.

6. Cubra las placas de cebadores con los precintos adhesivos de PCR provistos. Compruebe que todos los pocillos de reacción queden totalmente cubiertos para evitar la pérdida por evaporación durante la amplificación por PCR. Puede aplicarse la almohadilla de compresión Olerup SSP® (n.º de producto: 103.505-06) encima de los precintos adhesivos de PCR para evitar la evaporación durante el termociclado.
7. Coloque las placas de cebadores en el termociclador con un adaptador adecuado entre tubo y placa. No deje que pasen más de 5 minutos entre la instalación de PCR y el termociclado.
8. Introduzca el número de programa de Olerup SSP®. Especifique un volumen de reacción de 10 µL.
9. Inicie el programa PCR. El programa dura aproximadamente 1 hora y 20 minutos.
10. Extraiga las placas de cebadores del termociclador. Examine la placa de PCR para asegurarse de que hay aproximadamente el mismo volumen de líquido en cada pocillo de PCR. Someta a electroforesis las muestras. Consulte el apartado E – "Electroforesis en gel" a continuación. Interprete los resultados de tipificación con las **tablas de especificidad e interpretación específicas del lote o la hoja de trabajo**; consulte "Valores previstos" más abajo.

5 6 5 6

E. Electroforesis en gel

1. Una vez completada la reacción PCR, disponga la placa de cebadores y la cubeta de gel. El orden de los pocillos va de izquierda a derecha y de arriba abajo.
2. Retire con cuidado las tapas de apertura sin salpicar los productos de PCR.
3. Cargue los productos de PCR en la secuencia para el gel de agarosa al 2%. (No es necesario añadir tampón de carga de gel). Para la carga del gel se recomienda utilizar una pipeta de 8 canales.
4. Cargue un marcador de peso molecular de ADN (escalera de 100 pares de bases, n.º de producto del marcador de peso molecular de ADN: 103.202-100, o n.º del marcador de peso molecular de ADN para tiradas de gel cortas: 103.203-100) en un pocillo por fila.
5. Tape la caja de gel con su tapa.
6. Someta al gel a electroforesis en tampón de 0,5 x TBE, sin recirculación del tampón, durante 15-20 minutos a 8-10 V/cm.
7. Pase la placa de gel con gel a un transiluminador UV.
8. Fotografe el gel con o sin la placa de gel.
9. Marque la fotografía según las normas del laboratorio.

CONTROL DE CALIDAD

Las directrices ASHI para la prueba de HLA indican que debe incluirse un pocillo de control negativo (contaminación) en cada instalación de PCR.



(Normas para laboratorios acreditados, American Society for Histocompatibility and Immunogenetics, normas revisadas definitivas aprobadas por el consejo de administración de ASHI: 31 de agosto del 2007, versión final de la guía de enero del 2008). Se incluye un pocillo de control negativo en los kits de baja resolución HLA-A, HLA-B, HLA-C y DR y en los kits de placa Combi A-B-DR, A-B-C y DQ-DR.

5 6 5 6

Consulte "Interpretación del gel" en la página 14.

RESULTADOS

Con cada kit se proporcionan hojas de validación de líneas celulares específicas del lote y certificado de análisis.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. El proceso PCR-SSP requiere condiciones de prueba altamente controladas para garantizar una amplificación discriminatoria adecuada. Debe seguirse estrictamente el procedimiento descrito en "Instrucciones de uso".
2. La muestra de ADN extraído es el patrón para el proceso de amplificación por PCR específico. El ADN purificado debe tener una relación A260/A280 entre 1,6 y 2,0 para obtener una visualización óptima de las bandas por electroforesis.
3. Todos los instrumentos, como el termociclador, dispositivos de pipeteado, etc., deben calibrarse de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.
4. La información específica del lote se proporciona en el prospecto del producto y en la hoja de trabajo específica del lote.
5. Basándose en la prueba realizada, se evaluaron las sustancias siguientes con tres (3) métodos de extracción a las concentraciones de la lista y no influyeron en la realización de la prueba.

Método de extracción	Sustancias que interfieren	Concentración de interferencia*
Sistema EZ1 DSP DNA Blood	Bilirrubina	200 mg/L
	Hemoglobina	200 g/L
	Triglicéridos	30 g/L
	Proteínas	110 g/L
Kit QIAamp DSP DNA Blood	Bilirrubina	200 mg/L
	Hemoglobina	200 g/L
	Triglicéridos	18,2 g/L
	Proteínas	77-96 g/L
Método Genra PureGene	Bilirrubina	200 mg/L
	Hemoglobina	200 g/L
	Triglicéridos	18,2 g/L
	Proteínas	119-146 g/L



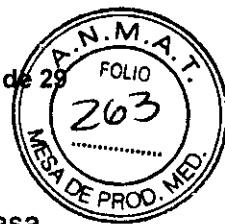
6. Las placas de PCR son compatibles con la mayoría de termocicladores del mercado. Vea más abajo la tabla de compatibilidad de los termocicladores. Esta tabla es solo de referencia.

5658

Tabla de compatibilidad		
Fabricante	Termociclador	
Biometra	Uno	+
	Uno II	+
	Tpersonal Cyclor	-
	T1 Thermocycler	+
	T3 Thermocycler	-
	TGradient	+
	TRobot	+
Bio-Rad	Genecycler	-
	iCycler™	+
	MyCycler	+
Corbett Research	Palm Cyclor™	-
Eppendorf	Mastercycler® Gradient	+
	MasterCycler EP Gradient	+
	M384	-
Ericomp	SingleBlock System	+
	TwinBlock System	+
	Deltacycler I	+
ThermoHybaid	PCR Sprint	-
	PCR Express, Px2, PxE	+
	MultiBlock System and MBS®	+
	Touchdown	+
	Omnigene	+
	Omn-E	+
MJ Research™	PTC-200 DNA Engine™	+
	PTC-225/220/221 DNA Tetrad™/ Dyad™	+
	PTC-100™ with 96-well block	+
MWG	Primus 96	+
	Primus 384	-
	TheQ Lifecycler™	+
ABI	GeneAmp® 2400	-
	Geneamp® 2700\2720	+
	Geneamp® 9600	+
	Geneamp® 9700	+
	Geneamp® 9800 FAST Block	-
Stratagene	Robocycler	+
Takara	TP 240	-
	TP 3000	+
Techne	TC-412/512	+
	Touchgene Gradient	+
	Flexigene	+
	Genius	+
G-Storm	GS1/GS4/GSX	-

Para diagnóstico in vitro
 No utilizar para otros fines
 No utilizar para otros fines
 No utilizar para otros fines

Para diagnóstico in vitro



7. El funcionamiento de este kit con la mezcla maestra sin Taq polimerasa sólo se ha aprobado con Taq ADN Polimerasa de Roche, grado GMP (n.º de catálogo: 03 734 927 001 o 03 734 935 001). Se desconoce el rendimiento en ensayos con cualquier otra enzima, y debe establecerse y aprobarse por parte del usuario.

5 6 5 6

VALORES PREVISTOS

A. Análisis de los datos

Examine meticulosamente la fotografía del gel y determine los carriles positivos.

1. Si se amplificaron alelos de HLA específicos, en un carril de gel se observará una banda más corta y de migración más rápida. Esto indica un resultado de la prueba positivo.
 - a. Registre la presencia y la ausencia de productos de PCR específicos.
 - b. Es útil supervisar las longitudes correspondientes de los productos de PCR específicos según los prospectos de los productos específicos del lote al interpretar los resultados del gel. Varios carriles tienen dos o más longitudes posibles de productos de PCR específicos. Estos pocillos contienen varios pares de cebadores que generan productos de PCR de varios tamaños según los alelos de HLA de la muestra de ADN.
 - c. Haga corresponder el patrón de carriles de gel con productos de PCR específicos con la información de las tablas de especificidad e interpretación específicas del lote para obtener la tipificación de HLA de la muestra de ADN.
2. Debe ver una banda de control positivo interno, de migración más lenta y más larga, en todos los carriles de gel excepto en el carril de gel de control negativo, como un control de una amplificación correcta. Es posible que la banda de control positivo interno sea débil o no se encuentre en los carriles de gel positivos.
 - a. Registre la presencia y las longitudes correspondientes de las bandas de control positivo interno. Las bandas de control de diferentes tamaños ayudarán en la orientación correcta de la tipificación, así como en la identificación en los kits.
 - b. La ausencia de banda de control positivo interno sin un producto de PCR específico indica una reacción PCR fallida.
 - i. Si pueden determinarse alelos de HLA en presencia de reacciones PCR fallidas y estas no cambian la asignación de los alelos, no será necesario repetir la prueba.
 - ii. Si, no obstante, las reacciones PCR fallidas pueden cambiar la asignación de alelos de HLA, deberá repetirse la tipificación.
3. La presencia de productos de PCR específicos o banda de control positivo interno en los carriles de control negativo indica la contaminación con productos de PCR e invalida todos los resultados de la prueba. En los carriles de control negativo pueden observarse oligómeros de cebadores con un tamaño entre 40 y 60 pares de bases. Esto no constituye una contaminación.



5 6 5 6

B. Interpretación del gel

	Reacción positiva	Reacción negativa	Fallo en la reacción PCR
Pocillo			
Banda de control positivo interno			
Banda específica			
Banda del cebador			

1. Debe hacerse pasar un marcador de peso molecular de ADN (escala de 100 pares de bases, n.º de producto del marcador de peso molecular de ADN: 103.202-100, o n.º del marcador de peso molecular de ADN para tiradas de gel cortas: 103.203-100) en un pocillo por fila del gel o siguiendo las directrices de acreditación del laboratorio local.
2. Pueden obtenerse bandas más largas que la banda de control positivo interno y estas deben descartarse en la interpretación de los resultados de tipificación.
3. Los cebadores no utilizados formarán una banda difusa más corta que 50 pares de bases.
4. Pueden observarse artefactos de oligómeros en los cebadores. Estos son más largos que la banda del cebador, aunque más cortos que las bandas específicas.

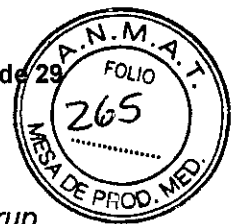
CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DEL FUNCIONAMIENTO

Control de calidad del lote del kit

Cada solución de cebadores se prueba en comparación con un panel de 48 muestras de ADN de líneas celulares bien definidas del IHWC; consulte las hojas de validación de líneas celulares específicas del lote en la información específica del lote del prospecto del producto.

Comparación de métodos

Elio Hernán Stalino
Co. Dirección Técnica
M.N. 7809
ORACISION S.R.L.
Para diagnóstico *in vitro*



5 6 5 6

Se llevó a cabo un estudio para comparar los kits de tipificación de HLA Olerup SSP® con y sin Taq polimerasa proporcionados en la mezcla maestra de PCR. El objetivo del estudio era demostrar que la adición manual no afecta a los resultados del ensayo y que se obtienen los mismos resultados con diferentes lotes de Taq polimerasa. El estudio incluyó la tipificación de baja resolución de HLA-A, HLA-B (clase I) y HLA-DRB (clase II) de 15 muestras de ADN con genotipo HLA conocido obtenidas durante la recogida del Taller Internacional de Histocompatibilidad. Las muestras fueron preparadas y codificadas por personas distintas a las encargadas de llevar a cabo las pruebas, quienes no conocían los tipos de HLA de las muestras. Cada muestra se probó paralelamente con el kit de placa Combi Olerup SSP® HLA-A-B-DR con mezcla maestra de PCR sin Taq polimerasa ("prueba"), y con el kit de placa Combi Olerup SSP® HLA-A-B-DR con mezcla maestra de PCR con Taq polimerasa ("control"), de acuerdo con las instrucciones del prospecto del producto de cada ensayo. Todas las pruebas se realizaron en el laboratorio de Olerup SPP AB en Saltsjöbaden (Suecia), con un lote del kits y dos lotes de Taq polimerasa. En el estudio se utilizó Taq ADN polimerasa, grado GMP, de Roche. Las pruebas de cada muestra consistían en la tipificación de baja resolución con el kit de placa Combi Olerup SSP® HLA-A-B-DR con: 1) mezcla maestra de PCR con Taq polimerasa (ensayo autorizado por la FDA; ensayo de control); 2) mezcla maestra de PCR con 5 U/μL de Taq ADN polimerasa, grado GMP, de Roche; lote n.º 1 (lote de prueba n.º 1), y 3) mezcla maestra de PCR con 5 U/μL de Taq ADN polimerasa, grado GMP, de Roche; lote n.º 2 (lote de prueba n.º 2). Después del proceso de PCR, se llevó a cabo una fase de detección mediante electroforesis en gel. A continuación se detallan los resultados.

Comparación	Concordancia			% concordancia (Intervalo de confianza del 95% ^a)
	Resultados de tipificación de la clase I (n.º concordancias/total)		Resultados de tipificación de la clase II (n.º concordancias/total)	
	HLA-A	HLA-B	HLA-DRB	
Lote de prueba n.º 1 / Lote de control	15/15	15/15	15/15	100% (84,7 – 100,0%)
Lote de prueba n.º 1 / Concordancia ^b	15/15	15/15	15/15	100% (84,7 – 100,0%)
Lote de prueba n.º 2 / Lote de control	15/15	15/15	15/15	100% (84,7 – 100,0%)
Lote de prueba n.º 2 / Concordancia	15/15	15/15	15/15	100% (84,7 – 100,0%)





Lote de prueba n.º 1 / Lote de prueba n.º 2	15/15	15/15	15/15	100% (84,7 – 100,0%)
--	-------	-------	-------	----------------------------

5 6 5 6

^a Método de puntuación

^b Resultados de concordancia de la recogida durante el Taller Internacional de Histocompatibilidad

BIBLIOGRAFÍA

1. Olerup O, Zetterquist H. *HLA-DRB1*01* subtyping by allele-specific PCR-amplification: A sensitive, specific and rapid technique. *Tissue Antigens* 1991; **37**: 197-204.
2. Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: An alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantations. *Tissue Antigens* 1992; **39**: 225-235.
3. Los alelos de HLA actuales pueden encontrarse en:
 - a. <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla> o
 - b. <http://www.anthonynolan.org.uk/HIG>.

**RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS**

Problema	Motivo	Acción
No hay amplificación (ni amplificación de los fragmentos de control interno ni amplificaciones específicas).	Poca cantidad de ADN.	Mida la concentración de ADN y compruebe si la cantidad añadida es correcta. La contaminación del ARN puede provocar una sobrestimación espectrofotométrica de la concentración de ADN. Repita la extracción de ADN con cuidado con soluciones recién preparadas. Recomendamos la extracción de ADN automática con el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN.
	El ADN contiene inhibidores de la PCR, como proteínas, etanol (de los pasos de precipitación) o matrices restantes de productos de la purificación de ADN en fase sólida.	Mida la calidad del ADN. Recomendamos una relación A260/A280 de 1,6 – 2,0 por espectrofotometría UV. Siga estrictamente el protocolo de extracción de ADN de los proveedores. Vuelva a extraer el ADN. Recomendamos la extracción de ADN automática con el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN.
	El ADN se ha extraído de sangre heparinizada.	Utilice sangre no heparinizada o protocolos de extracción de ADN para sangre heparinizada.
	El ADN se disuelve en un tampón que contiene EDTA.	Repita la extracción de ADN y disuelva el ADN en dH ₂ O.

