



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-003080-23-5

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-003080-23-5 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones CROMOION S.R.L. solicita se autorice la inscripción en el Registro Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de esta Administración Nacional, de un nuevo/s Producto/s Médico/s para diagnóstico in vitro, Nombre descriptivo: Reactivo para determinación de antígenos HLA clase I y II.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico in vitro que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización .

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establecen la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99 y normas complementarias.

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

Que corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y sus modificatorias.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL

DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro, Nombre descriptivo: Reactivo para determinación de antígenos HLA clase I y II de acuerdo con lo solicitado por CROMOION S.R.L. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento GEDO N° IF-2023-93383315-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 908-239 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

ARTÍCULO 4º.- Extiéndase el Certificado de Autorización e Inscripción en el RPPTM con los datos característicos mencionados en esta disposición.

ARTÍCULO 5º.- La vigencia del Certificado de Autorización será de cinco (5) años, a partir de la fecha de la presente disposición.

ARTÍCULO 6º.- Regístrese. Inscríbase en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: Reactivo para determinación de antígenos HLA clase I y II

Marca comercial: OLERUP SSP

Modelos:

MasterMix with Taq

Indicación/es de uso:

Para diagnóstico in vitro cualitativo, para ser utilizadas en con los equipos Olerup SSP® HLA Typing, utilizados en la tipificación de DNA de los alelos HLA Clase I y Clase II.

Forma de presentación: MasterMix with Taq 112 µ

MasterMix with Taq 750 μ
MasterMix with Taq 1125 μ

Período de vida útil y condición de conservación: Son estables por 33 meses, conservados de -20°C, desde la fecha de manufactura.

Nombre del fabricante:

CareDx AB

Lugar de elaboración:

Franzéngatan 5, SE-112-51 Estocolmo -SUECIA

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente N° 1-0047-3110-003080-23-5

N° Identificatorio Trámite: 49144

AM

Digitally signed by GARAY Valéria Teresa
Date: 2023.08.18 10:59:51 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.08.18 10:59:54 -03:00



Instrucciones de Uso
Kits de tipificación **Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido**



Instrucciones de Uso

Olerup SSP® Taq Polimerasa incluido

Cecilia

Escriba el texto aquí

CROMOION s.r.l.
Farm. Cecilia A. Amaboldi
M.P. 15533 • M.N. 13795
Dirección Técnica

Oscar A. García
Oscar A. García
Socio Gerente
Cromoion

© 2022 CareDx, Inc. Todas las marcas de servicio o marcas registradas son propiedad de CareDx, Inc. o sus afiliados o tienen licencia para ello. Todos los derechos reservados.

0192-LBL v06 Kits de tipificación Olerup SSP® HLA que incluyen Taq polimerasa

Para uso diagnóstico in vitro

Revisado en Junio 2022

CE
0197

Página 1 de 29

USO PREVISTO

Los kits de tipificación de HLA Olerup SSP® son kits de diagnóstico cualitativos *in vitro* para la tipificación del ADN de los alelos HLA Clase I y HLA Clase II. Los productos son utilizados por profesionales capacitados en entornos médicos con el fin de determinar el fenotipo HLA. El material de origen probado es el ADN.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Los antígenos leucocitarios humanos (HLA) solían determinarse mediante la prueba de linfocitotoxicidad. Sin embargo, esta prueba ha sido reemplazada por técnicas de tipificación de ADN basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) debido a su tasa de error y falta de resolución del nivel de alelo. En la mayoría de las técnicas basadas en PCR, el proceso de PCR se usa solo como un paso de amplificación del ADN objetivo necesario y se requiere un paso posterior a la amplificación para discriminar entre los diferentes alelos. En cambio, en la metodología PCR-SSP (secuencia específica de cebador -por sus siglas en inglés- SSP), la discriminación entre los diferentes alelos se produce durante el proceso de PCR. Esto acorta y simplifica el paso posterior a la amplificación a un simple paso de detección por electroforesis en gel. Los resultados de la prueba SSP son positivos o negativos, lo que elimina la necesidad de una interpretación complicada de los resultados. Además, la resolución de tipificación de PCR-SSP es mayor que la de otras técnicas de tipificación basadas en PCR, ya que cada par de cebadores define dos motivos de secuencia ubicados en *cis*, es decir, en el mismo cromosoma. Además, debido a 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 de oligonucleótidos completamente o casi completamente emparejados sin desajustes en el extremo 3' se usan de manera más eficiente en la reacción de PCR que los cebadores no emparejados por ADN polimerasas termoestables sin propiedades de corrección de errores. Los pares de cebadores están diseñados para combinarse con alelos individuales o grupos de alelos, según el grado de resolución de tipificación requerido. Con condiciones de PCR estrictamente controladas, los pares de cebadores coincidentes o casi completamente coincidentes permiten que se produzca la amplificación, es decir, un resultado positivo, mientras que los pares de cebadores no coincidentes no permiten que se produzca la amplificación, es decir, un resultado negativo.

Después del proceso de PCR, los fragmentos de ADN amplificados se separan por tamaño, por electroforesis en gel de agarosa, visualizada por tinción con bromuro de etidio y exposición a luz ultravioleta, documentada por fotografía e interpretada. 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 PCR específicos pueden ser útiles en la interpretación de los resultados. La metodología PCR-SSP para HLA fue descrita originalmente por O. Olerup en 1991 y 1992^{1,2}.

Dado que el proceso de PCR puede verse afectado negativamente por varios factores (p. ej., errores de pipeteo, concentración de ADN demasiado baja, mala calidad del ADN, presencia de inhibidores de PCR, inexactitud 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 coincide con las regiones conservadas del gen de la hormona del crecimiento humano, que está presente en todas las muestras de ADN humano. En presencia de un producto de PCR específico de un alelo(s) HLA, el producto de la banda de control positivo interno puede ser débil o estar ausente. Los amplicones generados por los pares de cebadores HLA específicos son más cortos que los amplicones del par de cebadores del control positivo interno, pero más grandes que los cebadores no incorporados (consulte Valores Esperados).

REACTIVOS

A. Identificación

Los kits de tipificación Olerup SSP® contienen cebadores específicos de secuencia secos y preoptimizados para la amplificación por PCR de alelos HLA y del gen de la hormona del crecimiento humano, PCR Master Mix que incluye polimerasa Taq ("Master Mix") y sellos adhesivos para PCR.

Las soluciones del cebador se dividen previamente en alícuotas y se secan en pocillos de 0,2 ml de bandejas de PCR de paredes finas cortadas. Cada pocillo de la bandeja contiene una solución de cebador seco que consta de una mezcla de cebador específica, es decir, cebadores HLA específicos de alelo y grupo, así como un par de cebadores de control positivo interno que coinciden con secuencias no alélicas y están listos para agregar la muestra de ADN, Master Mix y H₂O.

Los cebadores están diseñados para una amplificación PCR óptima cuando se utiliza la Master Mix y el programa de ciclos de ADN recomendado (consulte Programación del termociclador).

En la página web www.caredx.com se pueden obtener tablas de especificidad e interpretación específicas de lote u hojas de trabajo para los alelos HLA específicos amplificados por cada mezcla de cebadores.

B. Advertencias y Precauciones

1. Para uso diagnóstico in vitro.
2. Este producto no puede utilizarse como única base para tomar una decisión clínica.
3. **Advertencia de riesgo biológico:** todos los productos sanguíneos deben tratarse como potencialmente infecciosos. Ningún método de prueba conocido puede garantizar que los productos derivados de la sangre humana no transmitan agentes infecciosos.
4. **Advertencia de riesgo biológico:** el bromuro de etidio utilizado para teñir el ADN en la electroforesis en gel de agarosa es carcinógeno. Manipular con el equipo de protección personal adecuado.


