



Bruksanvisning

Olerup SSP[®] inkludert Taq-polymerase

© 2023 CareDx, Inc. Alle tjenestemerker eller varemerker eies eller lisensieres av CareDx, Inc. eller dets tilknyttede selskaper. Med enerett.

1581-LBL v02 Olerup SSP[®] HLA-sett for typing inkludert Taq-polymerase

Til *in vitro* diagnostisk bruk

Revidert september 2023



Side 1 av 29

Til *in vitro* diagnostisk bruk

TILTENKT BRUK

Olerup SSP® HLA Typing Kits er kvalitative *in vitro* diagnostiske sett for DNA-typing av HLA klasse I- og HLA klasse II-alleler. Produktene brukes av utdannede fagpersoner i medisinske miljøer med det formål å bestemme HLA fenotype. DNA er kildematerialet som testes.

SAMMENDRAG OG FORKLARING

Humane leukocyt-antigener (HLA) ble tidligere påvist ved hjelp av en toksisitetstest for lymfocytter. Denne testen har nå blitt erstattet av teknikker for DNA-typing basert på polymerasekjedereaksjon (PCR), fordi den hadde høy feilfrekvens og manglende allelnivåoppløsning. I de fleste PCR-baserte teknikker brukes PCR-prosessen bare til oppformering av nødvendig mål-DNA, og et trinn etter oppformeringen er nødvendig for å skille mellom de forskjellige allelene. PCR-SSP-metoden (sekvensspesifikk primer) skiller derimot mellom de forskjellige allelene under PCR-prosessen. Dette forkorter og forenkler trinnet etter oppformering til et enkelt deteksjonstrinn med gelektroforese. Testresultatene etter SSP er enten positive eller negative, noe som eliminerer behovet for komplisert tolkning av resultatene. I tillegg er oppløsningen som brukes til typing i PCR-SSP, høyere enn for andre PCR-baserte teknikker for typing, da de enkelte primerparene definerer to sekvensmotiver plassert i *cis*, det vil si på samme kromosom. På grunn av SSPs syntetiske natur har reagensstabiliteten dessuten blitt bedre og «lot til lot»-variasjonen er redusert.

PROSEDYREPRINSIPP

PCR-SSP-metodikken er basert på prinsippet om at det er mer effektivt å bruke helt eller nesten helt matchede oligonukleotidprimere uten 3'-ende-uoverensstemmelser i PCR-reaksjonen enn primere med uoverensstemmelser i termostabile DNA-polymeraser uten korrigerende avlesningsegenskaper. Primerpar er utformet for å samsvare med enkle alleler eller gruppe(r) av alleler, avhengig av graden av den nødvendige typingsoppløsningen. Når PCR-forholdene er strengt kontrollert, kan matchede eller nesten helt matchede primerpar tillate forsterkning, det vil si et positivt resultat, mens primerparsom ikke er matchede, ikke tillater forsterkning, det vil si et negativt resultat.

Etter PCR-prosessen separeres de forsterkede DNA-fragmentene i henhold til størrelse, for eksempel ved hjelp av agarose-gelektroforese, visualisert ved farging med etidiumbromid og eksponering for ultrafiolett lys, fotografert for dokumentasjon og tolkning. Tolkning av PCR-SSP-resultater er basert på tilstedeværelse eller fravær av spesifikke PCR-produkter. De relative størrelsene på de spesifikke PCR-produktene kan være nyttige i tolkningen av resultatene. PCR-SSP-metodikken for HLA ble opprinnelig beskrevet av O. Olerup i 1991 og 1992^{1,2}.

Siden PCR-prosessen kan påvirkes negativt av ulike faktorer (f.eks. pipetteringsfeil, for lav DNA-konsentrasjon, dårlig DNA-kvalitet, tilstedeværelse av PCR-hemmere, unøyaktighet i termosyklus), er et internt positivt kontrollprimerpar inkludert i hver PCR-reaksjon². Det interne positive kontrollprimerparet samsvarer med bevarte regioner i veksthormongen, som finnes i alle menneskelige DNA-prøver. Hvis et bestemt PCR-

Bruksanvisning
Olerup SSP® HLA-sett for typing inkludert Taq-polymerase

produkt av HLA-allele(r) er til stede, kan produktet av det interne positive kontrollbåndet være svakt eller fraværende. Amplikonene som genereres av de spesifikke HLA-primereparene, er kortere enn amplikonene til det interne positive kontrollprimerparet, men større enn ikke-inkorporerte primere (se Forventede verdier).