5 6 5 6



Problema	Motivo	Acción
Continuación: No hay amplificación (ni amplificación de los fragmentos de control interno ni amplificaciones específicas).	Introducción accidental de lejía en la prueba.	Revise las zonas en las que se haya podido introducir lejía.
	Los kits no se han conservado a una temperatura adecuada.	Conserve los kits a -20 °C.
	El termociclador no funciona correctamente.	Calibre el termociclador y compruebe el programa de PCR. Un termociclador utilizado para la tipificación PCR-SSP de rutina debe calibrarse cada 6-12 meses.
	Contacto incorrecto entre el bloque calefactor del termociclador y la placa de tipificación SSP.	Utilice una placa o un retenedor adecuados para pocillos de reacción de paredes finas de 0,2 mL. Consulte el manual del termociclador.
Fallo ocasional de la amplificación (caídas).	Los precintos o tapas de tubos PCR que no estén bien cerrados provocarán evaporación y, en consecuencia, fallos en la amplificación.	Asegúrese de que los precintos y tapas PCR están bien cerrados. Puede aplicarse la almohadilla de compresión Olerup SSP® (n.º de producto: 103.505-06) encima de los precintos adhesivos de PCR para evitar la evaporación durante el termociclado.
	Errores de carga de gel.	Compruebe que se ha cargado la cantidad de pocillos correcta y que cada pocillo contiene aproximadamente el mismo volumen de mezcla PCR.
	Uso de pipetas no calibradas.	Calibre todas las pipetas de forma habitual de acuerdo con las recomendaciones del proveedor.
	Errores de pipeteado.	Realice el pipeteado con más cuidado.

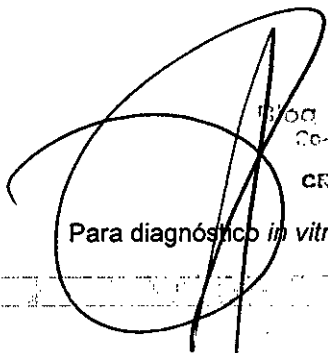
5656

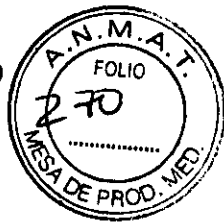


	La mezcla maestra y la muestra de ADN no se han mezclado bien antes del uso.	Mézclelas brevemente en vórtice antes de su uso. Recomendamos agitar en vórtice cada fila.
	Se ha añadido un volumen desigual de mezcla maestra y ADN en los pocillos.	Realice el pipeteado con más cuidado.

5 6 5 6




Para diagnóstico *in vitro*



Problema	Motivo	Acción
Fragmentos de control interno débiles.	ADN impuro.	Mida la calidad del ADN. La relación A260/A280 debe ser de 1,6 – 2,0 por espectrofotometría UV. La contaminación del ARN puede provocar una sobrestimación espectrofotométrica de la concentración de ADN. El ADN degradado hace surgir manchas en los carriles de gel. Repita la extracción de ADN con cuidado con soluciones recién preparadas. Recomendamos la extracción de ADN automática con el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN.
	Poca cantidad de ADN.	Mida la concentración de ADN y ajústela a 30 ng/μL o 15 ng/μL para ADN extraído por el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN. La contaminación del ARN puede provocar una sobrestimación espectrofotométrica de la concentración de ADN. El ADN degradado hace surgir manchas en los carriles de gel. Repita la extracción de ADN con cuidado con soluciones recién preparadas. Recomendamos la extracción de ADN automática con el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN.

5 6 5 6



Dr. Hernán Sialino
 Responsable Técnico
 N.º 7899
 PROMOCION S.R.L.
 Para diagnóstico *in vitro*



565

Problema	Motivo	Acción
Continuación: Fragmentos de control interno débiles.	Temperatura de hibridación demasiado alta; el termociclador no está calibrado.	Calibre el termociclador y compruebe el programa de PCR. Un termociclador utilizado para la tipificación PCR-SSP de rutina debe calibrarse cada 6-12 meses.
	La mezcla maestra de PCR se ha conservado a +4 °C durante más de 2 semanas.	Conserve la mezcla maestra de PCR debidamente.

Amplificación no específica (escaleras o manchas).	Uso de una muestra de ADN excesiva.	Mida la concentración de ADN y ajústela a 30 ng/µL o 15 ng/µL para ADN extraído por el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN. Algunas soluciones de cebadores tienen una mayor tendencia a generar amplificación no específica; vea las notas al pie de cada tabla de especificidad específica del lote.
	ADN impuro.	En la interpretación de los resultados obtenidos, deben descartarse todos los fragmentos mayores que el fragmento de control interno. Compruebe la calidad del ADN. Repita la extracción de ADN. Recomendamos la extracción de ADN automática con el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN. Algunas soluciones de cebadores tienen una mayor tendencia a generar amplificación no específica; vea las notas al pie de cada tabla de especificidad específica del lote.



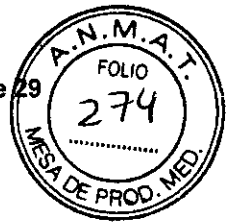
Problema	Motivo	Acción
Señales de amplificación cada vez más débiles al cabo del tiempo.	La solución de tinción de gel de agarosa con bromuro de etidio es vieja.	Prepare una nueva solución de bromuro de etidio para conseguir una mejor tinción del gel de agarosa y una mejor señal. Las nubes de los cebadores son fáciles de detectar si la tinción del gel de agarosa es normal.
	Una de las lámparas UV está rota.	Compruebe el equipo de iluminación UV. Las nubes de los cebadores son fáciles de detectar si la iluminación UV es normal.
	Se ha utilizado una muestra de ADN demasiado pequeña.	Mida la concentración de ADN y ajústela a 30 ng/μL o 15 ng/μL para ADN extraído por el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN.
	Temperatura de hibridación demasiado alta; el termociclador no está calibrado.	Calibre el termociclador y compruebe el programa de PCR. Un termociclador utilizado para la tipificación PCR-SSP de rutina debe calibrarse cada 6-12 meses.
Patrones de amplificación extraños.	Se utiliza una tabla u hoja de trabajo de interpretación específica del lote incorrecta.	Compruebe el número de lote del producto utilizado y la hoja de trabajo o tabla de interpretación utilizada.
	Orden incorrecto en la carga de gel.	Compruebe la alineación de mezclas y carriles de gel.
	El patrón de amplificación contiene un falso positivo.	Véase a continuación.
	El patrón de amplificación contiene un falso negativo.	Véase a continuación.

5 6 5 6



Problema	Motivo	Acción
Amplificaciones de falsos positivos.	Contaminación del ADN.	Utilice guantes, puntas de pipeta con barreras (tapones de filtro) y espacios separados para la manipulación previa a la PCR y la posterior a la PCR. Asegúrese de manipular con cuidado todas las muestras en cada paso. Compruebe la presencia de contaminación con un kit de contaminación Olerup SSP® (Wipe Test kit).
	ADN impuro.	Mida la calidad del ADN. Siga estrictamente el protocolo de extracción de ADN de los proveedores. Pruebe otros sistemas de extracción de ADN. Vuelva a extraer el ADN. Recomendamos la extracción de ADN automática con el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN.
	Uso de una muestra de ADN excesiva.	Mida la concentración de ADN y ajústela a 30 ng/μL o 15 ng/μL para ADN extraído por el sistema EZ1 DSP DNA Blood de QIAGEN.
	Temperatura de hibridación muy baja.	Calibre el termociclador y compruebe el programa de PCR. Un termociclador utilizado para la tipificación PCR-SSP de rutina debe calibrarse cada 6-12 meses.
	Demasiado tiempo transcurrido entre la instalación de PCR y el inicio del termociclado.	No debe permitirse un retraso superior a 5 minutos antes del termociclado.
	Mucho tiempo transcurrido entre la colocación de las placas de tipificación en el termociclador y el inicio del termociclado.	Utilice un termociclador precalentado.

5656



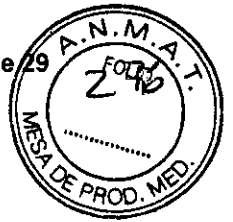
Problema	Motivo	Acción
Continuación: Amplificaciones de falsos positivos.	Uso de bromuro de etidio excesivo.	Utilice la cantidad recomendada de bromuro de etidio.
	Interpretación incorrecta de un artefacto como una banda específica.	Compruebe la tabla u hoja de trabajo de interpretación específica del lote y la tabla de especificidad para el tamaño de banda correcto y las notas al pie.
	El patrón de amplificación contiene un falso positivo.	Compruebe si todas las amplificaciones específicas tienen el tamaño adecuado o si se ha malinterpretado como amplificación un artefacto (arrastre de muestra, dímero del cebador).
	Orden incorrecto en la carga de gel.	Compruebe la alineación de mezclas y carriles de gel.
Amplificaciones de falsos negativos.	El termociclador no está bien calibrado.	Calibre el termociclador y compruebe el programa de PCR. Un termociclador utilizado para la tipificación PCR-SSP de rutina debe calibrarse cada 6-12 meses. Si no se corrige con la recalibración, vuelva a tipificar la prueba con una muestra de referencia de la misma especificidad. Si se confirma la negatividad, póngase en contacto con el departamento de atención al cliente.
	Orden incorrecto en la carga de gel.	Compruebe la alineación de mezclas y carriles de gel.

5658



Problema	Motivo	Acción
Problemas generales con el gel (geles borrosos y/o carriles manchados).	Muestra de ADN degradado.	Aparece una mancha en los carriles de gel. Aísle el ADN de una muestra reciente.
	Muchas estrías en algunos pocillos.	Suspensiones irregulares de ADN. Asegúrese de que la muestra de ADN esté disuelta antes de tomar una alícuota. Agite en vórtice la muestra de ADN diluido.
	El producto de PCR ha rebasado los bordes del pocillo.	Alinee cuidadosamente las puntas de pipeta con los pocillos de gel y dispense lentamente.
	Es posible que el tampón de electroforesis esté demasiado caliente.	Prepare un nuevo tampón de TBE. Hágalo funcionar a un voltaje más bajo.
	Se ha utilizado un porcentaje incorrecto de gel de agarosa.	Asegúrese de que utiliza el gel de agarosa al 2% recomendado.
	La agarosa no se ha disuelto totalmente.	Vuelva a hervirla brevemente para que se funda la agarosa.
	Concentración de TBE incorrecta.	Utilice la concentración de 0,5 x TBE recomendada.
	Geles colados hace poco.	Los geles no están listos para usarse hasta pasados 15 minutos desde el colado.
	Geles demasiado viejos.	No cuele los geles demasiado pronto.
	El peine de gel utilizado tiene ranuras demasiado gruesas.	Utilice peines finos (4 x 1 mm).
	La placa de gel no es transparente a UV.	Extraiga el gel de la placa antes de visualizarlo.
	La fotografía de gel es demasiado brillante.	Uso de bromuro de etidio excesivo. Compruebe la configuración de la cámara.
	La fotografía de gel es demasiado oscura.	Utilice la cantidad recomendada de bromuro de etidio. Compruebe la configuración de la cámara.

5656



Problema	Motivo	Acción
Problemas generales con falsos negativos en la amplificación o problemas dependientes test-a-test de cualquier naturaleza.	Tasa de incremento de temperatura demasiado alta.	Los kits de Olerup SSP son validados con el termociclador GeneAmp 9700 en modo 9600. Elevadas tasas de incremento de temperatura, mayores que las descritas, pueden tener efectos en los resultados de la tipificación.

5656



[Handwritten Signature]
Eduardo Barrón Biolino
Gerente Técnico
Olerup SSP
GALLICIA S.R.L.
Para diagnóstico *in vitro*



5656

MARCAS COMERCIALES UTILIZADAS EN ESTE DOCUMENTO/PRODUCTO

Olerup SSP® es una marca comercial registrada de Olerup SSP AB.
Qiagen™ es una marca comercial de QIAGEN.

AVISO AL COMPRADOR: kits Olerup SSP® sin Taq polimerasa – Se recomienda utilizar este producto con Taq polimerasa, grado GMP, de Roche (n.º de catálogo: 03 734 927 001 o 03 734 935 001) en el proceso de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que goza de patentes de Roche Molecular Systems, Inc. y F. Hoffmann-La Roche Ltd. ("Roche"). El laboratorio es responsable de contactar con Roche Molecular Systems, Inc. para determinar si se necesita una licencia bajo estas patentes.

GARANTÍA

Olerup SSP AB ofrece garantía de sus productos al comprador original en caso de defectos de material o de fabricación, siempre que los productos se utilicen de forma normal y para su aplicación normal. La única obligación de Olerup SSP AB de acuerdo con esta garantía será cambiar, sin ningún coste, cualquier producto que no cumpla los niveles de funcionamiento indicados en la hoja de especificaciones del producto.

Esta garantía es válida únicamente para productos que se hayan manipulado y almacenado de acuerdo con las recomendaciones de Olerup SSP AB y no es válida para aquellos productos que hayan sido objeto de alteración, mal uso o uso indebido.

Todas las reclamaciones amparadas por esta garantía deben dirigirse a Olerup SSP AB por escrito y deben ir acompañadas de una copia de la factura del comprador. Esta garantía reemplaza cualquier otra garantía, expresa o implícita, incluidas las garantías de comerciabilidad e idoneidad para un fin concreto. En ningún caso se responsabilizará a Olerup SSP AB de daños accidentales o consecuentes.

Este producto no puede reformularse, reenvasarse ni revenderse de ningún modo sin el consentimiento por escrito de Olerup SSP AB, Franzengatan 5, SE-112 51 Stockholm, Suecia.

Manipule todas las muestras como posibles transmisoras de enfermedades. Todas las tareas deben llevarse a cabo con guantes y la protección adecuada.

CERTIFICADO DE GARANTÍA

Olerup SSP AB garantiza que los cebadores de las placas de tipificación Olerup SSP® cuentan con las especificidades indicadas en la hoja de trabajo y las tablas de interpretación y especificidad específica del lote del prospecto del producto.

Si se conservan a -20 °C, los cebadores secos se mantienen estables durante 30 meses a partir de la fecha de fabricación.

Si se conserva a -20 °C, la mezcla maestra de PCR sin Taq polimerasa se mantiene estable durante 33 meses a partir de la fecha de fabricación.



DIRECCIONES:

Fabricante:

Olerup SSP AB, Franzengatan 5, SE-112 51 Stockholm, Sweden.

Tel.: +46-8-717 88 27

Fax: +46-8-717 88 18

Correo electrónico: info-ssp@olerup.com

Sitio web: <http://www.olerup-ssp.com>

Distribuido por:

Olerup GmbH, Löwengasse 47 / 6, AT-1030 Viena, Austria.