0192-LBL v06 Kits de tipificación Olerup SSP® HLA que incluyen Taq polimerasa

Para uso diagnóstico in vitro

Revisado en Junio 2022



Página 3 de 29


Oscar A. Garcia
Socio Gerente
Cromoion

Instrucciones de Uso
Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

5. **Precaución:** usar protección para los ojos que bloquee los rayos UV y no mirar directamente la fuente de luz UV al ver o fotografiar 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. Consultar la hoja de datos de seguridad (www.caredx.com) para obtener información detallada.

C. Instrucciones de uso

Consultar las instrucciones de uso

D. Instrucciones de almacenamiento

Almacenar los componentes del kit en la oscuridad y a las temperaturas indicadas en las etiquetas del paquete.

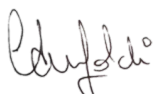
Utilizar antes de la fecha de vencimiento impresa en las etiquetas del paquete.

E. Purificación o Tratamiento Requerido para el Uso

Consultar las instrucciones de uso.

F. Indicaciones de inestabilidad

1. No utilizar bandejas de cebadores con grietas en los pocillos o daños en el borde superior de los pocillos, ya que esto puede provocar la evaporación durante la amplificación por PCR. No utilizar tiras de tapas de PCR con grietas, ya que esto puede provocar la evaporación durante la amplificación de PCR.
2. Los gránulos de los pocillos deben ser de color rojo. La decoloración amarilla del sedimento puede indicar degradación.
3. La Master Mix debe tener un color entre rojo y morado. La decoloración de amarillo a naranja puede indicar degradación.



CROMOION s.r.l.
Fam. Cecilia A. Amaboldi
M.P. 15533 - M.N. 13795
Dirección Técnica

Escriba el texto aquí



Oscar A. García
Socio Gerente
Cromoion

REQUISITOS DEL INSTRUMENTO**A. Instrumento**

Se debe utilizar un termociclador con las siguientes especificaciones mínimas:

- tapa calefaccionada con una temperatura de 104°C para un funcionamiento sin aceite.

- bloque de muestras (aluminio, plata o plata enchapada en oro) para usar con una placa de PCR de 96 pocillos o tubos de reacción de pared fina de 0,2 ml.

- Los kits Olerup SSP están validados en las siguientes cicladoras. Rangos de variación recomendados:

- GeneAmp 9700: ciclador GeneAmp 9700 configurado en el modo 9600. Esto corresponde a una **variación de muestra** de 1,6°C/s hacia arriba y 0,8 °C/s hacia abajo.

- Bloque ProFlex de 1x96 pocillos: ciclador de PCR ProFlex con un rango de variación de bloque de 3,0 °C/s (cada paso 3,0 °C/s). Un rango de variación de bloque de 3,0 °C/s corresponde a una variación de muestra de 1,52 °C/s hacia arriba y 1,36 °C/s hacia abajo.

- Bloque ProFlex de 2x96 pocillos: ciclador de PCR ProFlex con un rango de variación de bloque de 3,0 °C/s (cada paso 3,0 °C/s). Un rango de **variación de bloque** de 3,0 °C/s corresponde a una variación de muestra de 1,9 °C/s hacia arriba y 1,6 °C/s hacia abajo.

Nota: Variaciones más altas que las descritas anteriormente pueden tener un efecto en los resultados de tipificación. Tenga en cuenta también que el efecto sobre la tipificación puede diferir entre diferentes cicladores no validados según la configuración.

- rango de temperatura de 4,0°C a 99,9°C

- precisión de temperatura de ±0,25°C en el rango de 35°C a 99,9°C

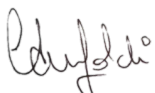
- uniformidad de la temperatura del bloque de muestras de ≤0,75 °C en el rango de 55 °C a 95 °C

- calibración de temperatura trazable a un estándar de referencia (es decir, NIST).

Programar el termociclador usando los parámetros de ciclo de PCR en la Sección B a continuación.

Para obtener información específica sobre el termociclador, consultar el manual de usuario del fabricante. Los termocicladores deben calibrarse de acuerdo con las reglas de acreditación de ASHI (Sociedad Estadounidense de Histocompatibilidad e Inmunogenética) o EFI (Federación Europea de Inmunogenética).

Programar el termociclador antes de iniciar las Instrucciones de uso descritas a continuación.



CROMOION s.r.l.
Farm. Cecilia A. Amaboldi
M.P. 15533 • M.N. 13795
Dirección Técnica

Escriba el texto aquí



Oscar A. García
Socio Gerente
Cromoion

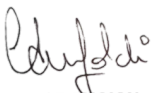
Instrucciones de Uso
Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

B. Parámetros del Ciclo de PCR

1.	1 ciclo	94°C	2 min	desnaturalización
2.	10 ciclos	94°C	10 seg.	desnaturalización
		65°C	60 seg.	hibridación y extensión
3.	20 ciclos	94°C	10 seg.	desnaturalización
		61°C	50 seg.	hibridación
		72°C	30 seg.	extensión
4.	finalizar - mantener	RT		Menos de 8 horas
		4°C		Más de 8 horas

Volumen de reacción total en cada pocillo, 10 ul

Se utilizan los mismos parámetros de ciclo de PCR para todos los kits Olerup SSP®.



CROMOION s.r.l.
Fam. Cecilia A. Amaboldi
M.P. 15533 - M.N. 13795
Dirección Técnica



Oscar A. García
Socio Gerente
Cromoion

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Se necesita ADN extraído de gran pureza para la tipificación de SSP. Las muestras de ADN que se utilizarán para la tipificación de HLA por PCR-SSP deben volver a suspenderse en dH₂O. La relación $A_{260/280}$ debe ser de 1,6 a 2,0 por espectrofotometría UV para una visualización óptima de la banda durante la electroforesis.

Recomendamos la extracción automática de ADN con el sistema de sangre de ADN QIAGEN EZ1 DSP. La sangre ADC debe usarse como material de partida.

Alternativamente, el ADN se puede extraer mediante cualquier método preferido que produzca ADN puro. Cuando se utilicen métodos alternativos, la concentración de ADN debe ajustarse a 30 ng/ul. **No utilice sangre heparinizada con estos métodos.**

Concentración de ADN recomendada utilizando:

ADN extraído con EZ1, 15 ng/μl.

ADN extraído por otros métodos, 30 ng/μl.

Las concentraciones superiores a 50 ng/μl aumentarán el riesgo de amplificaciones inespecíficas y bandas extra débiles, especialmente para tipificaciones SSP de alta resolución HLA Clase I. Si es 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 efectos adversos en los resultados. Las muestras de ADN se pueden almacenar a -20°C o menos durante 9 meses. La pureza y la concentración de las muestras de ADN extraídas que se han almacenado durante un período prolongado deben probarse para determinar su aceptabilidad antes de la tipificación HLA.

Las muestras de ADN deben enviarse a +4°C o menos para preservar su integridad durante el transporte.



CROMOION s.r.l.
Farm. Cecilia A. Amaboldi
M.P. 15533 • M.N. 13795
Dirección Técnica



Oscar A. García
Socio Gerente
Cromoion

PROCEDIMIENTO**A. Materiales provistos**

1. Bandejas de cebador *Olerup SSP®*.
2. Master Mix (volumen adecuado para las bandejas del kit). El mismo Master Mix se utiliza para todos los kits *Olerup SSP®*.
3. Sellos PCR adhesivos (número apropiado para las bandejas del kit).