REAGENSER

A. Identifikasjon

Olerup SSP®-settene for typing inneholder tørkede, forhåndsoptimaliserte sekvensspesifikke primere for PCR-forsterkning av HLA-alleler og veksthormongen, PCR Master Mix uten *Taq-polymerase* ("Master Mix"), og selvklebende PCR-tetninger.

Primerløsningene er forhånds-alikvotert og tørket i 0,2 ml brønner med tilpassede, tynnveggede PCR-skuffer. Hver brønn på brettet inneholder en tørket primerløsning som består av en bestemt primerblanding, det vil si allel- og gruppespesifikke HLA-primere, samt et internt positivt kontrollprimerpar som matcher ikke-alleliske sekvenser og er klar for tilsetning av DNA-prøve, Master Mix og H₂O.

Primerne er designet for optimal PCR-forsterkning ved bruk av Master Mix og det anbefalte DNA-syklusprogrammet (se Programmering av termosyklus).

Lotspesifikke spesifisitet- og tolkningstabeller eller -regneark for de spesifikke HLA-allelene som forsterkes av den enkelte primerblandingen, kan hentes fra nettsiden www.caredx.com.

B. Advarsler og forholdsregler

1. For *in vitro* diagnostisk bruk.
2. Dette produktet kan ikke brukes som det eneste grunnlaget for å ta en klinisk beslutning.
3. **Biofare-advarsel:** Alle blodprodukter skal behandles som potensielt smittsomme. Ingen kjente testmetoder kan garantere at produkter avledet fra menneskelig blod ikke vil overføre smittsomme stoffer.
4. **Biofare-advarsel:** Etidiumbromid, som brukes til farging av DNA i agarose-gelelektroforesen, er et kreftfremkallende middel. Håndter med egnet personlig verneutstyr.
5. **Advarsel:** Bruk UV-blokkerende øyebeskyttelse, og ikke se direkte på UV-lyskilden når du ser på eller fotograferer geleer.
6. Pipetter og annet utstyr som brukes til **post-PCR**-manipulasjoner skal **ikke** brukes til **pre-PCR**-manipulasjoner.
7. Se Sikkerhetsdatablad (www.caredx.com) for mer informasjon.

C. Bruksanvisning

Se Bruksanvisning.

D. Instruksjoner for lagring

Settkomponentene skal oppbevares på et mørkt sted og ved temperaturer som er angitt på pakkeetiketten.

Brukes før utløpsdatoen som står på pakkeetiketten.

E: Rensing eller behandling som kreves for bruk
Se Bruksanvisning.

F. Indikasjoner på ustabilitet

1. Ikke bruk primerbrett med sprekker i brønnene eller skade på den øvre kanten av brønnene, da dette kan føre til fordamping under PCR-forsterkningen. Ikke bruk PCR-hettestrimler med sprekker, da dette kan forårsake fordamping under PCR-forsterkningen.
2. Pelletsene i brønnene skal ha en rød farge. Gul misfarging av pellets kan indikere nedbrytning.
3. Master Mix skal være rød til lilla i fargen. Gul til oransje misfarging kan indikere nedbrytning.

KRAV TIL INSTRUMENTER**A. Instrument**

Det skal brukes en termosyklus med følgende minimumsspesifikasjoner:

- oppvarmet lokk med en temperatur på 104 °C for oljefri bruk
- prøveblokk (aluminium, sølv eller gullbelagt sølv) for bruk med enten en 96-brønns PCR-plate eller 0,2 ml tynnveggede reagensrør
- Olerup SSP-sett valideres på følgende syklere.

Anbefalt hastighet:

- GeneAmp 9700: GeneAmp 9700-syklus i 9600-modus. Dette tilsvarer en **prøvehastighet** på 1,6 °C opp og 0,8 °C/s ned.
- ProFlex 1x96-well block: ProFlex PCR-syklus med en blokkrampe på 3,0 °C/s (hvert trinn 3,0 °C/s). En **blokkhastighet på** 3,0 °C/s tilsvarer en prøvehastighet på 1,52 °C/s opp og 1,36 °C/s ned.
- ProFlex 2x96-well block: ProFlex PCR-syklus med en blokkrampe på 3,0 °C/s (hvert trinn 3,0 °C/s). En **blokkhastighet på** 3,0 °C/s tilsvarer en prøvehastighet på 1,9 °C/s opp og 1,6 °C/s ned.