Tel.: +43-1-710 15 00

Fax: +43-1-710 15 00 10

Correo electrónico: support-at@olerup.com

Sitio web: <http://www.olerup.com>

5658

Olerup Inc., 901 S. Bolmar St., Suite R, West Chester, PA 19382

Tel.: 1-877-OLERUP1

Fax: 610-344-7989

Correo electrónico: info.us@olerup.com

Sitio web: <http://www.olerup.com>

Para obtener información sobre los distribuidores de Olerup SSP a nivel mundial, póngase en contacto con Olerup GmbH.

Bion. Hernán Sialino
D. Dirección Técnica
M. N. 7989
LABORATORIO S.R.L.

Para diagnóstico *in vitro*





Inserto de producto – Instrucciones para uso (IFU)

Información Lote específica

OLERUP SSP [Nombre específico]*

* [Ver Anexo I – columna “nombre del producto”]

Número de producto: N° de catálogo / [referencia de si incluye o no Taq polimerasa.]

Número de lote: XXX

Fecha de expiración: año – mes – día

Número de ensayos (Presentaciones del producto):

Ejemplo: 48 Tests – Producto Catálogo N° XXX

12 Tests – Producto Catálogo N° YYY

Número de pocillos por ensayo: Variable según el lote.

Almacenamiento – primers pre – alicuotados: En la oscuridad a – 20°C

- PCR Master Mix : -20°C
- Selladores adhesivos PCR: Temperatura ambiente
- Inserto de producto: Temperatura ambiente

ESTA DESCRIPCION DE PRODUCTO ES SOLO VALIDA PARA EL LOTE N° XXX

Cambios comparados con el lote previo

[Se informa la actualización de las tablas de interpretación y de la especificidad del nuevo lote comparada con el previo]

Descripción del producto

Nombre: [Describe nombre]

Contenido: [Describe el contenido del conjunto de primers, de los grupos de alelos y grupos serológicos de alelos que reconocen]

Disposición de la placa: [Describe número de determinaciones, es decir de reacciones PCR, por ensayo y la disposición de las reacciones en los pocillos de la placa]

Interpretación: [Describe que alelos serán amplificados]

Alelos identificados de forma inequívoca: [Describe todos los alelos que serán amplificados y agrupados según sus especificidades serológicas]

TABLA ESPECIFICIDAD

[Presenta el Detalle de especificidades (alelos amplificados) y tamaños de los productos PCR, de las bandas de control]

TABLA DE INTERPRETACION

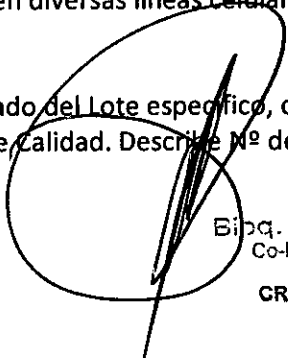
[Presenta los patrones de amplificación de los alelos correspondientes al producto]

HOJA DE VALIDACIÓN DE LA LINEA CELULAR

[Presenta la validación del conjunto de primers correspondientes en diversas líneas celulares]

CERTIFICADO DE ANALISIS

[Presenta el Certificado de Control de Calidad de producto terminado del Lote específico, con fecha de aprobación, firma autorizada del Supervisor de Control de Calidad. Describe N° de


Bpq. Hernán Stalino
Co-Director Técnica
M. N. 1809
CROMODIN S.R.L.



lote, fecha de expiración, número de ensayos, número de pocillos por ensayo, especificaciones de cada pocillo. Describe las líneas celulares contra las que fueron ensayados los primeros y últimos resultados de amplificaciones obtenidos]

DECLARACION DE CONFORMIDAD

[Presenta una Declaración de Conformidad relacionada con la Conformidad con estándares internacionales que rigen las regulaciones de los dispositivos médicos de diagnóstico uso in vitro/ Conformidad con las normas ISO 9001:2008, ISO 13485:2003 y la Directiva 98/79/EC para dispositivos médicos, Anexo II Lista B]

5655

DATOS DEL ELABORADOR

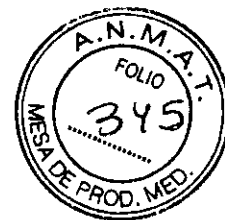
Olerup SSP AB; Hasselstigen 1, SE-133 33 Saltsjobaden, Suecia
Tel: +46-8-717 88 27
Fax: +46-8-717 88 18
E-mail: info-ssp@olerup.com
Webpage: <http://www.olerup-ssp.com>

DATOS DEL DISTRIBUIDOR

Olerup GmbH, Lowengasse 47/6 , AT -1030 Viena, Austria.
Tel: +43-1-710 15 00
Fax: +43-1-710 15 00 10
E-mail: support-at@olerup.com
Web page: <http://www.olerup.com>

Olerup Inc., 901 S. Bolmar St., Suite R, West Chester, PA 19382
Tel: 1-877- OLERUP1
Fax: 610-344-7989
E-mail: info.us@olerup.com
Webpage: <http://www.olerup.com>

Efraim Hernández Sialino
Co-Dirección Técnica
M.N. 1869
CROCOIDON S.R.L.



DNA Size Marker

Inserto de producto

Catálogo: 103.202-100/500

Lote N°:

OLERUP SSP DNA Size Marker

Número de producto: 103.202-100/500

Número de lote:

Volumen: Producto N° 103.202-100: 2 x 500 ul

Producto N° 103.202.500: 10 x 500 ul

Concentración: 20 ng/ul

Formato: Listo para cargar , 10 ul por banda de gel

Fecha de expiración:

Almacenamiento : 2-8°C

5656

DESCRIPCION: 103.202-100: 2 viales, 500 ul cada uno.

103.202-500: 10 viales, 500 ul cada uno.

DNA ladder, con 7 bandas: 50,100,200,300,400,500 y 1000 bp,

20 ng/ul

En 10 mM Tris-HCl (pH 9.0), 50 mM KCl, 5 % (v/v) glicerol

(99.5 %), rojo cresol 100 ng/ul.

El DNA ladder contiene 7 fragmentos de igual intensidad:

Fragmento	Número de pares de bases
1	1000
2	500
3	400
4	300
5	200
6	100
7	50

USO DEL PRODUCTO

El DNA Size marker puede ser resuelto bien en geles estándares LE agarosa del 1-2%, en geles NuSieve 3:1 o Metaphor hasta el 4 %.

ALMACENAMIENTO: Almacenar a 2-8°C.

TRANSPORTE: El DNA Size Marker es transportado a temperatura ambiente.

ESTABILIDAD: El DNA Size marker es estable por 24 meses cuando se almacenó a 2-8°C.

Dra. Germán Stalino
Coordinadora Técnica
Tel. N° 7209
CROMOCION S.R.L.



CERTIFICADO DE ANALISIS

Olerup SSP DNA Size Marker

Número de producto: 103.202-100/-500

Número de lote:

Volumen: Producto Nº 103.202-100: 2 x 500 ul
Producto Nº 103.202.500: 10 x 500 ul

Concentración: 20 ng/ul

Fecha de expiración:

5656

10 ul de DNA Size Marker fueron separados sobre un gel de agarosa al 2 % teñido por bromuro de etidio.

Resultados: 7 fragmentos de 50,100,200,300,400,500 y 1000 bp, fueron visibles sobre un transiluminador UV.

Fecha de aprobación: año – mes – día

Aprobado por:

Supervisor de Control de Calidad

Vic. Hernán Gilardino
Sección de Control de Calidad
A.N. 1663
LABORATORIOS S.R.L.

DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD



Nombre del producto: DNA Size Marker
Producto número: 103.202-100/-500
Número de lote:
Uso a que está destinado: DNA Size Marker

Elaborador: Olerup SSP AB
Hasselstigen 1
SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia
Tel: +46 8 717 88 27
Fax: + 46 8 717 88 18

5600

Nosotros, Olerup SSP AB, declaramos que este producto, al cual se relaciona esta declaración de conformidad está en conformidad con los siguientes estándares y otros documentos normativos ISO 9001:2000 e ISO 13485:2003, siguiendo las directivas de la Directiva 98/79/EC sobre dispositivos médicos de diagnóstico, anexo III, según las leyes nacionales de los estados miembros de la Comunidad Europea.

El archivo de documentación técnica es mantenido en olerup SSP AB, Hasselstigen 1, SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia.

Fecha:

Director:

DOMICILIOS:

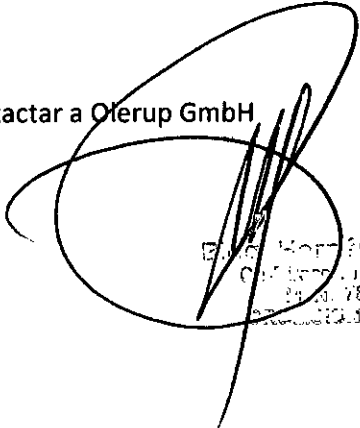
Elaborador: Olerup SSP AB, Hasselstigen 1, SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia
Tel: +46 8 717 88 27
Fax: + 46 8 717 88 18
E-mail: info-ssp@olerup.com
Web page: <http://www.olerup.com>

Distribuido por:

Olerup GmbH, Löwengasse 47/6, AT – 1030 Vienna, Austria.
Tel: +43-1-710 15 00
Fax: +43-1-710 15 00 10
E-mail: support-at@olerup.com
Web page: <http://www.olerup.com>

Olerup Inc., 901 S. Bolmar St., Suite R, West Chester, PA 19382
Tel: 1-877 – Olerup1
Fax: 610-344-7989
E-mail: info.us@olerup.com
Web page: <http://www.olerup.com>

Para información sobre los distribuidores en todo el mundo, contactar a Olerup GmbH



Elio Horacio Djalino
Olerup Inc., Fabrica
P.O. Box 7813
West Chester, PA 19382
U.S.A.

✓

HLA- Control Negativo

Inserto de producto



Instrucciones generales para uso

Catálogo: 102.102-01u - sin Taq polimerasa

Lote Nº:

Información específica de lote

www.olerup-ssp.com

OLERUP SSP HLA – CONTROL NEGATIVO SSP

Número de producto: 102.102-01u – sin Taq polimerasa

Número de lote:

Fecha de expiración:

Número de ensayos: 96

Número de pocillos por ensayo: 1

Almacenamiento de - primers pre-alicuotados: oscuridad a – 20°C

- Master Mix PCR: -20°C

- Selladores adhesivos PCR: Temperatura ambiente

- Inserto del producto: Temperatura ambiente

5656

ESTA DESCRIPCION DE PRODUCTO ES SOLO VÁLIDA PARA EL LOTE Nº XX

DESCRIPCION GENERAL

El Olerup SSP HLA- Control Negativo está indicado para ser usado como un control negativo en las tipificaciones de Olerup SSP.

El conjunto de primers contiene pares de primer Control Negativo, que amplifican más que el 95 % de los amplicones Olerup SSP HLA Clase I, DRB, DQB1 y DPB1, como así también todos los amplicones generados por los pares de primers control que coinciden con el gen de la hormona de crecimiento humana.

El Olerup SSP HLA- Control Negativo tiene una sensibilidad para detectar aproximadamente 50 copias de DNA template.

**DESCRIPCION DE PRODUCTO
HLA- CONTROL NEGATIVO SSP**

Contenido

El conjunto de primer contiene pares de primer Control negativo, que amplificarán más del 95 % de los amplicones Olerup SSP HLA Clase I, DRB, DQB1 y DPB1, como así también los amplicones generados por los pares de primer control que coinciden con el gen de la hormona de crecimiento humana.

Rango de medidas del producto PCR desde 75 a 430 pares de bases.

El producto PCR generado por el par de primer control es de 430 pares de bases.

Longitud de PCR	105	200	105	80	75	80
Producto						
5'- primer ¹	164	340	440	45	45	43
	5'- CAC ^{3'}	5'- Agg ^{3'}	5'- TTA ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}

Bloq. Hernán Sialino
Comisión Técnica
M. N. 7879
CROMION S.R.L.



3'- primer ²	231	2 nd I	507	59	58	57
	5'- Tg g ^{3'}	5'- AAA ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}	5'- CTC ^{3'}	5'- gg C ^{3'}	5'- CTC ^{3'}
A*	+	+	+			
B*	+	+	+			
Cw*	+	+	+			
DRB1				+	+	
DRB3				+	+	
DRB5				+		
DQB1					+	
DPB1						+

5656

¹ La posición del nucleótido para los genes HLA Clase I y el codón para los genes HLA Clase II, en el 2nd o 3rd exón, coincidiendo con la especificidad del determinante final 3' del primer es dada. Nucleótidos y numeración de codones como en el sitio web: www.ebi.ac.uk/imgt/hla.

La secuencia de los nucleótidos 3 terminales del primer es dada.

² La posición del nucleótido para genes HLA clase I y el codón para genes HLA clase II, en el 2nd o 3rd exón o el 2nd intron, coincide con la especificidad del determinante final 3' del primer dado en la dirección anti-sentido. Nucleótidos y numeración de codones como en el sitio web: www.ebi.ac.uk/imgt/hla. La secuencia de los nucleótidos 3 terminales del primer es dada.

La solución primer es prealiquotada dentro de pocillos PCR 0.2 ml. Cada pocillo contiene la misma solución de primer seco.

PCR Master Mix sin Taq, nucleótidos, buffer, glicerol y rojo cresol, como así también selladores adhesivos PCR son incluidos en el equipo.

1 reacción PCR con un volumen de reacción de 10 ul es realizado por ensayo.

Disposición de la placa

Cada ensayo consiste en 1 reacción PCR. Cada pocillo de placas PCR x 8 pocillos contiene el mismo primer mix.

1	1	1	1	1	1	1	1
---	---	---	---	---	---	---	---

La placa de PCR de 8 pocillos es marcada con "NC" en tinta gris/plata.

El pocillo N° 1 es marcado con el número de lote.

Una hilera tenue de números es vista entre los pocillos 1 y 2 o los pocillos 7 y 8 de las bandejas PCR. Estos se derivan a partir de la elaboración de las bandejas, y deben ignorarse.

Las placas PCR son cubiertas con un papel de aluminio compatible con PCR.

Por favor notar: Cuando se remueve cada pocillo PCR, asegurar que los pocillos/placas remanentes permanecen cubiertos. Usar un bisturí o un instrumento similar para cortar cuidadosamente el aluminio entre las placas/pocillos.

PROTOCOLO

Amplificación PCR

Para usuarios de equipos Olerup SSP que incluyen Taq polimerasa

Cortar un pocillo a partir de la placa PCR de 8 pocillos.

Adicionar 2 ul de agua bidestilada al pocillo de control negativo.

Adicionar 8 ul de PCR Master Mix con la mezcla Taq-H2O al pocillo de control negativo, es decir antes de que la muestra de DNA sea adicionada al PCR MAster Mix con la mezcla Taq-H2O.