B. Materiales Requeridos pero no Provistos

1. kit/equipo de aislamiento de ADN
2. Espectrofotómetro ultravioleta
3. Dispositivos de pipeteo. Recomendamos un dispensador electrónico monocanal capaz de dispensar alícuotas de 10 µl para añadir el ADN, Master Mix y dH₂O a los pocillos de la bandeja.
4. Puntas de pipeta desechables
5. Tubos de polipropileno
6. Agitador Vortex
7. Microcentrifuge
8. Gradilla para bandejas PCR
9. Termociclador con tapa calefaccionada para PCR con formato de 96 pocillos, un gradiente de temperatura en el bloque calefactor ≤ 0,75 °C y bandeja/soporte para pocillos de reacción de pared fina de 0,2 ml
10. Horno de microondas o placa caliente para calentar soluciones de agarosa.
11. Agarosa de grado de electroforesis, por ejemplo, FMC Seakem LE
12. 0,5 x buffer TBE; 1x buffer TBE es x Tris-borato 89 mM, EDTA disódico 2 mM, pH 8,0
13. Frasco cuentagotas de bromuro de etidio, N° de Producto 103.301-10
14. Dispositivo de pipeteo de carga de gel. Recomendamos una pipeta de 8 canales para carga de gel, volumen ajustable de 5-25 µl.
15. Marcador de tamaño de ADN para cubrir un rango de 50 a 1000 pb, por ejemplo, Marcador de tamaño de 100bp DNA Ladder. Producto n.º 103.202-100 o marcador de tamaño de ADN para corridas en gel cortas 103.203-100
16. Aparato de electroforesis/fuente de alimentación
17. Transiluminador ultravioleta
18. Sistema de documentación fotográfica o de imágenes.

C. Procedimiento Paso a Paso

Ver instrucciones de uso.

INSTRUCCIONES DE USO**A. Ejemplo de Preparación**

1. Purificar el ADN genómico de la muestra de leucocitos por el método de su elección, consultar recolección y preparación de muestras más arriba.
2. Para obtener información específica sobre la preparación y el almacenamiento de muestras, consultar recolección y preparación de muestras más arriba.
3. Realizar la amplificación por PCR en una muestra de ADN purificada utilizando una bandeja de tipificación *Olerup SSP®* o almacenar la muestra de ADN hasta que esté lista para tipificar.

0192-LBL v06 Kits de tipificación *Olerup SSP®* HLA que incluyen Taq polimerasa

Para uso diagnóstico in vitro

B. Preparación de Reactivos / Equipos

1. Programar un termociclador para ejecutar el programa de PCR *Olerup SSP®*; consultar Requisitos del instrumento - Parámetros de ciclo de PCR más arriba.
2. Preparar el gel de electroforesis, consultar la sección C: **Preparación de electroforesis en gel** a continuación.

C. Preparación de Electroforesis en Gel

Para el sistema de gel *Olerup SSP®* 96 (N° de Producto 103.101-01)

1. Preparación

- Nivelar la cámara de fundición para 1 gel (N° de Producto 103.101-31) o la cámara de fundición para 3 geles (N° de Producto 103.101-33) utilizando la burbuja niveladora y las tres patas regulables en altura.
- Colocar la(s) bandeja(s) de gel en la cámara de fundición.

2. Preparación de gel de agarosa al 2% (p/v)

Utilizar una agarosa de grado de electroforesis de alta calidad, capaz de resolver fragmentos de ADN de 50 a 2000 pares de bases.

- A 5 ml de 10 x buffer TBE (Tris Borate EDTA) agregar 150 ml de agua destilada y 2 g de agarosa en una botella de vidrio de 500 ml.
- Disolver la agarosa hirviéndola en un horno microondas hasta formar una solución homogénea de 100 ml.
- Dejar que la solución de gel disuelto se enfríe a 60°C, por ejemplo, en una cámara de calefacción.
- Teñir el gel antes del vaciado con bromuro de etidio (10 mg/ml), 5 µl por 100 ml de solución de gel. Para una máxima facilidad de manejo, utilice nuestros frascos cuentagotas de bromuro de etidio (n.º de producto 103.301-10). **Nota: El bromuro de etidio es un cancerígeno. Manipular con el equipo de protección personal adecuado.**
- Vertir 100 ml de solución de gel en la bandeja de gel en la cámara de fundición. Colocar 6 peines de gel (N° de Producto 103.101-21) en las ranuras de la bandeja de gel.
- Dejar que el gel se asiente durante 15 minutos.
- Vertir 750 ml de 0,5 x buffer TBE en el tanque de gel. Sumergir la bandeja de gel en la caja de gel y retirar con cuidado los 6 peines de gel levantándolos.

Siga las instrucciones de uso del fabricante cuando utilice sistemas de electroforesis alternativos. Para ser utilizados con los kits de tipificación de HLA *Olerup SSP®*, estos sistemas deben ser capaces de resolver productos de PCR con un tamaño de entre 50 y 1100 pares de bases.

D. Procedimiento Paso a Paso

1. Retirar de la(s) temperatura(s) de almacenamiento indicada(s): el número adecuado de muestras de ADN, la(s) bandeja(s) de cebadores y el volumen de Master Mix necesario para la(s) muestra(s) de ADN / bandeja(s) de cebador seleccionadas. Descongelar a temperatura ambiente (20 a 25°C).

Se utiliza la misma Master Mix para todos los kits *Olerup SSP®*.

0192-LBL v06 Kits de tipificación *Olerup SSP®* HLA que incluyen Taq polimerasa

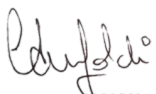
Para uso diagnóstico in vitro

Instrucciones de Uso
Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

2. Mezclar la(s) muestra(s) de ADN brevemente agitando en vórtex.
3. Colocar la(s) bandeja(s) de cebadores en una gradilla para bandejas PCR.

4. Kits de Alta y Baja Resolución

- Agitar en vortex la Master Mix antes de tomar alícuotas.
- Usando una pipeta manual de un solo canal, agregar Master Mix y dH₂O a temperatura ambiente en un tubo de 0,5 ml o 1,5 ml. (Consultar la tabla 1 a continuación para ver las cantidades apropiadas).
- Tapar el tubo y agitar en vortex durante 5 segundos. Haga girar el tubo por pulsos en una microcentrífuga para que baje todo el líquido de los lados del tubo.
- Con una pipeta monocal manual, agregar 8 µl de la mezcla Master Mix – 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 bandeja de cebadores.
- Usando una pipeta manual de un solo canal, agregar a temperatura ambiente la muestra de ADN a la mezcla restante de Master Mix – dH₂O. (Consultar la tabla 1 a continuación para ver las cantidades apropiadas).
- Tapar el tubo y agitar en vortex durante 5 segundos. Haga girar el tubo por pulsos en una microcentrífuga para que baje todo el líquido de los lados del tubo.
- Usando un dispensador electrónico de un solo canal, colocar una alícuota de 10 µl de la mezcla de reacción de la muestra en cada pocillo, excepto el pocillo de control negativo, de la bandeja de cebadores.



CROMOION s.r.l.
Farm. Cecilia A. Amaboldi
M.P. 15533 • M.N. 13795
Dirección Técnica

Escriba el texto aquí



Oscar A. García
Socio Gerente
Cromoion

Tabla 1: Volúmenes de los componentes necesarios por prueba para diferentes números de pocillos cuando se usa Master Mix.