Merk: Høyere hastigheter enn de som er beskrevet ovenfor, kan ha innvirkning på resultatene av typingen. Vær også oppmerksom på at effekten på typingen kan variere mellom forskjellige ikke-validerte syklere, avhengig av innstillingene.

- temperaturområde fra 4,0 °C til 99,9 °C
- temperaturnøyaktighet på $\pm 0,25$ °C i området 35 °C til 99,9 °C
- jevn prøveblokktemperatur på $\leq 0,75$ °C i området 55 °C til 95 °C
- temperaturkalibrering som kan spores til en referansestandard (dvs. NIST)

Programmer termosykleren ved hjelp av PCR-syklusparametrene i avsnitt B nedenfor.

For spesifikk termosyklerinformasjon, se produsentens bruksanvisning. Termosyklere bør kalibreres i henhold til akkrediteringsreglerne til ASHI (American Society of Histocompatibility and Immunogenetics) eller EFI (European Federation of Immunogenetics).

Programmer termosykleren før du følger bruksanvisningen som er beskrevet nedenfor.

Bruksanvisning
Olerup SSP® HLA-sett for typing inkludert Taq-polymerase

B. PCR-syklerparametere

- | | | | | |
|----|-------------|------|---------|------------------------------|
| 1. | 1 syklus | 94°C | 2 min | denaturering |
| 2. | 10 sykluser | 94°C | 10 sek. | denaturering |
| | | 65°C | 60 sek. | hybridisering og forlengelse |
| 3. | 20 sykluser | 94°C | 10 sek. | denaturering |
| | | 61°C | 50 sek. | hybridisering |
| | | 72°C | 30 sek. | forlengelse |
| 4. | Avslutt – | RT | | hvis mindre enn 8 timer |
| | stopp | 4°C | | hvis mer enn 8 timer |

Totalt reaksjonsvolum i hver brønn, 10 µl.

De samme PCR-syklerparametrene brukes til alle *Olerup SSP®*-settene.

INNSAMLING AV PRØVER OG FORBEREDELSE

Det er nødvendig å ha ekstrahert, svært rent DNA til SSP-typing. DNA-prøver som skal brukes til PCR-SSP HLA-typing, bør suspenderes på nytt i dH₂O. A_{260/280} -forholdet skal være 1,6 – 2,0 ved UV-spektrofotometri for optimal båndvisualisering under elektroforese.

Vi anbefaler automatisert DNA-ekstraksjon med QIAGEN EZ1 DSP DNA Blood System. ACD-blod bør brukes som startmateriale.

Alternativt kan DNA-et ekstraheres ved hjelp av enhver foretrukket metode som gir rent DNA. Ved bruk av alternative metoder skal DNA-konsentrasjonen justeres til 30 ng/μl. **Ikke bruk heparinisert blod med disse metodene.**

Anbefalt DNA-konsentrasjon ved bruk av:
EZ1-ekstrahert DNA, 15 ng/μl.
DNA ekstrahert ved hjelp av andre metoder, 30 ng/μl.

Konsentrasjoner på mer enn 50 ng/μl vil øke risikoen for ikke-spesifikke forsterkninger og svake ekstra bånd, spesielt for HLA Klasse I høyoppløselige SSP-typinger. Fortynn det ekstraherte DNA-et i dH₂O ved behov.

DNA-prøver bør ikke suspenderes på nytt i løsninger som inneholder chelateringsmidler som EDTA, med en konsentrasjon på over 0,5 mM.

DNA-prøver kan brukes umiddelbart etter ekstraksjon eller oppbevares ved +4°C i opptil 2 uker uten at det påvirker resultatene. DNA-prøver kan lagres ved -20°C eller kaldere i 9 måneder. Renheten og konsentrasjonen av ekstraherte DNA-prøver som har vært lagret i en lengre periode, bør testes for akseptabilitet før HLA-typing.