Bioq. Hernán Stalino
Co. Dirección Técnica
M.N. 7819
PROMOION S.R.L.



Adicionar la muestra DNA al PCR Master Mix con la mezcla Taq-H₂O, mezclar bien y dispensar 10 ul del DNA_PCR MASTER Mix con mezcla de Taq-H₂O dentro de cada uno de los pocillos de la tipificación SSP, pero no dentro del pocillo de control negativo.

El mismo PCR Master mix sin Taq y la misma agua bidestilada que se usó para las tipificaciones deberían ser usados en el pocillo de control negativo. (El PCR Master mix sin Taq provisto con el equipo de Control negativo reemplaza el PCR Master Mix usado a partir de los equipos de tipificación sin Taq polimerasa.

Usar un ciclador térmico para 96 pocillos con tapa caliente. El gradiente de temperatura a través del bloque de calor debería ser < a 1°C.

Parámetros de ciclado térmico:

- | | | | | |
|----|---------------------|----------------------|-------------|-------------------------|
| 1. | 1 ciclo | 94°C | 2 min | desnaturalización |
| 2. | 10 ciclos | 94°C | 10 segundos | desnaturalización |
| | | 65°C | 60 segundos | hibridación y extensión |
| 3. | 20 ciclos | 94°C | 10 segundos | desnaturalización |
| | | 61°C | 50 segundos | hibridación |
| | | 72°C | 30 segundos | extensión |
| 4. | Mantenimiento final | Temperatura ambiente | | Si es menos de 8 horas |
| | | 4 °C | | Si es más de 8 horas |

5656

Los mismos parámetros de ciclado de PCR son usados para todos los equipos Olerup SSP.

Electroforesis en gel de agarosa

Preparar un gel de agarosa al 2 % (p/v) en 0.5 x TBE buffer. Disolver la agarosa por ebullición en un microondas. Dejar la solución del gel enfriar a 60°C. Teñir el gel antes de su fundición con bromuro de etidio (10 mg/ml), 5 ul por 100 ml de solución del gel. Para un más fácil manejo puede usar nuestras botellas gotero de bromuro de etidio (producto N° 103.301-10), 1 gota de bromuro de etidio por 50-75 ml de gel. Nota: el bromuro de etidio es un potencial carcinógeno.

Cargar los productos PCR, preferentemente usando una pipeta de 8 canales. Cargar un marcador de tamaño de DNA (escala de 100 pares de bases, producto N° 103.201-100) en uno de los pocillos por hilera.

Correr el gel en 0.5 x TBE buffer, sin recirculación del buffer, por 15-20 minutos a 8-10 V/cm.

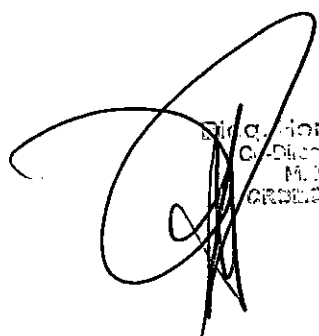
Documentación e Interpretación

Colocar el gel sobre un transiluminador UV y documentar por fotografía. Registrar la presencia o ausencia de los productos PCR.

En el pocillo de control negativo, ningún producto PCR debería ser visto. La presencia de productos PCR indica contaminación¹.

Si se detecta contaminación, un HLA Wipe test y ensayo de todos los reactivos debería ser realizado en orden de detectar la fuente de contaminación.

¹Los artefactos oligoméricos de primers pueden ser vistos. Esto no representa contaminación.


Dr. Germán Sialino
C. Dirección Técnica
M. N. 7222
OROLACION S.R.L.



CERTIFICADO DE ANALISIS

Olerup SSP HLA – Control Negativo SSP
Número de producto: 102.102-01u – sin Taq polimerasa
Número de lote:
Fecha de expiración:
Número de ensayos: 96
Número de pocillos por ensayo: 1

Especificación de Pocillo

Pocillo Nº	Producción Nº
1	Año- XX-xx

5656

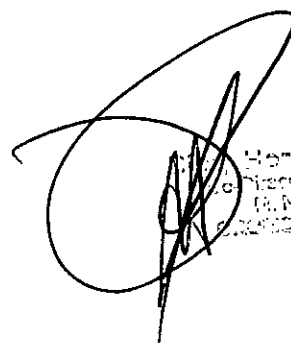
La solución de primer control negativo ha sido ensayada en una serie de diluciones de los productos PCR correspondientes, 1 a 10^3 hasta 1 a 10^9 .

Resultados: Los pares de primers control negativo pueden detectar contaminación con los productos PCR correspondientes diluidos entre 1 a 10^7 .

Fecha de aprobación: año – mes – día

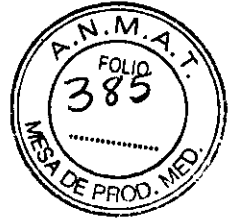
Aprobado por:

Supervisor de Control de Calidad



Hernán Sialino
Ingeniero Técnico
C.N. 1309
LABORATORIO S.R.L.

DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD



Nombre del producto: Olerup SSP HLA – Control Negativo
Producto número: 102.102-01u
Número de lote:
Uso a que está destinado: Control Negativo en la tipificación Olerup SSP HLA

Elaborador: Olerup SSP AB
Hasselstigen 1
SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia
Tel: +46 8 717 88 27
Fax: + 46 8 717 88 18

5650

Nosotros, Olerup SSP AB, declaramos que este producto, al cual se relaciona esta declaración de conformidad está en conformidad con los siguientes estándares y otros documentos normativos ISO 9001:2000 e ISO 13485:2003, siguiendo las directivas de la Directiva 98/79/EC sobre dispositivos médicos de diagnóstico, anexo III, según las leyes nacionales de los estados miembros de la Comunidad Europea.

El archivo de documentación técnica es mantenido en olerup SSP AB, Hasselstigen 1, SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia.

El representante autorizado está localizado dentro de la Comunidad Europea y es: Olerup SSP AB.

Fecha:

Director:

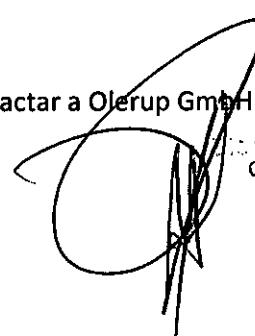
DOMICILIOS:

Elaborador: Olerup SSP AB, Hasselstigen 1, SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia
Tel: +46 8 717 88 27
Fax: + 46 8 717 88 18
E-mail: info-ssp@olerup.com
Web page: <http://www.olerup.com>

Distribuido por:
Olerup GmbH, Löwengasse 47/6, AT – 1030 Vienna, Austria.
Tel: +43-1-710 15 00
Fax: +43-1-710 15 00 10
E-mail: support-at@olerup.com
Web page: <http://www.olerup.com>

Olerup Inc., 901 S. Bolmar St., Suite R, West Chester, PA 19382
Tel: 1-877 – Olerup1
Fax: 610-344-7989
E-mail: info.us@olerup.com
Web page: <http://www.olerup.com>

Para información sobre los distribuidores en todo el mundo, contactar a Olerup GmbH


Mesa de Prod. Med.
Controlada Médica
M.N. 1903
CROCIOSAN S.R.L.

HOJA DE TRABAJO



OLERUP SSP
Olerup SSP HLA- Control Negativo SSP

Producto Nº: 102.102-01/01u
Lote Nº:
Fecha de expiración:

Nombre: Identificación de Muestra:
Fecha de extracción de DNA: Concentración (ng/ul):
Fecha de ensayo: Dato de revisión:
Ensayado por: Revisado por:
Interpretación:

5656

Rango de medidas de producto PCR a partir de 75 a 430 pares de bases.
El producto PCR generado por el par de primer control es de 430 pares de bases.

Longitud de PCR	105	200	105	80	75	80
Producto						
5'- primer ¹	164	340	440	45	45	43
	5'- CAC ^{3'}	5'- Agg ^{3'}	5'- TTA ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}
3'- primer ²	231	2 nd I	507	59	58	57
	5'- Tg g ^{3'}	5'- AAA ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}	5'- CTC ^{3'}	5'- gg C ^{3'}	5'- CTC ^{3'}
A*	+	+	+			
B*	+	+	+			
Cw*	+	+	+			
DRB1				+	+	
DRB3				+	+	
DRB5				+		
DQB1					+	
DPB1						+

¹ La posición del nucleótido para los genes HLA Clase I y el codón para los genes HLA Clase II, en el 2nd o 3rd exón, coincidiendo con la especificidad del determinante final 3' del primer es dada. Nucleótidos y numeración de codones como en el sitio web: www.ebi.ac.uk/imgt/hla.

La secuencia de los nucleótidos 3 terminales del primer es dada.

² La posición del nucleótido para genes HLA clase I y el codón para genes HLA clase II, en el 2nd o 3rd exón o el 2nd intron, coincide con la especificidad del determinante final 3' del primer dado en la dirección anti-sentido. Nucleótidos y numeración de codones como en el sitio web: www.ebi.ac.uk/imgt/hla. La secuencia de los nucleótidos 3 terminales del primer es dada.

Hernán Sialino
Co. Dirección Técnica
M. N. 7889
CROCODION S.R.L.



HLA Wipe Test – Control Negativo Inserto de producto

Instrucciones generales para uso

Catálogo: 102.101-01 – incluye Taq polimerasa

Lote Nº: Información específica de lote www.olerup-ssp.com

OLERUP SSP HLA WIPE TEST – CONTROL NEGATIVO

5656

Número de producto: 102.101-01 – incluyendo Taq polimerasa

Número de lote:

Fecha de expiración:

Número de ensayos: 96

Número de pocillos por ensayo: 1-2

Almacenamiento de - primers pre-alicuotados: oscuridad a - 20°C

- Control Positivo DNA: -20°C
- Master Mix PCR: -20°C
- Selladores adhesivos PCR: Temperatura ambiente
- Inserto del producto: Temperatura ambiente

ESTA DESCRIPCION DE PRODUCTO ES SOLO VÁLIDA PARA EL LOTE Nº XX

DESCRIPCION GENERAL

El Olerup SSP HLA Wipe Test – Control Negativo es indicado para uso en el monitoreo de la contaminación con amplicones generada por la línea de productos Olerup SSP y puede también ser usado con un control negativo en las tipificaciones Olerup SSP.

El conjunto de primers contiene pares de primer Control Negativo, que amplifica más el 95 % de los amplicones Olerup SSP HLA Clase I, DRB, DQB1 y DPB1 como así también todos los amplicones generados por los pares de primers control que coinciden con el gen de la hormona de crecimiento humana.

El Olerup SSP HLA Wipe Test – Control Negativo tiene una sensibilidad para detectar aproximadamente 50 copias de DNA template.

**DESCRIPCION DE PRODUCTO
HLA-WIPE TEST – CONTROL NEGATIVO**

Contenido

El conjunto de primer contiene pares de primer Control negativo, que amplificarán más del 95 % de los amplicones Olerup SSP HLA Clase I, DRB, DQB1 y DPB1, como así también los amplicones generados por los pares de primer control que coinciden con el gen de la hormona de crecimiento humana.

Rango de medidas del producto PCR desde 75 a 430 pares de base.
El producto PCR generado por el par de primer control es de 430 pares de bases.

Longitud de PCR	105	200	105	80	75	80
Producto						
5'- primer ¹	164	340	440	45	45	43

↓

[Handwritten Signature]
Blaq. Hernán Stalino
Co-Director Técnica
A.N. 0010
CROMCOT S.R.L.

	5'-CAC ^{3'}	5'-Agg ^{3'}	5'-TTA ^{3'}	5'-Tg g ^{3'}	5'-Tg g ^{3'}	5'-Tg g ^{3'}
3'- primer ²	231	2 nd l	507	59	58	57
	5'-Tg g ^{3'}	5'-AAA ^{3'}	5'-Tg g ^{3'}	5'-CTC ^{3'}	5'-gg C ^{3'}	5'-CTC ^{3'}
A*	+	+	+			
B*	+	+	+			
Cw*	+	+	+			
DRB1				+	+	
DRB3				+	+	
DRB5				+		
DQB1					+	
DPB1						+

5656

¹ La posición del nucleótido para los genes HLA Clase I y el codón para los genes HLA Clase II, en el 2nd o 3rd exón, coincidiendo con la especificidad del determinante final 3' del primer es dada. Nucleótidos y numeración de codones como en el sitio web: www.ebi.ac.uk/imgt/hla.

La secuencia de los nucleótidos 3 terminales del primer es dada.

² La posición del nucleótido para genes HLA clase I y el codón para genes HLA clase II, en el 2nd o 3rd exón o el 2nd intron, coincide con la especificidad del determinante final 3' del primer dad en la dirección anti-sentido. Nucleótidos y numeración de codones como en el sitio web: www.ebi.ac.uk/imgt/hla. La secuencia de los nucleótidos 3 terminales del primer es dada.

La solución primer es prealiquotada dentro de pocillos PCR 0.2 ml. Cada pocillo contiene la misma solución de primer seco.

PCR Master Mix completo con Taq, Taq polimerasa, nucleótidos, buffer, glicerol y rojo cresol, como así también selladores adhesivos PCR son incluidos en el equipo.

1-2 reacciones PCR con un volumen de reacción de 10 ul, son realizadas por ensayo.

Control positivo DNA es incluido en el equipo, 20 ng/ul, 75 ul.

Hisopos estériles, punta de fibra de Dacron, aplicador plástico son incluidos en el equipo. Uno por cada paquete, 100 por equipo.

Disposición de la placa

Cada ensayo consiste en 1-2 reacciones PCR. Cada pocillo de placas PCR x 8 pocillos contiene el mismo primer mix.

1	1	1	1	1	1	1	1
---	---	---	---	---	---	---	---

La placa de PCR de 8 pocillos es marcada con "WT".

El pocillo Nº 1 es marcado con el número de lote.

Una hilera tenue de números es vista entre los pocillos 1 y 2 o los pocillos 7 y 8 de las bandejas PCR. Estos se derivan a partir de la elaboración de las bandejas, y deben ignorarse.

Las placas PCR son cubiertas con un papel de aluminio compatible con PCR.

Por favor notar: Cuando se remueve cada pocillo PCR, asegurar que los pocillos/placas remanentes permanecen cubiertos. Usar un bisturí o un instrumento similar para cortar cuidadosamente el aluminio entre las placas/pocillos.

PROTOCOLO

Se recomienda que 10 a 12 áreas usadas comúnmente se ensayen para contaminación; área de preparación de DNA, área de localización PCR y área de post-amplificación. Ensayar por

Morán Sialino
Dirección Técnica
M.N. 7809
CROMOION S.R.L.



ejemplo: bancos de trabajo, pipetas, centrifugas, refrigerador y asas del congelador, perillas de las puertas, estantes.