N° de pocillos por prueba	Volumen de Master Mix (µl)	Volumen de muestra de ADN (µl)	Volumen de dH ₂ O (µl)	N° de pocillos por prueba	Volumen de Master Mix (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 enumerados anteriormente incluyen el volumen para compensar las variaciones de la pipeta y las pérdidas de líquido en las paredes interiores de los tubos.

5. Kits Combi A-B-DR, A-B-C, A-B-DR-DQ y DQA-DQB-DR mejorado y el kit HLA-C de alta resolución para alelos frecuentes

- Agitar en vortex la Master Mix.
- Usando una pipeta monocal manual, agregar a temperatura ambiente 520µl dH₂O en el tubo provisto de 1,5 ml que contiene 312 µl de Master Mix.
- Tapar el tubo y agitar en vortex durante 5 segundos. Hacer girar el tubo por pulsos en una microcentrífuga para que baje todo el líquido de los lados.
- Usando una pipeta monocal manual, agregar 8 µl de la mezcla Master Mix – dH₂O y 2 µl dH₂O en el pocillo de control negativo N° 96, por ejemplo, el pocillo con los pares de cebadores de control negativo.
- Usando una pipeta monocal manual, agregar a temperatura ambiente 206µl de muestra de ADN a la mezcla de Master Mix - dH₂O restante.
- Tapar el tubo y agitar en vortex durante 5 segundos. Hacer girar el tubo por pulsos en una microcentrífuga para que baje todo el líquido de los lados del tubo.

Instrucciones de Uso
Kits de tipificación *Olerup SSP*® HLA Taq polimerasa incluido

- Con un dispensador electrónico de un solo canal, coloque una alícuota de 10 µl de la mezcla de reacción de la muestra en cada pocillo, excepto en el pocillo de control negativo n° 96, de la bandeja de cebadores.

Importante:

Asegúrese de aplicar la muestra sobre los cebadores (secado en el fondo de cada pocillo de la bandeja de cebadores) para evitar la contaminación cruzada entre pocillos. Tocar la pared interior del pocillo con la punta de la pipeta para permitir que la muestra se deslice hacia el fondo del pocillo. Comprobar que todas las muestras hayan caído al fondo de cada pocillo. De lo contrario, golpear suavemente la bandeja en la parte superior del banco para que todas las muestras se asienten en el fondo del pocillo antes de comenzar la PCR.

6. Cubrir la(s) bandeja(s) de cebador con los sellos PCR adhesivos proporcionados. Comprobar que todos los pocillos de reacción estén completamente cubiertos para evitar la pérdida por evaporación durante la amplificación por PCR. La almohadilla de compresión *Olerup SSP*® (N° de producto 103.505-06) se puede aplicar sobre los sellos adhesivos de PCR para evitar la evaporación durante los ciclos térmicos.
7. Colocar la(s) bandeja(s) de cebadores en el termociclador con un adaptador de bandeja de tubos adecuado. No permitir más de 5 minutos de retraso entre la configuración de la PCR y el ciclo térmico.
8. Ingresar su número de programa *Olerup SSP*®. Especificar un volumen de reacción de 10 µl.
9. Iniciar el programa PCR. El programa dura aproximadamente 1 hora y 20 minutos.
10. Retirar la(s) bandeja(s) de cebadores del termociclador. Inspeccionar la bandeja de PCR para asegurarse de que haya aproximadamente el mismo volumen de líquido en cada pocillo de PCR. Realizar la electroforesis de las muestras, consultar la sección E: Electroforesis en gel a continuación. Interpretar los resultados de la tipificación con **las tablas de interpretación y especificidad específicas del lote o la hoja de trabajo**; consultar los valores esperados a continuación.

Escriba el texto aquí

E. Electroforesis en gel

1. Después de completar la reacción de PCR, orientar la bandeja de cebador y la caja de gel. El orden de los pocillos es de izquierda a derecha y de arriba a abajo.
2. Retirar con cuidado las tapas de las tiras sin salpicar los productos de PCR.
3. Cargar los productos de PCR en secuencia en el gel de agarosa al 2 %. (No es necesario agregar tampón de gel). Se recomienda el uso de una pipeta de 8 canales para la carga de gel.
4. Cargar un marcador de tamaño de ADN (100 bp ladder, marcador de tamaño de ADN N° de producto 103.202-100 o marcador de tamaño de ADN para corridas cortas en gel 103.203-100) en un pocillo por fila.
5. Cubrir la caja de gel con la tapa de la caja de gel.
6. Realizar la electroforesis del gel en 0,5 x buffer TBE, sin recirculación del tampón, durante 15-20 minutos a 8-10 V/cm.
7. Transferir la bandeja de gel con el gel a un transiluminador UV.
8. Fotografiar el gel con o sin la cubeta de gel.
9. Marcar la fotografía según las normas del laboratorio.

CONTROL DE CALIDAD

Las pautas de prueba de ASHI HLA indican que se debe incluir un pocillo de control negativo (contaminación) en cada configuración de PCR. (Estándares revisados para laboratorios acreditados, Sociedad Estadounidense de Histocompatibilidad e Inmunogenética, Aprobado por CMS: 16 de febrero de 2021). Se incluye un pocillo de control negativo en todos los kits, con la excepción de los kits de pocillo único HLA-B*27 y HLA-B*27. Consultar la Interpretación del gel en la página 14.

RESULTADOS

Se puede acceder en línea a las hojas de validación de líneas celulares específicas de lote y al certificado de análisis, www.caredx.com.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. El proceso PCR-SSP requiere condiciones de prueba altamente controladas para garantizar una amplificación discriminatoria adecuada. Se debe seguir estrictamente el procedimiento descrito en las Instrucciones de uso.
2. La muestra de ADN extraída es la plantilla para el proceso específico de amplificación por PCR. El ADN purificado debe tener una relación A260/280 entre 1,6 y 2,0 para obtener una visualización de banda óptima por electroforesis.
3. Todos los instrumentos, como el termociclador, dispositivos de pipeteo, deben calibrarse de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.
4. La información específica del lote se proporciona en el Prospecto del producto: Información específica del lote y en la Hoja de trabajo específica del lote.
5. Según las pruebas realizadas, las siguientes sustancias se evaluaron con tres (3) métodos de extracción en las concentraciones enumeradas y se encontró que no afectan el rendimiento de la prueba.

Instrucciones de Uso
Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

Método de Extracción	Sustancia Interferente	Concentración de Interferencia*
Sistema de sangre de ADN EZ1 DSP	Bilirubina	200mg/L
	Hemoglobina	200g/L
	Trigliceridos	30g/L
	Proteina	110g/L
Kit de sangre QIAamp DSP DNA	Bilirubina	200mg/L
	Hemoglobina	200g/L
	Trigliceridos	18,2g/L
	Proteina	77 - 96g/L
Método Gentra PureGene	Bilirubina	200mg/L
	Hemoglobina	200g/L
	Trigliceridos	18,2g/L
	Proteina	119 -146g/L

6. Las placas PCR son físicamente compatibles con la mayoría de termocicladores del mercado. Consulte la tabla de compatibilidad de plásticos del termociclador a continuación.

Nota: La tabla es solo una guía. Para cicladores validados, consulte la sección Requisitos del instrumento - Instrumento.