DNA-prøver bør sendes ved +4°C eller kaldere, slik at de bevarer integriteten sin under transport.

PROSEDYRE**A. Materialer som leveres**

1. Olerup SSP® primerskuffer.
2. Master Mix (passende mengde for skuffene i settet). Samme Master Mix brukes til alle Olerup SSP®-sett.
3. Selvklebende PCR-tetninger (passende antall for skuffene i settet).

B. Materialer som er nødvendige, men ikke levert

1. DNA-isolasjonssett/-utstyr
2. UV-spektrofotometer
3. Pipetteringsenheter. Vi anbefaler elektronisk enkanals dispenser som er i stand til å dispensere 10 µl- alikvoter for å legge til DNA-Master Mix-dH₂O-blandingen til brettbrønnene.
4. Pipettespisser til engangsbruk
5. Polypropylenrør
6. Vortex-mikser
7. Mikrosentrifuge
8. PCR-skuffstativ
9. Termosykler med oppvarmet lokk for PCR med 96-brønns format, en temperaturgradient i hele varmeblokken ≤ 0,75 °C, og skuff/holder for 0,2 ml tynnveggede reaksjonsbrønner
10. Mikrobølgeovn eller kokeplate for oppvarming av agaroseløsninger
11. Elektroforesegrad agarose, f.eks. FMC Seakem LE
12. 0,5 x TBE-buffer; 1 x TBE buffer er 89 mM Tris-borate, 2 mM disodium EDTA, pH 8,0
13. Etidiumbromiddråpeflaske Product No. 103.301-10 eller GelRed dråpeflaske Product No. 103.302-05
14. Pipette til gelelasting. Vi anbefaler 8-kanals pipette til gelelasting, 5-25 µl justerbart volum
15. DNA-størrelsesmarkør for å dekke området 50 – 1 000 bp, for eksempel 100 baseparstige, DNA Size Marker produktnr. 103.202-100 eller DNA Size Marker for korte gelerunder 103.203-100
16. Elektroforeseapparat/strømforsyning
17. UV-transilluminator
18. Dokumentasjonssystem for fotografier eller bilder

C. Trinnvis prosedyre

Se Bruksanvisning.

BRUKSANVISNINGER**A. Prøvepreparering**

1. Rens genomisk DNA fra leukocyttprøven i henhold til valgt metode, se Innsamling av prøver og forberedelse ovenfor.
2. For spesifikk informasjon om prøveforberedelse og lagring, se Innsamling av prøver og forberedelse ovenfor.
3. Utfør PCR-forsterkning på rensed DNA-prøve ved hjelp av en Olerup SSP® - typingskuff eller lagre DNA-prøven til den er klar til typing.

B. Klargjøring av reagens/utstyr

1. Programmer en termosyklus til å kjøre *Olerup SSP*® PCR-programmet, se Instrumentkrav – PCR syklerparametere ovenfor.
2. Forbered elektroforese-gele, se avsnitt C – **Elektroforese-gele Forberedelse** nedenfor.

C. Forberedelse av elektroforese-gele

For *Olerup SSP*® Gel System 96 (produktnr. 103.101-01)

1. Oppsett
 - Niveller støpekammeret for 1 gele (produktnr. 103.101-31) eller støpekammeret for 3 geler (produkt nr. 103.101-33) ved hjelp av nivelleringsboblen og de tre høydejusterbare beina.
 - Plasser gelebrettet/-brettene i støpekammeret.
2. 2 % (m / v) Forberedelse av agarose-gele
Bruk en elektroforesegrad-agarose med høy kvalitet som kan løse opp 50 – 2 000 basepar-fragmenter av DNA.
 - Ta 5 ml 10 x TBE (Tris Borate EDTA)-buffer og tilsett 150 ml destillert vann og 2 g agarose i en 500 ml glassflaske.
 - Løs opp agarosen ved å koke den i en mikrobølgeovn til det dannes en homogen løsning på 100 ml.
 - Avkjøl geleopløsningen til 60°C, f.eks. i et varmeskap.
 - Farg gelen før støping med etidiumbromid (10 mg/ml), 5 µl per 100 ml geleopløsning. For maksimal brukervennlighet, bruk våre etidiumbromidråpeflasker (produktnr. 103.301-10). **Merk: Etidiumbromid er et kreftfremkallende middel. Håndter med egnet personlig verneutstyr.**
 - Hell 100 ml geleopløsning i gelebrettet i støpekammeret. Plasser 6 gelekammer (produktnr. 103.101-21) i sporene på gelebrettet.
 - La geleen sette seg i 15 minutter.
 - Hell 750 ml 0,5 x TBE-buffer i geletanken. Senk gelebrettet ned i geleboksen og fjern forsiktig de 6 gelekammene ved å løfte dem opp.