1. En una localización libre de DNA rotular un tubo de 1.5 ml para cada una de las áreas de muestra.
2. Adicionar 500 ul de agua destilada estéril a cada tubo.
3. Humedecer uno de los hisopos aplicadores estériles provistos en cada tubo.
4. Limpiar el área a ser ensayada con el aplicador humedecido, y volver a colocarlo en el tubo original. Romper el tronco plástico del aplicador y cerrar la tapa del tubo.
5. Agite brevemente.
6. Incubar las muestras a 55°C en un baño de agua o en un bloque de calor por 1 hora.
7. Centrifugar, 1 minuto, 10000 a 13000 rpm en una microcentrífuga.
8. Remover y descartar el aplicador a partir de tubos con pinzas estériles.

5658

Amplificación PCR

Pocillo control positivo

Adicionar 1 ul del Control DNA Positivo provisto y 1 ul de agua destilada al pocillo 1.

Pocillo control negativo

Adicionar 2 ul de agua destilada al pocillo 2.

Para cada área a ensayar correr dos pocillos.

Adicionar al primer pocillo para cada área a ensayar; 1 ul de la muestra a ensayar y 1 ul de agua destilada.

Adicionar al segundo pocillo para cada área a ensayar; 1 ul de muestra a ensayar y 1 ul de DNA Control Positivo. Esto servirá como un control de inhibición.

102.101-01 – incluyendo Taq polimerasa

Dentro de un tubo de 0.5 ml mezclar:

3 ul de Master Mix PCR completo con Taq por el número de pocillos + 2

Y

5 ul de agua destilada por el número de pocillos + 2

Por ejemplo para Un Ensayo Wipe consistente de (i) pocillo control positivo, (ii) pocillo control negativo y (iii) 10 áreas ensayadas (2 x 10 pocillos) mezclar:
 $24 \times 3 = 72$ ul de Master Mix PCR completo con Taq y $24 \times 5 = 120$ ul de agua destilada.

Mezclar bien, dispensar 8 ul de Master Mix PCR completo con mezcla Taq – H₂O dentro de cada uno de los pocillos del HLA Wipe test. Pocillo N° 1 de los 8 pocillos de las placas PCR es marcado con el número de lote. Cerrar la placa de 8-pocillos con los selladores provistos.

El HLA Wipe Test Control Negativo puede también ser usado como un control negativo cuando se usan los equipos Olerup SSP.

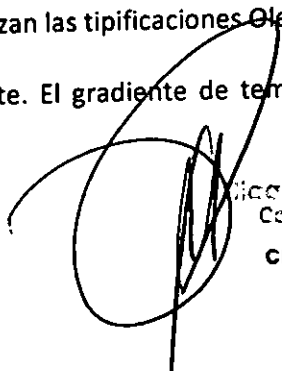
Cortar un pocillo con un par de tijeras. Adicionar a este pocillo;

3 ul de Master Mix PCR completo con Taq

7 ul de agua destilada

Incluir este pocillo como un control negativo cuando se realizan las tipificaciones Olerup SSP.

Usar un ciclador térmico para 96 pocillos con tapa caliente. El gradiente de temperatura a través del bloque de calor debería ser $< 1^{\circ}\text{C}$.


Mónica Marín Sicilino
Co-Dirección Técnica
M. N. 7802
CRONCIÓN D.L.L.



CERTIFICADO DE ANALISIS

Olerup SSP HLA Wipe Test – Control Negativo

Número de producto: 102.101-01 – incluyendo Taq polimerasa

Número de lote:

Fecha de expiración:

Número de ensayos: 96

Número de pocillos por ensayo: 1-2

5656

Especificación de Pocillo

Pocillo Nº	Producción Nº
1	Año- XX-xx

La solución de primer control negativo ha sido ensayada en una serie de diluciones de los productos PCR correspondientes, 1 a 10^3 hasta 1 a 10^9 .

El Control Positivo DNA ha sido ensayado con el equipo HLA Wipe Test y dio lugar a los amplicones PCR.

Resultados: Los pares de primers control negativo pueden detectar contaminación con los productos PCR correspondientes diluidos entre 1 a 10^7 .

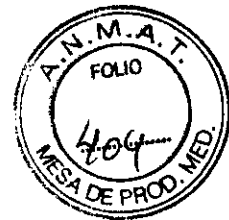
Fecha de aprobación: año – mes – día

Aprobado por:

Supervisor de Control de Calidad

↓

Hernán Stalino
Ingeniero en Informática
M. N. 1803
CENTRO S.R.L.



DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD

Nombre del producto: Olerup SSP HLA Wipe Test – Control Negativo
Producto número: 102.101-01
Número de lote:
Uso a que está destinado: Detección de contaminación con amplicones HLA.

5656

Elaborador: Olerup SSP AB
Hasselstigen 1
SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia
Tel: +46 8 717 88 27
Fax: + 46 8 717 88 18

Nosotros, Olerup SSP AB, declaramos que este producto, al cual se relaciona esta declaración de conformidad está en conformidad con los siguientes estándares y otros documentos normativos ISO 9001:2000 e ISO 13485:2003, siguiendo las directivas de la Directiva 98/79/EC sobre dispositivos médicos de diagnóstico, anexo III, según las leyes nacionales de los estados miembros de la Comunidad Europea.

El archivo de documentación técnica es mantenido en olerup SSP AB, Hasselstigen 1, SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia.

El representante autorizado está localizado dentro de la Comunidad Europea y es: Olerup SSP AB.

Fecha:

Director:

DOMICILIOS:

Elaborador: Olerup SSP AB, Hasselstigen 1, SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia
Tel: +46 8 717 88 27
Fax: + 46 8 717 88 18
E-mail: info-ssp@olerup.com
Web page: <http://www.olerup.com>

Distribuido por:

Olerup GmbH, Löwengasse 47/6, AT – 1030 Vienna, Austria.
Tel: +43-1-710 15 00
Fax: +43-1-710 15 00 10
E-mail: support-at@olerup.com
Web page: <http://www.olerup.com>

Olerup Inc., 901 S. Bolmar St., Suite R, West Chester, PA 19382
Tel: 1-877 – Olerup1
Fax: 610-344-7989
E-mail: info.us@olerup.com
Web page: <http://www.olerup.com>

Para información sobre los distribuidores en todo el mundo, contactar a Olerup GmbH

Marcón Sialino
Gerente General
A.N.M.A.T.
MESA DE PROD. MED.



HOJA DE TRABAJO

OLERUP SSP
Olerup SSP HLA Wipe Test – Control Negativo

Producto Nº: 102.101-01/01u

Lote Nº:

Fecha de expiración:

5650

Nombre: Identificación de Muestra:
 Fecha de extracción de DNA: Concentración (ng/ul):
 Fecha de ensayo: Dato de revisión:
 Ensayado por: Revisado por:
 Interpretación:

Rango de medidas de producto PCR a partir de 75 a 430 pares de bases.
 El producto PCR generado por el par de primer control es de 430 pares de bases.

Longitud de PCR	105	200	105	80	75	80
Producto						
5'- primer ¹	164	340	440	45	45	43
	5'- CAC ^{3'}	5'- Agg ^{3'}	5'- TTA ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}
3'- primer ²	231	2 nd l	507	59	58	57
	5'- Tg g ^{3'}	5'- AAA ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}	5'- CTC ^{3'}	5'- gg C ^{3'}	5'- CTC ^{3'}
A*	+	+	+			
B*	+	+	+			
Cw*	+	+	+			
DRB1				+	+	
DRB3				+	+	
DRB5				+		
DQB1					+	
DPB1						+

¹ La posición del nucleótido para los genes HLA Clase I y el codón para los genes HLA Clase II, en el 2nd o 3rd exón, coincidiendo con la especificidad del determinante final 3' del primer es dada. Nucleótidos y numeración de codones como en el sitio web: www.ebi.ac.uk/imgt/hla.

La secuencia de los nucleótidos 3 terminales del primer es dada.

² La posición del nucleótido para genes HLA clase I y el codón para genes HLA clase II, en el 2nd o 3rd exón o el 2nd intron, coincide con la especificidad del determinante final 3' del primer dad en la dirección anti-sentido. Nucleótidos y numeración de codones como en el sitio web: www.ebi.ac.uk/imgt/hla. La secuencia de los nucleótidos 3 terminales del primer es dada.

Moq. Hernán Sialino
 Co-Dirección Técnica
 M.N. 7899
 CROCODION S.R.L.

HLA Wipe Test – Control Negativo Inserto de producto

Instrucciones generales para uso



Catálogo: 102.101-01u – sin Taq polimerasa

Lote Nº:

Información específica de lote

www.olerup-ssp.com

5656

OLERUP SSP HLA WIPE TEST – CONTROL NEGATIVO

Número de producto: 102.101-01u – sin Taq polimerasa

Número de lote:

Fecha de expiración:

Número de ensayos: 96

Número de pocillos por ensayo: 1-2

Almacenamiento de - primers pre-alicuotados: oscuridad a – 20°C

- Control Positivo DNA: -20°C
- Master Mix PCR: -20°C
- Selladores adhesivos PCR: Temperatura ambiente
- Inserto del producto: Temperatura ambiente

ESTA DESCRIPCION DE PRODUCTO ES SOLO VÁLIDA PARA EL LOTE Nº XX

DESCRIPCION GENERAL

El Olerup SSP HLA Wipe Test – Control Negativo es indicado para uso en el monitoreo de la contaminación con amplicones generada por la línea de productos Olerup SSP y puede también ser usado con un control negativo en las tipificaciones Olerup SSP.

El conjunto de primers contiene pares de primer Control Negativo, que amplifican más el 95 % de los amplicones Olerup SSP HLA Clase I, DRB, DQB1 y DPB1 como así también todos los amplicones generados por los pares de primers control que coinciden con el gen de la hormona de crecimiento humana.

El Olerup SSP HLA Wipe Test – Control Negativo tiene una sensibilidad para detectar aproximadamente 50 copias de DNA template.

DESCRIPCION DE PRODUCTO
HLA-WIPE TEST – CONTROL NEGATIVO

Contenido

El conjunto de primer contiene pares de primer Control negativo, que amplificarán más del 95 % de los amplicones Olerup SSP HLA Clase I, DRB, DQB1 y DPB1, como así también los amplicones generados por los pares de primer control que coinciden con el gen de la hormona de crecimiento humana.

Rango de medidas del producto PCR desde 75 a 430 pares de base.

El producto PCR generado por el par de primer control es de 430 pares de bases.

Longitud de PCR	105	200	105	80	75	80
Producto						
5'- primer ¹	164	340	440	45	45	43

Stalino
Sección Técnica
N. 7809
GROMOION S.R.L.

	5'-CAC ^{3'}	5'-Agg ^{3'}	5'-TTA ^{3'}	5'-Tg g ^{3'}	5'-Tg g ^{3'}	5'-Tg g ^{3'}
3'- primer ²	231	2 nd I	507	59	58	57
	5'-Tg g ^{3'}	5'-AAA ^{3'}	5'-Tg g ^{3'}	5'-CTC ^{3'}	5'-gg C ^{3'}	5'-CTC ^{3'}
A*	+	+	+			
B*	+	+	+			
Cw*	+	+	+			
DRB1				+	+	
DRB3				+	+	
DRB5				+		
DQB1					+	
DPB1						+

56E

¹ La posición del nucleótido para los genes HLA Clase I y el codón para los genes HLA Clase II, en el 2nd o 3rd exón, coincidiendo con la especificidad del determinante final 3' del primer es dada. Nucleótidos y numeración de codones como en el sitio web: www.ebi.ac.uk/imgt/hla. La secuencia de los nucleótidos 3 terminales del primer es dada.

² La posición del nucleótido para genes HLA clase I y el codón para genes HLA clase II, en el 2nd o 3rd exón o el 2nd intron, coincide con la especificidad del determinante final 3' del primer dada en la dirección anti-sentido. Nucleótidos y numeración de codones como en el sitio web: www.ebi.ac.uk/imgt/hla. La secuencia de los nucleótidos 3 terminales del primer es dada.

La solución primer es prealiquotada dentro de pocillos PCR 0.2 ml. Cada pocillo contiene la misma solución de primer seco.

PCR Master Mix completo sin Taq, nucleótidos, buffer, glicerol y rojo cresol, como así también selladores adhesivos PCR son incluidos en el equipo.

1-2 reacciones PCR con un volumen de reacción de 10 ul, son realizadas por ensayo.

Control positivo DNA es incluido en el equipo, 20 ng/ul, 75 ul.

Hisopos estériles, punta de fibra de Dacron, aplicador plástico son incluidos en el equipo. Uno por cada paquete, 100 por equipo.

Disposición de la placa

Cada ensayo consiste en 1-2 reacciones PCR. Cada pocillo de placas PCR x 8 pocillos contiene el mismo primer mix.

1	1	1	1	1	1	1	1
---	---	---	---	---	---	---	---

La placa de PCR de 8 pocillos es marcada con "WT" en tinta gris/plata.

El pocillo N° 1 es marcado con el número de lote.

Una hilera tenue de números es vista entre los pocillos 1 y 2 o los pocillos 7 y 8 de las bandejas PCR. Estos se derivan a partir de la elaboración de las bandejas, y deben ignorarse.

Las placas PCR son cubiertas con un papel de aluminio compatible con PCR.

Por favor notar: Cuando se remueve cada pocillo PCR, asegurar que los pocillos/placas remanentes permanecen cubiertos. Usar un bisturí o un instrumento similar para cortar cuidadosamente el aluminio entre las placas/pocillos.

PROTOCOLO

Se recomienda que 10 a 12 áreas usadas comúnmente se ensayen para contaminación; área de preparación de DNA, área de localización PCR y área de post-amplificación. Ensayar por

H. Hernán Sialino
Co-Ejecución Técnica
M. N. 7809
CROMCION S.R.L.



ejemplo: bancos de trabajo, pipetas, centrifugas, refrigerador y asas del congelador, perillas de las puertas, estantes.

1. En una localización libre de DNA rotular un tubo de 1.5 ml para cada una de las áreas de muestra.
2. Adicionar 500 ul de agua destilada estéril a cada tubo.
3. Humedecer uno de los hisopos aplicadores estériles provistos en cada tubo.
4. Limpiar el área a ser ensayada con el aplicador humedecido, y volver a colocarlo en el tubo original. Romper el tronco plástico del aplicador y cerrar la tapa del tubo.
5. Agite brevemente.
6. Incubar las muestras a 55°C en un baño de agua o en un bloque de calor por 1 hora.
7. Centrifugar, 1 minuto, 10000 a 13000 rpm en una microcentrifuga.
8. Remover y descartar el aplicador a partir de tubos con pinzas estériles.

5656

Amplificación PCR

Pocillo control positivo

Adicionar 1 ul del Control DNA Positivo provisto y 1 ul de agua destilada al pocillo 1.

Pocillo control negativo

Adicionar 2 ul de agua destilada al pocillo 2.

Para cada área a ensayar correr dos pocillos.

Adicionar al primer pocillo para cada área a ensayar; 1 ul de la muestra a ensayar y 1 ul de agua destilada.

Adicionar al segundo pocillo para cada área a ensayar; 1 ul de muestra a ensayar y 1 ul de DNA Control Positivo. Esto servirá como un control de inhibición.