Tabla de Compatibilidad	
Fabricante	Termociclador
Applied Biosystems	GeneAmp 9700
	ProFlex 96-pocillos
	ProFlex 2x96-pocillos
	Veriti 0,2ml 96-well Block
	GeneAmp 2700, 2720, 9600
Agilent (Stratagene)	SureCycler 8800
	RoboCycler
	Gradient Cycler
Biometra	Uno, Uno II
	T1 Thermocycler
	TGradient/TAdvanced
	TRobot
	TProfessional
Bio-Rad	MJ Mini
	T100
	iCycler, MyCycler
	C1000, S1000
	PTC-2(xx)
Eppendorf	PTC-100 con 96-well block
	Mastercycler Gradient
	Mastercycler EP Gradient, Pro, Nexus

Instrucciones de Uso
Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

MWG	Primus 96
	TheQ Lifecycler
Thermo Scientific	Arktik
Techne	Flexigene, TC-412, TC-4000
	Genius, Touchgene, TC-512, TC-5000
	TC-PLUS, Prime, PrimeG, Prime Elite
Thermo Scientific Hybaid	PCR Express, Px2, PxE
	MultiBlock System & MBS
	Omnigene, Omn-E
Gene Technologies	GS1, GS4, GSX
Takara	TP 3000

VALORES ESPERADOS

A. Análisis de Datos

Examinar la foto del gel cuidadosamente y determinar los carriles positivos.










1. Se observará una banda más corta y de migración más rápida en un carril de gel si se amplificaron alelos HLA específicos. Esto indica un resultado positivo de la prueba.
 - a. Registrar la presencia y ausencia de productos PCR específicos.
 - b. Es útil monitorear las longitudes relativas de los productos de PCR específicos como se indica en los prospectos de productos específicos de lote cuando se interpretan los resultados del gel. Varios carriles tienen dos o más longitudes posibles de productos PCR específicos. Estos pocillos contienen varios pares de cebadores que generan productos de PCR de diferentes tamaños según los alelos HLA del ADN de la muestra.
 - c. Hacer coincidir el patrón de carriles de gel con productos de PCR específicos con la información de las tablas de interpretación y especificidad específicas del lote para obtener la tipificación HLA del ADN de la muestra.
2. Una banda interna de control positivo, de migración más lenta y más larga, debe ser visible en todos los carriles de gel, excepto en el carril de gel de control negativo, como control de la amplificación exitosa. La banda de control positivo interno puede ser débil o estar ausente en los carriles de gel positivos.
 - a. Registrar la presencia y las longitudes relativas 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 del kit.
 - b. La ausencia de una banda de control positivo interno sin un producto de PCR específico indica una reacción de PCR fallida.
 - i. Si los alelos HLA pueden determinarse en presencia de reacciones de PCR fallidas y las reacciones de PCR fallidas no cambian la asignación de alelos, entonces no es necesario repetir la prueba.
 - ii. Sin embargo, si la(s) reacción(es) PCR fallida(s) pudiera(n) cambiar la asignación del alelo HLA, entonces se debe repetir la tipificación.

Instrucciones de Uso

Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

- La presencia de un producto de PCR específico o una banda de control positivo interno en los carriles de control negativo indica contaminación con productos de PCR y anula todos los resultados de la prueba. Se pueden observar oligómeros de cebadores que oscilan entre 40 y 60 pares de bases en el (los) carril (es) de control negativo. Esto no representa contaminación.

B. Interpretación del Gel

	Reacción Positiva	Reacción Negativa	Reacción de PCR fallida
Pocillo			
Banda de Control Positivo Interno			
Banda Específica			
Banda de cebador			

- Se debe ejecutar un marcador de tamaño de ADN (100 bp ladder, marcador de tamaño de ADN N° de producto 103.202-100 o marcador de tamaño de ADN para corridas cortas en gel 103.203-100) en un pocillo por fila del gel o de acuerdo con las pautas de acreditación del laboratorio local.
- Es posible que se obtengan bandas más largas que la banda del control positivo interno y estas deben descartarse en la interpretación de los resultados de tipificación.
- Los cebadores no utilizados formarán una banda difusa de 50 pares de bases más corta.
- Pueden observarse artefactos de oligómeros de cebador. Estas son más largas que la banda del cebador, pero más cortas que las bandas específicas.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE RENDIMIENTO

Control de calidad del lote del kit

Cada solución de cebador se analiza frente a un panel de 48 muestras de ADN de líneas celulares bien caracterizadas del IHWC. Consultar las hojas de validación de líneas celulares específicas del lote en el prospecto del producto, información específica del lote.

Instrucciones de Uso

Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

Estudio de comparación de métodos 1

Este fue un estudio multicéntrico que evaluó la concordancia del kit de tipificación de HLA de baja resolución Olerup SSP® DR y la bandeja de tipificación de ADN de HLA One Lambda Micro SSPTM en tres laboratorios clínicos en los Estados Unidos.

Los resultados de tipificación analizados del kit de tipificación de HLA de baja resolución Olerup SSP® DR y de la bandeja de tipificación de ADN HLA One Lambda Micro SSPTM mostraron una concordancia del 98,4 % (123/125; IC del 95 %: 94,3 – 99,8) cuando se tratan dos resultados Olerup ambiguos como discordante. El acuerdo fue 100% (123 / 123; 95% CI: 97,1 – 100) cuando los resultados ambiguos de Olerup no se incluyeron en el análisis, lo que refleja la práctica clínica normal.

Estudio de Comparación de Métodos 2

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

La concordancia general para los alelos de Clase I fue del 99,6 % (278/279; IC del 95 %: 98,0 -100). Para los alelos de Clase II, la concordancia fue del 100 % (94/94; IC del 95 %: 96,2 – 100).

Tabla 1

Concordancia general de los resultados de Olerup SSP® y OneLambda SSO para los alelos de Clase I y Clase II.

HLA Locus	Total	
	n/N	% de acuerdo (95% CI)
A	95 / 95	100 (96,2 – 100)
B	90 / 90	100 (96,0 – 100)
C	93 / 94	98.9 (94,2 – 100)
Todos los Loci de Clase I	278 / 279	99.6 (98,0 – 100)
Loci (DQ) Clase II	94 / 94	100 (96,2 – 100)

0192-LBL v06 Kits de tipificación Olerup SSP® HLA que incluyen Taq polimerasa

Para uso diagnóstico in vitro

Estudio de reproducibilidad de resultados del kit

Revisado en Junio 2022



Página 17 de 29


Oscar A. Garcia
Socio Gerente
Cromoion


CROMOION s.r.l.
Farm. Cecilia A. Amaboldi
M.P. 15533 • M.N. 13795
Dirección Técnica

Instrucciones de Uso
Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

Este estudio comparó los resultados de tipificación de HLA de Olerup SSP® entre tres laboratorios de pruebas de HLA utilizando un panel de 10 muestras de ADN bien caracterizadas cuyos resultados de consenso se incluyen en el Banco de ADN de HLA de UCLA para HLA Clase I (A, B y C), alelos comunes de Clase II (DRB1*, DRB3*/DRB4*/DRB5* y DQB1*) y alelos de clase II investigados con menos frecuencia (DQA1*, DPA1* y DPB1*).