Følg produsentens bruksanvisning ved bruk av alternative elektroforesesystemer. For å kunne brukes med *Olerup SSP*® HLA Typing Kits, må disse systemene være i stand til å løse opp PCR-produkter fra 50 til 1100 basispar i størrelse.

D. Trinnvis prosedyre

1. Ta ut fra de angitte lagringstemperaturen(e): riktig antall DNA-prøver, primerskuffen(e), samt mengden Master Mix som trengs for de valgte DNA-prøvene/primerskuffen(e). Tin dette ved romtemperatur (20 til 25°C).

Samme Master Mix brukes til alle *Olerup SSP*®-sett.

2. Bland DNA-prøve(r) kort ved hjelp av vorteksing.
3. Plasser primerskuffen(e) i et PCR-skuffstativ.
4. **Sett med lav og høy oppløsning**

Bruksanvisning
Olerup SSP® HLA-sett for typing inkludert Taq-polymerase

- Vorteks Master Mix før du tar alikvoter.
- Bruk en manuell enkanals pipette, tilsett Master Mix og dH₂O i ved romtemperatur i et 0,5 ml eller et 1,5 ml rør. (Se tabell 1 nedenfor for å finne riktige mengder.)
- Sett lokk på røret og vorteks i 5 sekunder. Puls-spinn røret i en mikrosentrifuge for å få all væske ned fra sidene av røret.
- Bruk en manuell enkanals pipette, tilsett 8 µl master mix - dH₂O-blanding og 2 µl dH₂O i den negative kontrollbrønnen, det vil si brønnen med de negative kontrollprimerparene, på primerbrettet.
- Bruk en manuell enkanals pipette, tilsett DNA-prøven ved romtemperatur til den gjenværende Master Mix - dH₂O-blanding. (Se tabell 1 nedenfor for å finne riktige mengder.)
- Sett lokk på røret og vorteks i 5 sekunder. Puls-spinn røret i en mikrosentrifuge for å få all væske ned fra sidene av røret.
- Ved hjelp av en elektronisk enkanals dispenser, alikvoter 10 µl av prøvereaksjonsblandingen i hver brønn, unntatt den negative kontrollbrønnen, på primerskuffen.

Bruksanvisning
Olerup SSP® HLA-sett for typing inkludert Taq-polymerase

Tabell 1: Mengder av komponentene som trengs per test for forskjellige antall brønner ved bruk av Master Mix.

Antall brønner per test	Mengde Master Mix (µl)	Mengde DNA-prøve (µl)	Mengde dH ₂ O (µl)	Antall brønner per test	Mengde Master Mix (µl)	Mengde DNA-prøve (µl)	Mengde 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

De anbefalte mengdene som er oppført ovenfor inkluderer mengder som skal kompensere for pipettevariasjoner og for tap av væske på rørenes indre vegger.

5. Kombi-sett A-B-DR, A-B-C, A-B-DR-DQ og DQA-DQB-DR Forbedret og sett for HLA-C høy oppløsning for hyppige alleler

- Vorteks Master Mix.
- Bruk en manuell enkanals pipette, tilsett 520 µl dH₂O ved romtemperatur i det medfølgende 1,5 ml røret som inneholder 312 µl Master Mix.
- Sett lokk på røret og vorteks i 5 sekunder. Puls-spinn røret i en mikrosentrifuge for å få all væske ned fra sidene av røret.
- Bruk en manuell enkanals pipette, tilsett 8 µl Master Mix – dH₂O-blanding og 2 µl dH₂O i den negative kontrollbrønningen nr. 96, det vil si brønningen med de negative kontrollprimerparene.
- Bruk en manuell enkanals pipette, tilsett 206 µl DNA-prøven ved romtemperatur til den gjenværende Master Mix - dH₂O -blandingen.
- Sett lokk på røret og vorteks i 5 sekunder. Puls-spinn røret i en mikrosentrifuge for å få all væske ned fra sidene av røret.
- Ved hjelp av en elektronisk enkanals dispenser, alikvoter 10 µl av prøvereaksjonsblandingen i hver brønn, unntatt den negative kontrollbrønningen nr. 96, på primerskuffen.