102.101-01u – sin Taq polimerasa

Dentro de un tubo de 0.5 ml mezclar:

3 ul de Master Mix PCR sin Taq x el número de pocillos + 2,
0.1 ul de Taq polimerasa (5 unidades/ul) x el número de pocillos + 2 y
(5 – 0.1) ul de agua destilada x el número de pocillos + 2

Por ejemplo para Un Ensayo Wipe consistente de (i) pocillo control positivo, (ii) pocillo control negativo y (iii) 10 áreas ensayadas (2 x 10 pocillos) mezclar:

$24 \times 3 = 72$ ul de Master Mix PCR sin Taq y

$24 \times 0.1 = 2.4$ ul de Taq polimerasa

$(24 \times 5) - (24 \times 0.1) = 117.6$ ul de agua destilada.

Mezclar bien, dispensar 8 ul de Master Mix PCR sin Taq con la mezcla Taq – H₂O dentro de cada uno de los pocillos del HLA Wipe test. Pocillo N° 1 de los 8 pocillos de las placas PCR es marcado con el número de lote. Cerrar la placa de 8 pocillos con los selladores provistos.

El HLA Wipe Test Control Negativo puede también ser usado como un control negativo cuando se usan los equipos Olerup SSP.

Cortar un pocillo con un par de tijeras. Adicionar a este pocillo;

3 ul de Master Mix PCR sin Taq

0.1 ul de Taq polimerasa (5 unidades/ul)

6.9 ul de agua destilada

Incluir este pocillo como un control negativo cuando se realizan las tipificaciones Olerup SSP.

f

Dr. Hernán Djalino
Co-Director Técnica
M.N. 7839
GENOTOM S.R.L.

Usar un ciclador térmico para 96 pocillos con tapa caliente. El gradiente de temperatura a través del bloque de calor debería ser $< a 1^{\circ}\text{C}$.

Parámetros de ciclado térmico:

- | | | | | |
|----|-----------|------|-------------|-------------------------|
| 1. | 1 ciclo | 94°C | 2 min | desnaturalización |
| 2. | 10 ciclos | 94°C | 10 segundos | desnaturalización |
| | | 65°C | 60 segundos | hibridación y extensión |
| 3. | 20 ciclos | 94°C | 10 segundos | desnaturalización |
| | | 61°C | 50 segundos | hibridación |
| | | 72°C | 30 segundos | extensión |

5 6 5 6

Los mismos parámetros de ciclado de PCR son usados para todos los equipos Olerup SSP.

Electroforesis en gel de agarosa

Preparar un gel de agarosa al 2 % (p/v) en 0.5 x TBE buffer. Disolver la agarosa por ebullición en un microondas. Dejar la solución del gel enfriar a 60°C. Teñir el gel antes de su fundición con bromuro de etidio (10 mg/ml), 5 ul por 100 ml de solución del gel. Para un más fácil manejo puede usar nuestras botellas gotero de bromuro de etidio (producto N° 103.301-10), 1 gota de bromuro de etidio por 50-75 ml de gel. Nota: el bromuro de etidio es un potencial carcinógeno.

Cargar los productos PCR, preferentemente usando una pipeta de 8 canales. Cargar un marcador de tamaño de DNA (escala de 100 pares de bases) en uno de los pocillos por hilera. Correr el gel en 0.5 x TBE buffer, sin recirculación del buffer, por 15-20 minutos a 8-10 V/cm.

Documentación e Interpretación

Colocar el gel sobre un transiluminador UV y documentar por fotografía. Registrar la presencia o ausencia de los productos PCR.

HLA Wipe Test

En el carril del control positivo, uno o varios productos PCR deberían ser vistos.

En el carril del control negativo, ningún producto PCR debería ser visto¹.

La presencia de productos PCR en los carriles de muestra sin Control Positivo DNA, indican contaminación¹.

La ausencia de producto PCR en los carriles de muestra sin Control Positivo DNA muestran que ninguna contaminación detectable está presente.

En los carriles de muestra con el Control Positivo DNA, productos PCR de igual intensidad como en el carril de control positivo deberían ser vistos. Si esos productos PCR son más débiles que los productos PCR en el carril de control positivo, entonces un inhibidor puede estar PRESENTE EN LA MUESTRA. El ensayo debería ser repetido con la muestra diluida 1:50 en agua destilada estéril.

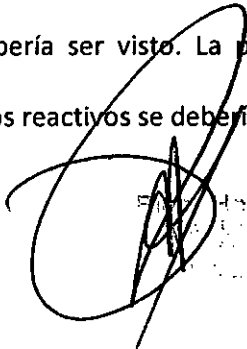
Si se detecta contaminación, limpiar el área con una solución de lavandina al 10 % y re-ensayar el área.

¹Los artefactos oligoméricos de primers pueden ser vistos. Esto no representa contaminación.

Control negativo

En el pocillo de control negativo ningún producto PCR debería ser visto. La presencia de productos PCR indican contaminación¹.

Si se detecta contaminación, un wipe test y ensayo de todos los reactivos se debería realizar de modo de detectar la fuente de la contaminación.


Eva Daniela Sialino
Mesa de Prod. Med.
13
2004



CERTIFICADO DE ANALISIS

Olerup SSP HLA Wipe Test – Control Negativo
Número de producto: 102.101-01u – sin Taq polimerasa
Número de lote:
Fecha de expiración:
Número de ensayos: 96
Número de pocillos por ensayo: 1-2

5656

Especificación de Pocillo

Pocillo Nº	Producción Nº
1	Año- XX-xx

La solución de primer control negativo ha sido ensayada en una serie de diluciones de los productos PCR correspondientes, 1 a 10³ hasta 1 a 10⁹.
El Control Positivo DNA ha sido ensayado con el equipo HLA Wipe Test y dio lugar a los amplicones PCR.

Resultados: Los pares de primers control negativo pueden detectar contaminación con los productos PCR correspondientes diluidos entre 1 a 10⁷.

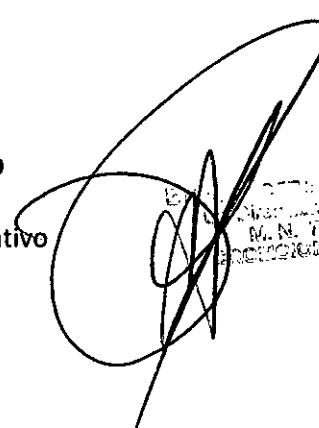
Fecha de aprobación: año – mes – día

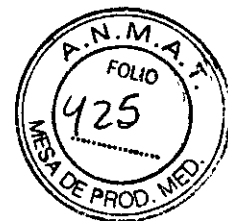
Aprobado por:

Supervisor de Control de Calidad

DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD

Nombre del producto: Olerup SSP HLA Wipe Test – Control Negativo


E. J. Stelino
Mesa de Prod. Med.
M.N. 782
Instituto S.R.L.



Producto número: 102.101-01u

Número de lote:

Uso a que está destinado: Detección de contaminación con amplicones HLA.

Elaborador: Olerup SSP AB

Hasselstigen 1

SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia

Tel: +46 8 717 88 27

Fax: + 46 8 717 88 18

565

Nosotros, Olerup SSP AB, declaramos que este producto, al cual se relaciona esta declaración de conformidad está en conformidad con los siguientes estándares y otros documentos normativos ISO 9001:2000 e ISO 13485:2003, siguiendo las directivas de la Directiva 98/79/EC sobre dispositivos médicos de diagnóstico, anexo III, según las leyes nacionales de los estados miembros de la Comunidad Europea.

El archivo de documentación técnica es mantenido en olerup SSP AB, Hasselstigen 1, SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia.

El representante autorizado está localizado dentro de la Comunidad Europea y es: Olerup SSP AB.

Fecha:

Director:

DOMICILIOS:

Elaborador: Olerup SSP AB, Hasselstigen 1, SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia

Tel: +46 8 717 88 27

Fax: + 46 8 717 88 18

E-mail: info-ssp@olerup.com

Web page: <http://www.olerup.com>

Distribuido por:

Olerup GmbH, Löwengasse 47/6, AT – 1030 Vienna, Austria.

Tel: +43-1-710 15 00

Fax: +43-1-710 15 00 10

E-mail: support-at@olerup.com

Web page: <http://www.olerup.com>

Olerup Inc., 901 S. Bolmar St., Suite R, West Chester, PA 19382

Tel: 1-877 – Olerup1

Fax: 610-344-7989

E-mail: info.us@olerup.com

Web page: <http://www.olerup.com>

Para información sobre los distribuidores en todo el mundo, contactar a Olerup GmbH

HOJA DE TRABAJO

OLERUP SSP

Olerup SSP HLA Wipe Test – Control Negativo

Hernán Sialino
Dir. Dirección Técnica
M. N. 7809
ORGANIZACIÓN S.R.L.



5656

Producto N°: 102.101-01/01u
 Lote N°:
 Fecha de expiración:

Nombre: Identificación de Muestra:
 Fecha de extracción de DNA: Concentración (ng/ul):
 Fecha de ensayo: Dato de revisión:
 Ensayado por: Revisado por:
 Interpretación:

Rango de medidas de producto PCR a partir de 75 a 430 pares de bases.
 El producto PCR generado por el par de primer control es de 430 pares de bases.

Longitud de PCR	105	200	105	80	75	80
Producto						
5'- primer ¹	164	340	440	45	45	43
	5' - CAC ^{3'}	5' - Agg ^{3'}	5' - TTA ^{3'}	5' - Tg g ^{3'}	5' - Tg g ^{3'}	5' - Tg g ^{3'}
3'- primer ²	231	2 nd I	507	59	58	57
	5' - Tg g ^{3'}	5' - AAA ^{3'}	5' - Tg g ^{3'}	5' - CTC ^{3'}	5' - gg C ^{3'}	5' - CTC ^{3'}
A*	+	+	+			
B*	+	+	+			
Cw*	+	+	+			
DRB1				+	+	
DRB3				+	+	
DRB5				+		
DQB1					+	
DPB1						+

¹ La posición del nucleótido para los genes HLA Clase I y el codón para los genes HLA Clase II, en el 2nd o 3rd exón, coincidiendo con la especificidad del determinante final 3' del primer es dada. Nucleótidos y numeración de codones como en el sitio web: www.ebi.ac.uk/imgt/hla.

La secuencia de los nucleótidos 3 terminales del primer es dada.

² La posición del nucleótido para genes HLA clase I y el codón para genes HLA clase II, en el 2nd o 3rd exón o el 2nd intron, coincide con la especificidad del determinante final 3' del primer dada en la dirección anti-sentido. Nucleótidos y numeración de codones como en el sitio web: www.ebi.ac.uk/imgt/hla. La secuencia de los nucleótidos 3 terminales del primer es dada.

↓

Hernán Sialino
 Co-Dirección Técnica
 M. N. 7909
 CROMOION S.R.L.



DNA Size Marker for short gel runs

Inserto de producto

Catálogo: 103.203-100/500

Lote N°:

OLERUP SSP DNA Size Marker for short gels runs

5050

Número de producto: 103.203-100/500

Número de lote:

Volumen: Producto N° 103.203-100: 2 x 500 ul

Producto N° 103.203-500: 10 x 500 ul

Concentración: 20 ng/ul

Formato: Listo para cargar , 10 ul por banda de gel

Fecha de expiración:

Almacenamiento : 2-8°C

DESCRIPCION: 103.203-100: 2 viales, 500 ul cada uno.

103.203-500: 10 viales, 500 ul cada uno.

DNA ladder, 4 bandas: 50,200,500 y 1000 bp.

Intensidad doble de la banda de 200 bp.

20 ng/ul en 10 mM Tris ClH (pH 9.0), 50 nM KCl, 5 % (v/v)

Glicerol (99.5%), rojo cresol 100 ng/ul.

El DNA ladder contiene 4 fragmentos, intensidad doble de banda de 200 bp:

Fragmento	Número de pares de bases
1	1000
2	500
3	200
4	50

USO DEL PRODUCTO

El DNA Size marker puede ser resuelto bien en geles estándares LE agarosa del 1-2%, en geles NuSieve 3:1 o Metaphor hasta el 4 %.

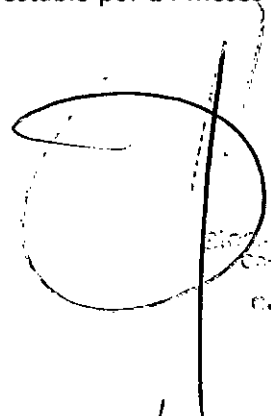
El DNA Size marcador para migraciones cortas de gel es provisto en un formato de carga listo para cargar. Típicamente una carga de 10 ul por banda de gel del marcador DNA Size para corridas cortas de gel equivale a 200 ng del marcador DNA Size para corridas cortas de gel.

ALMACENAMIENTO: Almacenar a 2-8°C.

TRANSPORTE: El DNA Size Marker para corridas cortas de gel es transportado a temperatura ambiente.

ESTABILIDAD: El DNA Size marker para corridas cortas de gel es estable por 24 meses cuando se almacenó a 2-8°C.

✓


Dra. María Dolores Gialino
Coordinadora Técnica
B. 11. 1989
G. 11. 1989 S.R.L.



CERTIFICADO DE ANALISIS

Olerup SSP DNA Size Marker for short gel runs
Número de producto: 103.203-100/-500
Número de lote:
Volumen: Producto Nº 103.203-100: 2 x 500 ul
Producto Nº 103.203.500: 10 x 500 ul
Concentración: 20 ng/ul
Fecha de expiración:

5656

10 ul de DNA Size Marker fueron separados sobre un gel de agarosa al 2 % teñido por bromuro de etidio.

Resultados: 4 fragmentos de 50,200, 500 y 1000 bp, fueron visibles sobre un transiluminador UV. Intensidad doble de fragmentos 200 bp.

Fecha de aprobación: año – mes – día

Aprobado por:

Supervisor de Control de Calidad

E. J. Hernán Stalino
Lic. Gestión Técnica
M. N. 7889
COMISION S.R.L.



DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD

Nombre del producto: DNA Size Marker for short gel runs
Producto número: 103.203-100/-500
Número de lote:
Uso a que está destinado: DNA Size Marker for short gel runs

5 6 5 6

Elaborador: Olerup SSP AB
Hasselstigen 1
SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia
Tel: +46 8 717 88 27
Fax: + 46 8 717 88 18

Nosotros, Olerup SSP AB, declaramos que este producto, al cual se relaciona esta declaración de conformidad está en conformidad con los siguientes estándares y otros documentos normativos ISO 9001:2000 e ISO 13485:2003, siguiendo las directivas de la Directiva 98/79/EC sobre dispositivos médicos de diagnóstico, anexo III, según las leyes nacionales de los estados miembros de la Comunidad Europea.

El archivo de documentación técnica es mantenido en olerup SSP AB, Hasselstigen 1, SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia.