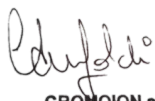
Tabla 2: Resumen de los resultados del estudio de reproducibilidad del kit Olerup SSP® HLA

Tipo de alelo HLA	Precisión de tipificación % n/N 95% de conf. del Intervalo (LL, UL)	
	Resultado ambiguo tratado como discordante	Resultado ambiguo tratado como indeterminado y excluido del análisis
<i>Clase I Baja Resolución</i> (A y B combinados)	98,3 (59/60) 91,1, 100	100 (59/59) 93,9, 100
<i>Clase I Alta Resolución</i> (A, B y C combinados)	94,7 (142/150) 89,8, 97,7	98,6 (142/144) 95,1, 99,8
<i>Clase II baja resolución</i> (DRB1* y DRB3*/DRB4*/DRB5*)	100 (60/60) 94,0, 100	100 (60/60) 94,0, 100
<i>Clase II alta resolución – alelos comunes</i> (DRB1*, DRB3*/DRB4*/DRB5*, y DQB1*)	98,3 (118/120) 94.1, 99,8	100 (118/118) 96,9, 100
<i>Clase II de alta resolución</i> <i>Poco frecuente alelos investigados</i> (DQA1*, DPA1*, y DPB1*)	83,3 (75/90) 74,0, 90,4	86,2 (75/87) 77,2, 92,7

Este estudio utilizó un panel de diez (10) muestras de ADN con resultados de tipificación HLA bien caracterizados.

Instrucciones de Uso
Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

Las concordancias más bajas observadas para los alelos de alta resolución Clase II investigados con menos frecuencia reflejan la mayor incertidumbre en los "resultados de consenso" de las muestras de ADN de UCLA considerando 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 llamada DQA1*0505 de Olerup SSP® frente a DQA1*0501 "tipificación por consenso"), los tres sitios de prueba llegaron al mismo resultado, lo que indica un rendimiento constante del kit Olerup DQA1*.



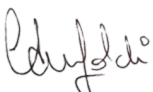
CROMOION s.r.l.
Farm. Cecilia A. Arnaboldi
M.P. 15533 • M.N. 13795
Dirección Técnica



Oscar A. García
Socio Gerente
Cromoion

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 HLA actuales se pueden encontrar en www.ebi.ac.uk/imgt/hla



CROMOION s.r.l.
Farm. Cecilia A. Amaboldi
M.P. 15533 • M.N. 13795
Dirección Técnica




Oscar A. García
Socio Gerente
Cromoion

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Problema	Motivo	Acción
Sin amplificación (ni amplificación de fragmentos del control interno, ni amplificaciones específicas).	Cantidad demasiado baja de ADN.	Medir la concentración de ADN y ver si la cantidad añadida es correcta. La contaminación por ARN puede causar una sobreestimación espectrofotométrica de la concentración de ADN. Repetir cuidadosamente la extracción de ADN con soluciones recién preparadas. Recomendamos la extracción de ADN automatizada con el Sistema Sanguíneo QIAGEN EZ1 DSP DNA.
	El ADN contiene inhibidores de PCR, como, por ejemplo, proteínas, etanol (de los pasos de precipitación), matrices restantes de productos de depuración de ADN en fase sólida.	Medir la calidad del ADN. Recomendamos una relación A260/A280 de 1,6 – 2,0 por espectrofotometría UV. Seguir exactamente el protocolo de extracción de ADN del proveedor. Volver a extraer el ADN. Recomendamos la extracción de ADN automatizada con el Sistema Sanguíneo QIAGEN EZ1 DSP DNA.
	El ADN ha sido extraído de sangre heparinizada.	Utilizar sangre no heparinizada o utilizar protocolos de extracción de ADN para sangre heparinizada.
	El ADN se disuelve en un tampón que contiene EDTA.	Repetir la extracción de ADN y disolver el ADN en dH2O.

Instrucciones de Uso
Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

Problema	Motivo	Acción
Sin amplificación (ni amplificación de fragmentos del control interno, ni amplificaciones específicas).	Introducción accidental de lavandina en la prueba.	Revisar las áreas donde posiblemente se utilice lavandina.
	Los kits no se almacenan a la temperatura adecuada.	Almacenar los kits a -20°C.
	El termociclador no funciona correctamente.	Calibrar el termociclador y verificar el programa PCR. Un termociclador utilizado para la tipificación rutinaria de PCR-SSP debe calibrarse cada 6-12 meses.
	Contacto inadecuado entre el bloque de calentamiento del termociclador y la bandeja de tipificación SSP.	Utilizar la bandeja/soporte correctos para pocillos de reacción de paredes finas de 0,2 ml; consultar el manual del termociclador.
Fallo aleatorio de amplificación (pérdidas alélicas)	Los sellos de PCR o las tapas de los tubos de PCR que no estén bien cerrados provocarán la evaporación y el posterior fallo de la amplificación.	Asegurarse de que los sellos PCR/todas las tapas estén bien cerrados. La almohadilla de compresión Olerup SSP® (N.º de producto 103.505-06) se puede aplicar encima de la Sellos adhesivos de PCR para evitar la evaporación durante los ciclos térmicos.
	Errores de carga de gel	Comprobar que se ha cargado el número correcto de pocillos y que cada pocillo contiene aproximadamente el mismo volumen de mezcla de PCR.
	Uso de pipetas no calibradas	Calibrar todas las pipetas de forma rutinaria de acuerdo con las recomendaciones del proveedor
	Error de pipeteo.	Realizar el pipeteo más cuidadosamente.




Instrucciones de Uso
Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

	<p>La Master Mix y el ADN de la muestra no se han mezclado correctamente antes de su uso.</p>	<p>Mezclar brevemente mediante vórtex antes de usar. Recomendamos agitar en vortex después de cada fila.</p>
	<p>Se ha agregado a los pocillos un volumen irregular de la mezcla ADN-Master Mix.</p>	<p>Realizar el pipeteo más cuidadosamente.</p>



CROMOION s.r.l.
 Farm. Cecilia A. Amaboldi
 M.P. 15533 • M.N. 13795
 Dirección Técnica



Oscar A. Garcia
 Socio Gerente
 Cromoion

Instrucciones de Uso
Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

Problema	Motivo	Acción
Fragmentos débiles de control interno	ADN impuro	<p>Medir la calidad del ADN. La relación A260/280 debe ser 1,6 – 2,0 por espectrofotometría UV. La contaminación por ARN puede causar una sobreestimación espectrofotométrica de la concentración del ADN. El ADN degradado da lugar a manchas en carriles de gel. Repetir la extracción de ADN con cuidado con soluciones recién preparadas. Recomendamos la extracción de ADN automatizada con el Sistema Sanguíneo QIAGEN EZ1 DSP DNA.</p>
	Cantidad demasiado baja de ADN	<p>Medir la concentración de ADN y ajustar a 30 ng/μl o a 15 ng/μl para el ADN extraído por el Sistema Sanguíneo ADN QIAGEN EZ1 DSP. La contaminación por ARN puede causar una sobreestimación espectrofotométrica de la concentración de ADN. El ADN degradado da lugar a manchas en carriles de gel. Repetir la extracción de ADN cuidadosamente con Soluciones recién preparadas. Recomendamos la extracción automatizada del ADN con el Sistema Sanguíneo QIAGEN EZ1 DSP DNA.</p>


GROMOION s.r.l.
 Farm. Cecilia A. Amaboldi
 M.P. 15533 - M.N. 13795
 Dirección Técnica