Viktig:

Pass på å tilføre prøven over primerne (tørket på bunnen av hver brønn i primerbrettet) for å unngå krysskontaminering mellom brønner. Berør innsiden av brønnen med pipettespissen, slik at prøven glir ned til bunnen av brønnen. Kontroller at alle prøver har falt til bunnen av den enkelte brønnen. Hvis ikke, trykk forsiktig på brettet på benkeplaten slik at alle prøvene legger seg på bunnen av brønnen før du begynner med PCR.

6. Dekk primerskuffen(e) med de medfølgende selvklebende PCR-tetningene. Kontroller at alle reaksjonsbrønner er helt dekket for å forhindre fordampningstap under PCR-forsterkning. Olerup SSP® Compression Pad (produktnr. 103.505-06) kan påføres på toppen av de selvklebende PCR-tetningene for å forhindre fordampning under termisk sykling.
7. Plasser primerskuffen(e) i termosykleren med en egnet rørbrettadapter. Ikke tillat mer enn 5 minutters intervall mellom PCR-oppsett og termisk sykling.
8. Skriv inn ditt Olerup SSP®-programnummer. Angi en reaksjonsmengde på 10 µl.
9. Start PCR-programmet. Programmet tar omtrent 1 time og 20 minutter.
10. Fjern primerskuffen(e) fra termosykleren. Inspiser PCR-skuffen for å forsikre deg om at det er omtrent samme mengde væske i hver PCR-brønn. Utfør elektroforese på prøvene, se avsnittet E – Gele- elektroforese nedenfor. Tolk typingsresultatene ved hjelp av de **partispesifikke tolknings- og spesifisitetstabellene eller regnearket**, se Forventede verdier nedenfor.

E. Gele-elektroforese

1. Etter at du har fullført PCR-reaksjonen, plasserer du primerskuffen og geleboksen. Rækkefølgen på brønnene er fra venstre til høyre og fra topp til bunn.
2. Fjern forsiktig stripelukkene uten å søle PCR-produktene.
3. Last PCR-produktene i rekkefølge til 2 % agarosegele. (Det er ikke nødvendig å tilsette gelelastebuffer.) Det anbefales å bruke en 8-kanals pipette for gelelasting.
4. Last en DNA-størrelsesmarkør (100 basepar- stige, DNA-størrelse produktnr. 103.202-100 eller DNA-størrelse for korte geleløp 103.203-100) i én brønn per rad.
5. Dekk geleboksen med geleboksløkket.
6. Utfør elektroforese på geleen i 0,5 x TBE-buffer, uten resirkulasjon av bufferen, i 15-20 minutter ved 8-10 V / cm.
7. Overfør gelebrettet med geleen til en UV-transilluminator.
8. Fotografer geleen med eller uten gelebrettet.
9. Merk fotografiet i henhold til laboratoriets regler.

KVALITETSKONTROLL

ASHI HLA-retningslinjer for testing indikerer at en negativ (forurensning) kontrollbrønn må inkluderes i hvert PCR-oppsett. (Reviderte standarder for akkrediterte laboratorier, American Society for Histocompatibility and Immunogenetics, Godkjent av CMS: 16. februar 2021). En negativ kontrollbrønn er inkludert i alle sett, med unntak av HLA-B * 27 - enhetsdose og HLA-B * 27 enkeltbrønnsett.

Se Tolkning av gele på side 14.

RESULTATER

Du får tilgang til partispesifikke valideringsark for cellerlinjer og analysesertifikat på Internett, www.caredx.com.