Fecha:

Director:

DOMICILIOS:

Elaborador: Olerup SSP AB, Hasselstigen 1, SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia
Tel: +46 8 717 88 27
Fax: + 46 8 717 88 18
E-mail: info-ssp@olerup.com
Web page: <http://www.olerup.com>

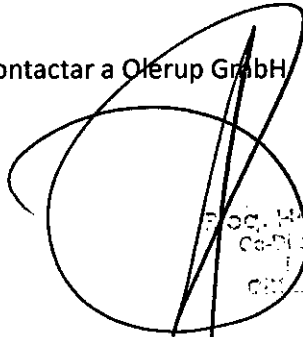
Distribuido por:

Olerup GmbH, Löwengasse 47/6, AT – 1030 Vienna, Austria.
Tel: +43-1-710 15 00
Fax: +43-1-710 15 00 10
E-mail: support-at@olerup.com
Web page: <http://www.olerup.com>

Olerup Inc., 901 S. Bolmar St., Suite R, West Chester, PA 19382
Tel: 1-877 – Olerup1
Fax: 610-344-7989
E-mail: info.us@olerup.com
Web page: <http://www.olerup.com>

Para información sobre los distribuidores en todo el mundo, contactar a Olerup GmbH

↓


D.º Sr. Ramón Sialino
Co-Dirección Técnica
1999
Olerup S.R.L.



HLA- Control Negativo

Inserto de producto

Instrucciones generales para uso

Catálogo: 102.102-01 – incluye Taq polimerasa

Lote Nº: Información específica de lote www.olerup-ssp.com

5656

OLERUP SSP HLA – CONTROL NEGATIVO SSP

Número de producto: 102.102-01 – incluyendo Taq polimerasa

Número de lote:

Fecha de expiración:

Número de ensayos: 96

Número de pocillos por ensayo: 1

Almacenamiento de - primers pre-alicuotados: oscuridad a – 20°C

- Master Mix PCR: -20°C
- Selladores adhesivos PCR: Temperatura ambiente
- Inserto del producto: Temperatura ambiente

ESTA DESCRIPCION DE PRODUCTO ES SOLO VÁLIDA PARA EL LOTE Nº XX

DESCRIPCION GENERAL

El Olerup SSP HLA- Control Negativo está indicado para ser usado como un control negativo en las tipificaciones de Olerup SSP.

El conjunto de primers contiene pares de primer Control Negativo, que amplifican más que el 95 % de los amplicones Olerup SSP HLA Clase I, DRB, DQB1 y DPB1, como así también todos los amplicones generados por los pares de primers control que coinciden con el gen de la hormona de crecimiento humana.

El Olerup SSP HLA- Control Negativo tiene una sensibilidad para detectar aproximadamente 50 copias de DNA template.

DESCRIPCION DE PRODUCTO HLA- CONTROL NEGATIVO SSP

Contenido

El conjunto de primer contiene pares de primer Control negativo, que amplificarán más del 95 % de los amplicones Olerup SSP HLA Clase I, DRB, DQB1 y DPB1, como así también los amplicones generados por los pares de primer control que coinciden con el gen de la hormona de crecimiento humana.

Rango de medidas del producto PCR desde 75 a 430 pares de bases.

El producto PCR generado por el par de primer control es de 430 pares de bases.

Longitud de PCR	105	200	105	80	75	80
Producto						
5'- primer ¹	164	340	440	45	45	45
	5'- CAC ^{3'}	5'- Agg ^{3'}	5'- TTA ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}

Biodiagnóstico Stalino
 Dirección Técnica
 C.P. N.º 309
 BARRIO DE LA UNIÓN S.R.L.

3'- primer ²	231	2 nd I	507	59	58	57
	5'- Tg g ^{3'}	5'- AAA ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}	5'- CTC ^{3'}	5'- gg C ^{3'}	5'- CTC ^{3'}
A*	+	+	+			
B*	+	+	+			
Cw*	+	+	+			
DRB1				+	+	
DRB3				+	+	
DRB5				+		
DQB1					+	
DPB1						+

5656

¹ La posición del nucleótido para los genes HLA Clase I y el codón para los genes HLA Clase II, en el 2nd o 3rd exón, coincidiendo con la especificidad del determinante final 3' del primer es dada. Nucleótidos y numeración de codones como en el sitio web: www.ebi.ac.uk/imgt/hla.

La secuencia de los nucleótidos 3 terminales del primer es dada.

² La posición del nucleótido para genes HLA clase I y el codón para genes HLA clase II, en el 2nd o 3rd exón o el 2nd intron, coincide con la especificidad del determinante final 3' del primer dado en la dirección anti-sentido. Nucleótidos y numeración de codones como en el sitio web: www.ebi.ac.uk/imgt/hla. La secuencia de los nucleótidos 3 terminales del primer es dada.

La solución primer es prealiquotada dentro de pocillos PCR 0.2 ml. Cada pocillo contiene la misma solución de primer seco.

PCR Master Mix completo con Taq, Taq polimerasa, nucleótidos, buffer, glicerol y rojo cresol, como así también selladores adhesivos PCR son incluidos en el equipo.

Disposición de la placa

Cada ensayo consiste en 1 reacción PCR. Cada pocillo de placas PCR x 8 pocillos contiene el mismo primer mix.

1	1	1	1	1	1	1	1
---	---	---	---	---	---	---	---

La placa de PCR de 8 pocillos es marcada con "NC" en tinta gris/plata.

El pocillo N° 1 es marcado con el número de lote.

Una hilera tenue de números es vista entre los pocillos 1 y 2 o los pocillos 7 y 8 de las bandejas PCR. Estos se derivan a partir de la elaboración de las bandejas, y deben ignorarse.

Las placas PCR son cubiertas con un papel de aluminio compatible con PCR.

Por favor notar: Cuando se remueve cada pocillo PCR, asegurar que los pocillos/placas remanentes permanecen cubiertos. Usar un bisturí o un instrumento similar para cortar cuidadosamente el aluminio entre las placas/pocillos.

PROTOCOLO

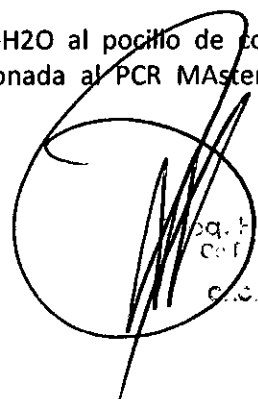
Amplificación PCR

Para usuarios de equipos Olerup SSP que incluyen Taq polimerasa

Cortar un pocillo a partir de la placa PCR de 8 pocillos.

Adicionar 2 ul de agua bidestilada al pocillo de control negativo.

Adicionar 8 ul de PCR Master Mix completo con la mezcla Taq-H2O al pocillo de control negativo, es decir antes de que la muestra de DNA sea adicionada al PCR Master Mix completo con la mezcla Taq- H2O.


 Dr. Hernán Stalino
 Cel. 011 54 911 1234567
 C.A. S.A. S.R.L.

- Adicionar la muestra DNA al PCR Master Mix completo con la mezcla Taq-H2O, mezclar bien y dispensar 10 ul del DNA_PCR MAster Mix completo con mezcla de Taq-H2O dentro de cada uno de los pocillos de la tipificación SSP, pero no dentro del pocillo de control negativo.

El mismo PCR Master mix completo con Taq y la misma agua bidestilada que se usó para las tipificaciones deberían ser usados en el pocillo de control negativo. (El PCR Master mix completo con Taq provisto con el equipo de Control negativo reemplaza el PCR Master Mix usado a partir de los equipos de tipificación que incluyen Taq polimerasa.

5656

Usar un ciclador térmico para 96 pocillos con tapa caliente. El gradiente de temperatura a través del bloque de calor debería ser < a 1°C.

Parámetros de ciclado térmico:

- | | | | | |
|----|---------------------|----------------------|-------------|-------------------------|
| 1. | 1 ciclo | 94°C | 2 min | desnaturalización |
| 2. | 10 ciclos | 94°C | 10 segundos | desnaturalización |
| | | 65°C | 60 segundos | hibridación y extensión |
| 3. | 20 ciclos | 94°C | 10 segundos | desnaturalización |
| | | 61°C | 50 segundos | hibridación |
| | | 72°C | 30 segundos | extensión |
| 4. | Mantenimiento final | Temperatura ambiente | | Si es menos de 8 horas |
| | | 4 °C | | Si es más de 8 horas |

Los mismos parámetros de ciclado de PCR son usados para todos los equipos Olerup SSP.

Electroforesis en gel de agarosa

Preparar un gel de agarosa al 2 % (p/v) en 0.5 x TBE buffer. Disolver la agarosa por ebullición en un microondas. Dejar la solución del gel enfriar a 60°C. Teñir el gel antes de su fundición con bromuro de etidio (10 mg/ml), 5 ul por 100 ml de solución del gel. Para un más fácil manejo puede usar nuestras botellas gotero de bromuro de etidio (producto N° 103.301-10), 1 gota de bromuro de etidio por 50-75 ml de gel. Nota: el bromuro de etidio es un potencial carcinógeno.

Cargar los productos PCR, preferentemente usando una pipeta de 8 canales. Cargar un marcador de tamaño de DNA (escala de 100 pares de bases, producto N° 103.201-100) en uno de los pocillos por hilera.

Correr el gel en 0.5 x TBE buffer, sin recirculación del buffer, por 15-20 minutos a 8-10 V/cm.

Documentación e Interpretación

Colocar el gel sobre un transiluminador UV y documentar por fotografía. Registrar la presencia o ausencia de los productos PCR.

En el pocillo de control negativo, ningún producto PCR debería ser visto. La presencia de productos PCR indica contaminación¹.

Si se detecta contaminación, un HLA Wipe test y ensayo de todos los reactivos debería ser realizado en orden de detectar la fuente de contaminación.

Control negativo

En el pocillo de control negativo ningún producto PCR debería ser visto. La presencia de productos PCR indican contaminación¹.

Si se detecta contaminación, un wipe test y ensayo de todos los reactivos se debería realizar de modo de detectar la fuente de la contaminación.

¹Los artefactos oligoméricos de primers pueden ser vistos. Esto no representa contaminación.

↓

Cromotion S.R.L.
M. N. 7809



CERTIFICADO DE ANALISIS

Olerup SSP HLA – Control Negativo SSP
Número de producto: 102.102-01 – incluyendo Taq polimerasa
Número de lote:
Fecha de expiración:
Número de ensayos: 96
Número de pocillos por ensayo: 1

5658

Especificación de Pocillo

Pocillo Nº	Producción Nº
1	Año- XX-xx

La solución de primer control negativo ha sido ensayada en una serie de diluciones de los productos PCR correspondientes, 1 a 10^3 hasta 1 a 10^9 .

Resultados: Los pares de primers control negativo pueden detectar contaminación con los productos PCR correspondientes diluidos entre 1 a 10^7 .

Fecha de aprobación: año – mes – día

Aprobado por:

Supervisor de Control de Calidad

El Sr. Esteban Stalino
Supervisor de Calidad
M.N. 7003
ROMCION S.R.L.

DECLARACIÓN DE CONFORMIDAD



5656

Nombre del producto: Olerup SSP HLA – Control Negativo
Producto número: 102.102-01
Número de lote:
Uso a que está destinado: Control Negativo en la tipificación Olerup SSP HLA

Elaborador: Olerup SSP AB
Hasselstigen 1
SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia
Tel: +46 8 717 88 27
Fax: + 46 8 717 88 18

Nosotros, Olerup SSP AB, declaramos que este producto, al cual se relaciona esta declaración de conformidad está en conformidad con los siguientes estándares y otros documentos normativos ISO 9001:2000 e ISO 13485:2003, siguiendo las directivas de la Directiva 98/79/EC sobre dispositivos médicos de diagnóstico, anexo III, según las leyes nacionales de los estados miembros de la Comunidad Europea.

El archivo de documentación técnica es mantenido en olerup SSP AB, Hasselstigen 1, SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia.

El representante autorizado está localizado dentro de la Comunidad Europea y es: Olerup SSP AB.

Fecha:

Director:

DOMICILIOS:

Elaborador: Olerup SSP AB, Hasselstigen 1, SE-133 33 Saltsjöbaden, Suecia
Tel: +46 8 717 88 27
Fax: + 46 8 717 88 18
E-mail: info-ssp@olerup.com
Web page: <http://www.olerup.com>

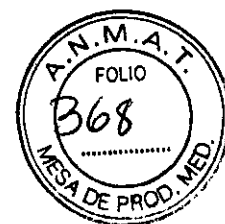
Distribuido por:

Olerup GmbH, Löwengasse 47/6, AT – 1030 Vienna, Austria.
Tel: +43-1-710 15 00
Fax: +43-1-710 15 00 10
E-mail: support-at@olerup.com
Web page: <http://www.olerup.com>

Olerup Inc., 901 S. Bolmar St., Suite R, West Chester, PA 19382
Tel: 1-877 – Olerup1
Fax: 610-344-7989
E-mail: info.us@olerup.com
Web page: <http://www.olerup.com>

Para información sobre los distribuidores en todo el mundo, contactar a Olerup GmbH

HOJA DE TRABAJO



5656

OLERUP SSP
Olerup SSP HLA- Control Negativo SSP

Producto Nº: 102.102-01/01u
Lote Nº:
Fecha de expiración:

Nombre: Identificación de Muestra:
Fecha de extracción de DNA: Concentración (ng/ul):
Fecha de ensayo: Dato de revisión:
Ensayado por: Revisado por:
Interpretación:

Rango de medidas de producto PCR a partir de 75 a 430 pares de bases.
El producto PCR generado por el par de primer control es de 430 pares de bases.

Longitud de PCR	105	200	105	80	75	80
Producto						
5'- primer ¹	164	340	440	45	45	43
	5'- CAC ^{3'}	5'- Agg ^{3'}	5'- TTA ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}
3'- primer ²	231	2 nd I	507	59	58	57
	5'- Tg g ^{3'}	5'- AAA ^{3'}	5'- Tg g ^{3'}	5'- CTC ^{3'}	5'- gg C ^{3'}	5'- CTC ^{3'}
A*	+	+	+			
B*	+	+	+			
Cw*	+	+	+			
DRB1				+	+	
DRB3				+	+	
DRB5				+		
DQB1					+	
DPB1						+

¹ La posición del nucleótido para los genes HLA Clase I y el codón para los genes HLA Clase II, en el 2nd o 3rd exón, coincidiendo con la especificidad del determinante final 3' del primer es dada. Nucleótidos y numeración de codones como en el sitio web: www.ebi.ac.uk/imgt/hla.

La secuencia de los nucleótidos 3 terminales del primer es dada.

² La posición del nucleótido para genes HLA clase I y el codón para genes HLA clase II, en el 2nd o 3rd exón o el 2nd intron, coincide con la especificidad del determinante final 3' del primer dado en la dirección anti-sentido. Nucleótidos y numeración de codones como en el sitio web: www.ebi.ac.uk/imgt/hla. La secuencia de los nucleótidos 3 terminales del primer es dada.