0192-LBL v06 Kits de tipificación Olerup SSP® HLA que incluyen Taq polimerasa


Oscar A. García
 Socio Gerente
 Cromoion

Para uso diagnóstico in vitro

Instrucciones de Uso
Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

Problema	Motivo	Acción
Fragmentos de control interno débiles.	Temperatura de hibridación demasiado alta, el termociclador no está calibrado.	Calibrar el termociclador y verificar el programa PCR. Un termociclador utilizado para la tipificación rutinaria de PCR-SSP debe calibrarse cada 6 a 12 meses.
	La PCR Master Mix se ha almacenado a +4 °C durante más de 2 semanas.	Almacenar correctamente la PCR Master Mix.
Amplificación no específica (escaleras o manchas)	Uso de muestra de ADN en exceso.	Medir la concentración de ADN y ajustar 30 ng/μl o hasta 15 ng/μl para el ADN extraído por el Sistema Sanguíneo QIAGEN EZ1 DSP DNA Algunas soluciones de cebador tienen una mayor tendencia de dar lugar a una amplificación inespecífica. Ver las notas a pie de página en cada tabla de especificidad de lote.
	ADN impuro	Todos los fragmentos más grandes que el fragmento de control interno deben ser ignorados al interpretar los resultados obtenidos. Comprobar la calidad del ADN. Repetir la extracción del ADN. Recomendamos extracción de ADN automatizado con el Sistema Sanguíneo QIAGEN EZ1 DSP DNA. Algunas soluciones de cebador tienen una mayor tendencia de dar lugar a una amplificación inespecífica. Consultar las notas a pie de página en cada tabla de especificidad de lote.

Instrucciones de Uso
Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

Problema	Motivo	Acción
Señales de amplificación cada vez más débiles con el tiempo.	La solución de tinción de gel de agarosa con bromuro de etidio es vieja.	Preparar una solución fresca de bromuro de etidio para lograr una mejor coloración del gel de agarosa y una mejor señal. Las nubes de cebador son fáciles de detectar si la coloración del gel de agarosa es normal.
	Una de las lámparas UV está rota.	Comprobar el equipo de luz ultravioleta. Las nubes de cebador son fáciles de detectar si la luz ultravioleta es normal.
	Usó muy poca muestra de ADN.	Medir la concentración de ADN y ajustar a 30 ng/μl o a 15 ng/μl para el ADN extraído por el Sistema Sanguíneo QIAGEN EZ1 DSP DNA
	Temperatura de hibridación demasiado alta, el termociclador no está calibrado.	Calibre el termociclador y verifique el programa PCR. Se debe calibrar un termociclador utilizado para la tipificación rutinaria de PCR-SSP. cada 6-12 meses.
Extraños patrones de amplificación.	Se utiliza una tabla de interpretación / hoja de trabajo específica del lote incorrecta.	Verifique el número de lote del producto utilizado y la Tabla de Interpretación / hoja de trabajo utilizada.
	Orden incorrecto en la carga del gel.	Compruebe la alineación de las mezclas y los carriles de gel.
	El patrón de amplificación contiene un falso positivo.	Ver debajo
	El patrón de amplificación contiene un falso negativo.	Ver debajo

Instrucciones de Uso
Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

Problema	Motivo	Acción
Amplificaciones falsas positivas.	contaminación del ADN.	Utilizar guantes, puntas de pipeta que contengan barreras (tapones de filtro) y salas separadas para la manipulación previa y posterior a la PCR. Asegurar el manejo preciso de todas las muestras, en todos los pasos. Comprobar si hay contaminación con el kit de prueba de limpieza Olerup SSP®.
	ADN impuro	Medir la calidad del ADN. Seguir exactamente el protocolo de extracción de ADN del proveedor. Probar otros sistemas de extracción de ADN. Volver a extraer el ADN. Recomendamos la extracción automática de ADN con el QIAGEN EZ1 Sistema Sanguíneo de ADN DSP.
	Uso de muestra de ADN en exceso.	Medir la concentración de ADN y ajustar a 30 ng/μl o a 15 ng/μl para el ADN extraído por el QIAGEN EZ1 DSP DNA sistema sanguíneo.
	Temperatura de hibridación demasiado baja.	Calibrar el termociclador y verificar el programa PCR. Un termociclador utilizado para la tipificación rutinaria de PCR-SSP debe calibrarse cada 6 -12 meses.
	Gran retraso entre la configuración de la PCR y el inicio del ciclo térmico.	No se debe permitir más de 5 minutos de retraso antes del ciclo térmico.
	Retraso entre la colocación de las bandejas de tipificación en el termociclador y el inicio del ciclo.	Utilizar termociclador precalentado.

Instrucciones de Uso
Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

Problema	Motivo	Acción
Continuando: Amplificaciones de falsos positivos.	Uso en exceso de bromuro de etidio.	Usar la cantidad recomendada de bromuro de etidio.
	Interpretación incorrecta de un artefacto como una banda específica.	Consultar la tabla de interpretación/hoja de trabajo específica del lote y la tabla de especificidad para conocer el tamaño correcto de la banda y las notas al pie.
	El patrón de amplificación contiene un falso positivo.	Comprobar si todas las amplificaciones específicas tienen el tamaño correcto o si se trata de un artefacto (remanente, dímero de cebador) que ha sido malinterpretado como una amplificación.
	Orden incorrecto en la carga del gel.	Verificar la alineación de las mezclas y los carriles de gel.
Amplificaciones falsas negativas.	El termociclador no está correctamente calibrado.	Calibrar el termociclador y verificar el programa PCR. Un termociclador utilizado para la tipificación rutinaria de PCR-SSP debe calibrarse cada 6 a 12 meses. Si no se corrige con la recalibración, volver a escribir la prueba con una muestra de referencia de la misma especificidad. Si se confirma negativo, ponerse en contacto con el servicio de atención al cliente.
	Orden incorrecto en la carga del gel.	Verificar la alineación de las mezclas y los carriles de gel.


CROMOION s.r.l.
 Farm. Cecilia A. Amaboldi
 M.P. 15533 - M.N. 13795
 Dirección Técnica

0192-LBL v06 Kits de tipificación Olerup SSP® HLA que incluyen Taq polimerasa

Para uso diagnóstico in vitro


Oscar A. García
 Socio Gerente
 Cromoion

Instrucciones de Uso
Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

Problema	Motivo	Acción
Problemas generales de gel (geles borrosos y/o carriles manchados).	Muestra de ADN degradado.	Aparece como una mancha en los carriles de gel. Aíslar el ADN de una muestra fresca.
	Fuerte rayado en pocillos aleatorios.	Suspensiones irregulares de ADN. Asegurarse de que el ADN de la muestra esté disuelto antes de tomar su alícuota. Muestra de ADN diluida en Vortex.
	El producto PCR salió flotando del pocillo.	Alinear con cuidado las puntas de las pipetas con los pocillos de gel y dispensar lentamente.
	El tampón de electroforesis podría estar demasiado caliente.	Preparar un nuevo búfer TBE. Ejecutar a un voltaje más bajo.
	Se ha utilizado un porcentaje incorrecto de gel de agarosa.	Asegurarse de utilizar el gel de agarosa al 2 % recomendado.
	Agarosa no disuelta completamente.	Volver a hervir brevemente para derretir la agarosa.
	Concentración de TBE incorrecta.	Utilizar la concentración recomendada 0,5 x TBE.
	Geles recientemente utilizados	Los geles no están listos para usar hasta 15 minutos después de colar.
	Geles muy viejos.	No verter los geles con demasiada anticipación.
	El peine de gel utilizado tiene ranuras demasiado gruesas.	Utilizar peines finos (4 x 1 mm).
	Bandeja de gel que no es UV transparente	Retirar el gel de la bandeja de gel antes de ver.
	Imagen de gel demasiado brillante.	Uso excesivo de bromuro de etidio. Comprobar la configuración de la cámara.
	Imagen de gel demasiado oscura.	Utilizar la cantidad recomendada de bromuro de etidio. Comprobar la configuración de la cámara.