BEGRENSNINGER I PROSEDYREN

1. PCR-SSP-prosessen krever svært kontrollerte testforhold for å sikre tilstrekkelig diskriminerende forsterkning. Prosedyren som er beskrevet i bruksanvisningen, må følges nøye.
2. Den ekstraherte DNA-prøven er malen for den spesifikke PCR-forsterkningsprosessen. Det rensede DNA-et skal ha forholdet $A_{260/280}$ mellom 1,6 og 2,0 for å oppnå optimal båndvisualisering ved elektroforese.
3. Alle instrumenter, for eksempel termosyklere og pipetteringsutstyr, må kalibreres i henhold til produsentens anbefalinger.
4. Partispesifikk informasjon er gitt i produktvedlegget: Partispesifikk informasjon og i det partispesifikke arbeidsskjemaet.
5. Basert på utført testing ble følgende stoffer evaluert med tre (3) ekstraksjonsmetoder ved konsentrasjonene som er oppført og funnet å ikke påvirke testytelsen.

Uttrekkingsmetode	Forstyrrende substans	Forstyrrende konsentrasjon*
EZ1 DSP DNA blodsystem	Bilirubin	200 mg/L
	Hemoglobin	200 g/l
	Triglyserid	30 g/l
	Protein	110 g/l
QIAamp DSP DNA Blood Kit	Bilirubin	200 mg/L
	Hemoglobin	200 g/l
	Triglyserid	18,2 g/L
	Protein	77 - 96 g/l
Gentra PureGene- metoden	Bilirubin	200 mg/L
	Hemoglobin	200 g/l
	Triglyserid	18,2 g/L
	Protein	119 -146 g/l

6. PCR-platene er fysisk kompatible med de fleste termosyklere på markedet. Se tabellen for plastkompatibilitet for termosirkulering nedenfor.

Merk: Tabellen er kun ment som en veiledning. For godkjente syklere, se avsnittet Instrumentkrav – Instrument.

Tabell for kompatibilitet	
Produsent	Termosykler
Anvendte biosystemer	GeneAmp 9700
	ProFlex 96-well
	ProFlex 2x96-well
	Veriti 0,2 ml 96-brønns blokk
	GeneAmp 2700, 2720, 9600
Agilent (Stratagen)	SureCycler 8800
	RoboCycler
	Gradert sykler
Biometra	Uno, Uno II
	T1 Termosykler
	TGradient/TAdvanced
	TRobot
	TProfessional
Bio-Rad	MJ Mini
	T100
	iCycler, MyCycler
	C1000, S1000
	PTC-2(xx)
	PTC-100 med 96-brønns blokk
Eppendorf	Mastercycler Gradient
	Mastercycler EP Gradient, Pro, Nexus
MWG	Primus 96
	TheQ Lifecycler
Thermo Scientific	Arktik
Techne	Flexigene, TC-412, TC-4000
	Geni, Touchgene, TC-512, TC-5000
	TC-PLUS, Prime, PrimeG, Prime Elite
Thermo Scientific Hybaid	PCR Express, Px2, PxE
	MultiBlock System & MBS
	Omnigene, Omn-E
Genteknologier	GS1, GS4, GSX
Takara	TP 3000

FORVENTEDE VERDIER

A. Dataanalyse













Undersøk gelebildet nøye og bestem de positive banene.

1. Et raskere migrerende, kortere bånd vil bli sett i en gelebane hvis spesifikke HLA-alleler er forsterket. Dette indikerer et positivt testresultat.
 - a. Registrer tilstedeværelsen og fraværet av spesifikke PCR-produkter.
 - b. Det er nyttig å overvåke de relative lengdene på de spesifikke PCR-produktene som angitt i de partispesifikke produktvedleggene når du tolker geleresultatene. Flere baner har to eller flere mulige lengder på