Dr. Germán Etalino
Coordinación Técnica
M.N. 7819
CALORION S.R.L.



Ministerio de Salud
 Secretaría de Políticas, Regulación
 e Institutos
 A. N. M. A. T.

CERTIFICADO DE AUTORIZACION DE VENTA
 DE PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO

Expediente nº:1-47-3110-3008/14-7

Se autoriza a la firma CROMOION S.R.L a importar y comercializar los Productos para Diagnóstico de uso "in vitro" denominados 1) Olerup SSP® HLA/ ENSAYOS DISEÑADOS PARA LA TIPIFICACIÓN DE LOS ALELOS HLA DE CLASE I Y DE CLASE II, MEDIANTE MUESTRAS DE ADN HUMANO; 2) Olerup SSP® DNA Size Marker/ ESTANDAR DE PESO MOLECULAR PARA EL CONTROL DEL TAMAÑO DE LOS PRODUCTOS DE PCR EN LAS REACCIONES DE TIPIFICACIÓN Olerup SSP®; 3) Olerup SSP® DNA Size Marker for short gel runs/ ESTANDAR DE PESO MOLECULAR PARA EL CONTROL DEL TAMAÑO DE LOS PRODUCTOS DE PCR, EN CORRIDAS CORTAS DE GEL, EN LAS REACCIONES DE TIPIFICACIÓN Olerup SSP®; 4) Olerup SSP® HLA Negative Control/ PARA USO COMO CONTROL NEGATIVO EN LAS REACCIONES DE TIPIFICACIÓN Olerup SSP® 5) Olerup SSP® HLA Wipe Test/ PARA USO COMO CONTROL NEGATIVO Y COMO CONTROL DE CONTAMINACIÓN EN LAS REACCIONES DE TIPIFICACIÓN Olerup SSP®, en envases conteniendo.....

Equipos de Tipificación Olerup SSP® HLA/ Equipos para tipificación de DNA de HLA Clase I y HLA Clase II. Cada equipo se presenta en dos versiones: con Taq polimerasa y sin Taq polimerasa

Producto Grupo	Nombre Producto	Nº de determinaciones
	DR low resolution	48
	DR low resolution	12
	DR low screening	48
	DR low screening	12
	DRB1*01	24
	DRB1*01	6

HLA - DR

DRB1*15	24
DRB1*15	6
DRB1*16	12
DRB1*03	24
DRB1*03	4
DRB1*04	24
DRB1*04	3
DRB1*11	24
DRB1*11	3
DRB1*13	24
DRB1*13	3
DRB1*14	12
DRB1*14	3
DRB1*07	24
DRB1*08	12
DRB1*08	4
DRB1*12	12
DRB1*09	6
DRB1*10	6
DRB3	24
DRB3	4
DRB4	24
DRB4	6
DRB5	24
DRB5	6
DRA	24
DRB1*15/16 low	24
DRB4*01:03:01:02N	12
DRB5*01:08N	12
DRB1-14:01/14:54	12
DRB1*04 Add-on	12
DRB1*12 Add-on	12
DQ low resolution	48
DQ low resolution	12
DQB1*05	24
DQB1*06	24
DQB1*06	4
DQB1*02	24
DQB1*03	24
DQB1*03	6
DQB1*04	12
DQB1 high resolution for frequent alleles	12
DQA1	24
DQA1	4
DQB1*06:02, DQA1*01:02	24
DQA1*02,05;DQB1*02,03:02	24

HLA - DQ



Ministerio de Salud
 Secretaría de Políticas, Regulación
 e Institutos
 A. N. M. A. T

	DPA1	24
	DPA1	6
HLA - A	HLA- A low resolution	48
	HLA- A low resolution	12
	HLA – A low screening	48
	HLA – A low screening	12
	HLA- A*01	24
	HLA- A*01	6
	HLA – A *02	24
	HLA – A *02	4
	HLA- A*03	24
	HLA- A*03	4
	HLA – A *23	6
	HLA – A *24	24
	HLA – A *24	3
	HLA- A*25	6
	HLA – A *26	12
	HLA – A * 34	6
	HLA – A*66	6
	HLA – A*11	12
	HLA – A*11	4
	HLA – A*29	12
	HLA – A*30	12
	HLA – A*31	12
	HLA – A*32	12
	HLA – A*33	12
	HLA- A *74	6
	HLA – A*80	6
	HLA – A*36	6
	HLA – A*68	12
	HLA – A*68	4
	HLA-A*24:09N	12
	HLA- A*11 Add on	12
	HLA- A*23 Add on	12
	HLA – B low resolution	48
	HLA – B low resolution	12
	HLA – B low screening	48
	HLA – B low screening	12
	HLA B*51	24
	HLA B*51	3
	HLA- B*52	6

HLA - B

HLA- B *07	24
HLA- B *07	3
HLA -B *08	24
HLA -B *08	4
HLA-B*44	24
HLA-B*44	3
HLA-B*45	6
HLA-B*13	12
HLA-B*14	12
HLA-B*15	24
HLA-B*15	4
HLA-B*38	12
HLA-B*39	12
HLA-B*39	4
HLA-B*57	12
HLA-B*58	6
HLA-B*18	12
HLA-B*54	6
HLA-B*55	6
HLA-B*56	6
HLA - B*27 unit dose	48
HLA - B*27 unit dose single well	96
HLA- B*27 bulk	48
HLA - B *27	24
HLA - B *27	4
HLA- B*35	24
HLA- B*35	3
HLA-B*40	24
HLA- B*40	3
HLA- B*37	6
HLA- B*41	6
HLA- B*42	6
HLA- B*46	6
HLA- B*47	6
HLA- B*48	6
HLA- B*49	6
HLA- B*50	6
HLA- B*53	6
HLA- B*67	6
HLA- B*78	6
HLA-B*81	6
HLA-B*82	6
HLA-B*59	6
HLA-B*51:11N	12
HLA- B*57:01	12
HLA- B*73	6



Ministerio de Salud
 Secretaría de Políticas, Regulación
 e Institutos
 A. N. M. A. T

HLA - C	HLA-B*07 Add - on	12	
	HLA-B*39 Add-on	12	
	HLA- C low resolution	24	
	HLA- C low resolution	12	
	HLA- C low screening	24	
	HLA- C low screening	12	
	HLA- C *03	12	
	HLA- C *04	12	
	HLA- C *05	12	
	HLA- C *06	12	
	HLA- C*07	24	
	HLA- C*07	4	
	HLA- C*01	12	
	HLA- C*02	12	
	HLA- C*08	12	
	HLA- C*12	12	
	HLA- C*14	6	
	HLA- C*15	12	
	HLA- C*16	12	
	HLA- C*17	6	
	HLA- C*18	6	
	HLA- C high resolution for frequent alleles	12	
	HLA- C *04:09N	12	
	HLA-C*04 Add-on	12	
	HLA-C*07 Add-on	12	
	HLA-C*08 Add-on	12	
	HLA-C*15 Add-on	12	
	SSP Combi	A-B-DR	24
		A-B-DR	6
		A-B-C	24
A-B-C		6	
DQ-DR		48	
DQ-DR		12	
A-B-DR-DQ		24	
DPB1-DQ-DR		24	
DPB1-DQ-DR		6	
Alelos KIR		KIR Genotyping	12
	KIR HLA Ligand	12	

Productos Accesorios

Nombre	Presentación
DNA Size Marker	2 x 500 ul

DNA Size Marker	10 x 500 ul
DNA Size Marker for short gel runs	2 x 500 ul
DNA Size Marker for short gel runs	10 x 500 ul
HLA Negative Control including Taq polymerasa	96 determinaciones
HLA Negative Control without Taq polymerasa	96 determinaciones
HLA Wipe Test including Taq polimerasa	96 determinaciones
HLA Wipe Test without Taq polimerasa	96 determinaciones

Se le asigna la categoría: Venta a laboratorios de Análisis clínicos por hallarse comprendido en las condiciones establecidas en la Ley 16.463, y Resolución M.S. y A.S. N° 145/98. Lugar de elaboración:..... Periodo de vida útil: ... (....) meses desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8 °C. En las etiquetas de los envases, anuncios y Manual de instrucciones deberá constar PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO DE USO "IN VITRO" USO PROFESIONAL EXCLUSIVO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA

Certificado n°:

008287

ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA.

Buenos Aires, **15 JUL 2015**



Ing. ROGELIO LOPEZ
 Administrador Nacional
 A.N.M.A.T.
 Firma y sello

A ↓



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas,
Regulación e Institutos
A.N. M. A. T.

5 6 5 6

Anexo

Expediente N° 1-47-3110-3008/14-7

PRODUCTOS: 1) Olerup SSP® HLA; 2) Olerup SSP® DNA Size Marker; 3) Olerup SSP® DNA Size Marker for short gel runs; 4) Olerup SSP® HLA Negative Control y 5) Olerup SSP® HLA Wipe Test.

Equipos de Tipificación Olerup SSP® HLA/ Equipos para tipificación de DNA de HLA Clase I y HLA Clase II. Cada equipo se presenta en dos versiones: con Taq polimerasa y sin Taq polimerasa		
Producto Grupo	Nombre Producto	Nº de determinaciones
HLA - DR	DR low resolution	48
	DR low resolution	12
	DR low screening	48
	DR low screening	12
	DRB1*01	24
	DRB1*01	6
	DRB1*15	24
	DRB1*15	6
	DRB1*16	12
	DRB1*03	24
	DRB1*03	4
	DRB1*04	24
	DRB1*04	3
	DRB1*11	24
	DRB1*11	3
	DRB1*13	24
	DRB1*13	3
	DRB1*14	12
	DRB1*14	3
	DRB1*07	24
	DRB1*08	12
	DRB1*08	4
	DRB1*12	12
	DRB1*09	6
	DRB1*10	6
	DRB3	24
	DRB3	4
	DRB4	24
	DRB4	6
	DRB5	24
	DRB5	6
	DRA	24
DRB1*15/16 low	24	
DRB4*01:03:01:02N	12	
DRB5*01:08N	12	

	DRB1-14:01/14:54	12
	DRB1*04 Add-on	12
	DRB1*12 Add-on	12
HLA - DQ	DQ low resolution	48
	DQ low resolution	12
	DQB1*05	24
	DQB1*06	24
	DQB1*06	4
	DQB1*02	24
	DQB1*03	24
	DQB1*03	6
	DQB1*04	12
	DQB1 high resolution for frequent alleles	12
	DQA1	24
	DQA1	4
	DQB1*06:02, DQA1*01:02	24
	DQA1*02,05;DQB1*02,03:02	24
HLA - DP	DPB1	24
	DPB1	4
	DPA1	24
	DPA1	6
HLA - A	HLA- A low resolution	48
	HLA- A low resolution	12
	HLA - A low screening	48
	HLA - A low screening	12
	HLA- A*01	24
	HLA- A*01	6
	HLA - A *02	24
	HLA - A *02	4
	HLA- A*03	24
	HLA- A*03	4
	HLA - A *23	6
	HLA - A *24	24
	HLA - A *24	3
	HLA- A*25	6
	HLA - A *26	12
	HLA - A * 34	6
	HLA - A*66	6
	HLA - A*11	12
	HLA - A*11	4
	HLA - A*29	12
	HLA - A*30	12
	HLA - A*31	12
	HLA - A*32	12
	HLA - A*33	12
	HLA- A *74	6
	HLA - A*80	6
	HLA - A*36	6
	HLA - A*68	12
	HLA - A*68	4
	HLA-A*24:09N	12
	HLA- A*11 Add on	12
	HLA- A*23 Add on	12
	HLA - B low resolution	48
HLA - B low resolution	12	



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas,
Regulación e Institutos
A.N. M. A. T.

5 6 5 6

HLA - B	HLA – B low screening	48
	HLA – B low screening	12
	HLA B*51	24
	HLA B*51	3
	HLA- B*52	6
	HLA- B *07	24
	HLA- B *07	3
	HLA –B *08	24
	HLA –B *08	4
	HLA-B*44	24
	HLA-B*44	3
	HLA-B*45	6
	HLA-B*13	12
	HLA-B*14	12
	HLA-B*15	24
	HLA-B*15	4
	HLA-B*38	12
	HLA-B*39	12
	HLA-B*39	4
	HLA-B*57	12
	HLA-B*58	6
	HLA-B*18	12
	HLA-B*54	6
	HLA-B*55	6
	HLA-B*56	6
	HLA – B*27 unit dose	48
	HLA – B*27 unit dose single well	96
	HLA- B*27 bulk	48
	HLA – B *27	24
	HLA – B *27	4
	HLA- B*35	24
	HLA- B*35	3
	HLA-B*40	24
	HLA- B*40	3
	HLA- B*37	6
	HLA- B*41	6
	HLA- B*42	6
	HLA- B*46	6
	HLA- B*47	6
	HLA- B*48	6
HLA- B*49	6	
HLA- B*50	6	
HLA- B*53	6	
HLA- B*67	6	
HLA- B*78	6	
HLA-B*81	6	
HLA-B*82	6	
HLA-B*59	6	
HLA-B*51:11N	12	

	HLA- B*57:01	12	
	HLA- B*73	6	
	HLA-B*07 Add - on	12	
	HLA-B*39 Add-on	12	
HLA - C	HLA- C low resolution	24	
	HLA- C low resolution	12	
	HLA- C low screening	24	
	HLA- C low screening	12	
	HLA- C *03	12	
	HLA- C *04	12	
	HLA- C *05	12	
	HLA- C *06	12	
	HLA- C*07	24	
	HLA- C*07	4	
	HLA- C*01	12	
	HLA- C*02	12	
	HLA- C*08	12	
	HLA- C*12	12	
	HLA- C*14	6	
	HLA- C*15	12	
	HLA- C*16	12	
	HLA- C*17	6	
	HLA- C*18	6	
	HLA- C high resolution for frequent alleles	12	
	HLA- C *04:09N	12	
	HLA-C*04 Add-on	12	
	HLA-C*07 Add-on	12	
	HLA-C*08 Add-on	12	
	HLA-C*15 Add-on	12	
	SSP Combi	A-B-DR	24
		A-B-DR	6
		A-B-C	24
A-B-C		6	
DQ-DR		48	
DQ-DR		12	
A-B-DR-DQ		24	
DPB1-DQ-DR		24	
Alelos KIR	KIR Genotyping	12	
	KIR HLA Ligand	12	

Productos Accesorios	
Nombre	Presentación
DNA Size Marker	2 x 500 ul
DNA Size Marker	10 x 500 ul
DNA Size Marker for short gel runs	2 x 500 ul
DNA Size Marker for short gel runs	10 x 500 ul
HLA Negative Control including Taq polymerasa	96 determinaciones
HLA Negative Control without Taq polymerasa	96 determinaciones
HLA Wipe Test including Taq polimerasa	96 determinaciones
HLA Wipe Test without Taq polimerasa	96 determinaciones

DISPOSICIÓN N°:

5650

Ing ROGELIO LOPEZ
Administrador Nacional
A.N.M.A.T.