Instrucciones de Uso
Kits de tipificación Olerup SSP® HLA Taq polimerasa incluido

Problema	Motivo	Acción
Problemas generales con amplificación de falsos negativos o problemas dependientes entre ejecuciones de tal naturaleza	Configuración de velocidad de rampa demasiado alta.	Los kits Olerup SSP® se validan con el ciclador GeneAmp 9700 configurado en el modo 9600 y ProFlex con un rango de variación de 3°C/s. Rangos de variaciones más altas que el equivalente a eso pueden tener un efecto en los resultados de la tipificación.

MARCAS UTILIZADAS EN ESTE DOCUMENTO / PRODUCTO

Olerup SSP® es una marca registrada de CareDx AB.

Qiagen™ es una marca registrada de QIAGEN.

GARANTÍA

CareDx AB garantiza sus productos al comprador original contra defectos de materiales y mano de obra en condiciones normales de uso y aplicación. La única obligación de CareDx AB bajo esta garantía será reemplazar, sin cargo, cualquier producto que no cumpla con los estándares de rendimiento establecidos en la hoja de especificaciones del producto.

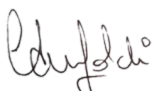
Esta garantía se aplica solo a los productos que han sido manipulados y almacenados de acuerdo con las recomendaciones de CareDx AB y no se aplica a los productos que han sido objeto de alternancia, mal uso o abuso.

Todos los reclamos bajo esta garantía deben dirigirse a CareDx AB por escrito y deben ir acompañados de una copia de la factura del comprador. Esta garantía sustituye a todas las demás garantías, expresas o implícitas, incluidas las garantías de comerciabilidad e idoneidad para un propósito particular. En ningún caso CareDx AB será responsable por daños incidentales o consecuentes.

Este producto no se puede reformular, volver a empaquetar ni revender de ninguna forma sin el consentimiento por escrito de CareDx AB, Franzéngatan 5, SE-112 51 Estocolmo, Suecia. Manipular todas las muestras como si fueran capaces de transmitir enfermedades. Todos los trabajos deben realizarse con guantes y protección adecuada.

GARANTÍA

CareDx AB garantiza que los cebadores en las bandejas de tipificación Olerup SSP® tienen las especificidades proporcionadas en la hoja de trabajo, las Tablas de Interpretación y Especificidad específicas del lote del prospecto del producto.



CROMOION s.r.l.
 Farm. Cecilia A. Amaboldi
 M.P. 15533 • M.N. 13795
 Dirección Técnica

0192-LBL v06 Kits de tipificación Olerup SSP® HLA que incluyen Taq polimerasa

Para uso diagnóstico in vitro



Oscar A. García
 Socio Gerente
 Cromoion

DIRECCIONES:

Fabricante:

CareDx AB, Franzégatan 5, SE-112 51 Estocolmo, Suiza

Tel: +46-8-508 939 00

Fax: +46-8-717 88 18

E-mail: orders-se@caredx.com

Página Web: www.caredx.com

Distribuido por:

CareDx AB, Franzégatan 5, SE-112 51 Estocolmo, Suiza

Tel: +46-8-508 939 00

Fax: +46-8-717 88 18

E-mail: orders-se@caredx.com

Página Web: www.caredx.com

CareDx Lab Solutions Inc., 901 S. Bolmar St., Suite R, West Chester, PA 19382

Tel: 1-877-653-7871

Fax: 610-344-7989

E-mail: orders-us@caredx.com

Página Web: www.caredx.com

CareDx Pty Ltd., 20 Collie Street, Fremantle WA 6160, Australia

Tel: +61 8 9336 4212

E-mail: orders-aus@caredx.com

Página Web: www.caredx.com

Para obtener información sobre los distribuidores de CareDx en todo el mundo, comuníquese con CareDx AB.

Cambios en la revisión 0192-LBL v06 en comparación con 0192-LBL v05:

1. Se eliminó la información sobre el prospecto del producto.
2. Redacción revisada en todo el documento.



CROMOION s.r.l.
Farm. Cecilia A. Amaboldi
M.P. 15533 - M.N. 13795
Dirección Técnica



Oscar A. García
Socio Gerente
Cromoion

ROTULO EXTERNO

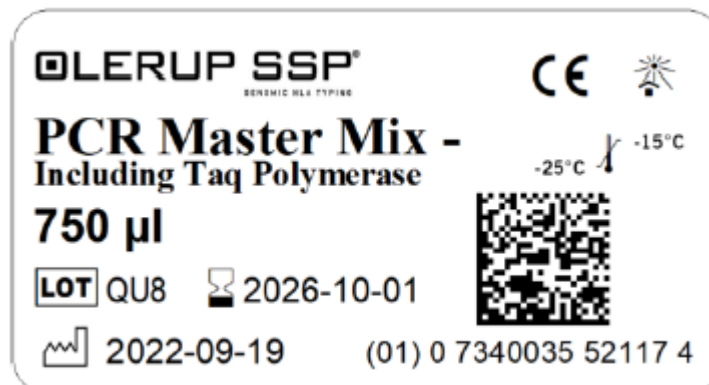


ROTULOS INTERNOS

MasterMix with Taq 1125 µl



MasterMix with Taq 750 µl



CROMOION s.r.l.
Farm. Cecilia A. Armaboldi
M.P. 15533 • M.N. 13795
Dirección Técnica

Oscar A. García
Socio Gerente
Cromoion

MasterMix with Taq 112 µl



SOBRE RÓTULO QUE SE AGREGA A LAS CAJAS DE LOS PRODUCTOS

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 Arnaboldi - M.N. 13795

Producto Médico – Venta exclusiva a Laboratorios de Análisis Clínicos

USO PROFESIONAL EXCLUSIVO

Uso Diagnóstico In Vitro

Certif./PM: **908-239**

Autorizado por la ANMAT

Ministerio de Salud – República Argentina

VER INSTRUCCIONES DE USO

CROMOION s.r.l.
Farm. Cecilia A. Arnaboldi
M.P. 15533 - M.N. 13795
Dirección Técnica

Oscar A. García
Socio Gerente
Cromoion



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: CROMOION SRL. rótulos e instrucciones de uso

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 33 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2023.08.11 08:40:45 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.08.11 08:40:48 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-003080-23-5

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN
PRODUCTO MÉDICO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO**

Expediente N° 1-0047-3110-003080-23-5

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por CROMOION S.R.L. ; se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto con los siguientes datos identificatorios característicos:

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Descriptivo: Reactivo para determinación de antígenos HLA clase I y II

Marca comercial: OLERUP SSP

Modelos:

MasterMix with Taq

Indicación/es de uso:

Para diagnóstico in vitro cualitativo, para ser utilizadas en con los equipos Olerup SSP® HLA Typing, utilizados en la tipificación de DNA de los alelos HLA Clase I y Clase II.

Forma de presentación: MasterMix with Taq 112 µ
MasterMix with Taq 750 µ
MasterMix with Taq 1125 µ

Período de vida útil: Son estables por 33 meses, conservados de -20°C, desde la fecha de manufactura.

Nombre del fabricante:
CareDx AB

Lugar de elaboración:
Franzégatan 5, SE-112-51 Estocolmo -SUECIA

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 908-239 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-003080-23-5

N° Identificadorio Trámite: 49144

AM