Bruksanvisning
Olerup SSP® HLA-sett for typing inkludert Taq-polymerase

- spesifikke PCR-produkter. Disse brønnene inneholder flere primerpar som genererer PCR-produkter i forskjellige størrelser, avhengig av HLA-allelen(e) til prøve-DNA-et.
- c. Match mønsteret av gelebaner med spesifikke PCR-produkter med informasjonen i de partispesifikke tolknings- og spesifisitetstabellene for å få HLA-typingen av prøve-DNA-et.
2. Et internt positivt kontrollbånd, som migrerer langsommere og lengre, bør være synlig i alle gelebaner, unntatt i den negative kontrollgelebanen, som en kontroll av vellykket forsterkning. Det interne positive kontrollbåndet kan være svakt eller fraværende i positive gelebaner.
 - a. Registrer tilstedeværelsen og de relative lengdene på de interne positive kontrollbåndene. Kontrollbåndene i forskjellige størrelser vil hjelpe i riktig retning med både typingen og identifikasjonen av settet.
 - b. Fravær av internt positivt kontrollbånd uten noe spesifikt PCR-produkt indikerer en mislykket PCR-reaksjon.
 - i. Hvis HLA-alleler kan bestemmes i nærvær av mislykkede PCR-reaksjon(er) og de mislykkede PCR-reaksjonen(e) ikke endrer alleleoppdraget, trenger ikke testen gjentas.
 - ii. Men hvis de mislykkede PCR-reaksjonene kan endre HLA-alleleoppdraget, må typingen gjentas.
 3. Tilstedeværelsen av spesifikke PCR-produkter eller interne positive kontrollbånd i negative kontrollfelt indikerer forurensning med PCR-produkt(er) og annullerer alle testresultater. Primeroligomerer fra 40 til 60 basepar i størrelse kan observeres i de negative kontrollbanene. Dette er ikke forurensning.

B. Geletolkning

	Positiv reaksjon	Negativ reaksjon	Mislykket PCR- reaksjon
Brønn			
Internt positivt kontrollbånd			
Bestemt bånd			
Primer-bånd			

1. En DNA-størrelsesmarkør (100 baseparstige, DNA-størrelse produktnr. 103.202-100 eller DNA-størrelse for korte geleløp 103.203-100) bør kjøres i en brønn per rad av geleen eller i henhold til lokale retningslinjer for laboratorieakkreditering.

Bruksanvisning
Olerup SSP® HLA-sett for typing inkludert Taq-polymerase

2. Det kan komme bånd som er lengre enn det interne positive kontrollbåndet, og disse bør ses bort fra i tolkningen av typingsresultatene.
3. Ubrukte primere vil danne et diffust bånd av 50 basepar med kortere bånd.
4. Primeroligomer kan observeres. Disse er lengre enn primerbåndet, men kortere enn de spesifikke båndene.

SPESIFIKKE YTELSESEGENSKAPER

Kit Lot kvalitetskontroll

Hver primerløsning testes mot et panel med 48 DNA-prøver fra godt karakteriserte cellelinjer i IHWC, se de partispesifikke cellelinjevalideringsarkene i produktinnsatsen, partispesifikk informasjon.

Sammenligning av metoder Studie 1

Dette var en multisenterstudie som evaluerte avtalen mellom Olerup SSP® DR Low Resolution HLA Typing Kit og One Lambda Micro SSP™ HLA DNA Typing Tray ved tre kliniske laboratorier i USA.

De analyserte typingsresultatene av Olerup SSP® DR Low Resolution HLA Typing Kit og av One Lambda Micro SSP™ HLA DNA Typing Tray viste 98,4 % (123/ 125; 95 % CI: 94,3 — 99,8) avtale når to tvetydige Olerup-resultater behandles som uoverensstemmende. Samsvar var 100 % (123/ 123; 95 % KI: 97,1 — 100) når Olerups tvetydige resultater ikke ble inkludert i analysen, noe som reflekterer normal klinisk praksis.

Sammenligning av metoder Studie 2

Denne studien ble utformet for å demonstrere samsvar med HLA-allel (A, B, C, DQ) lavoppløselige typingsresultater oppnådd med undersøkende Olerup SSP® HLA typingssett og referanse One Lambda LabType SSO-sett. ACD-blodprøver ble samlet fra 95 forsøkspersoner fordelt på 3 kliniske steder i USA. DNA-ekstraksjon ble utført og det resulterende rensede DNA-et ble testet med undersøkende Olerup SSP® og referansen One Lambda LabType SSO HLA-metodene.

Det totale samsvaret i klasse I-alleler var 99,6 % (278/279; 95 % KI: (98,0 – 100 %)). For klasse II var allelesamsvaret var 100 % (94/94; 95 % KI: (96,2 – 100 %)).

Tabell 1

Totalt samsvar mellom Olerup SSP® og OneLambda SSO-resultater for klasse I og klasse II-alleler.

HLA Locus	Totalt	
	n/N	% samsvar (95 % CI)
A	95 / 95	100 (96,2 – 100 %)

Bruksanvisning
Olerup SSP® HLA-sett for typing inkludert Taq-polymerase

B	90 / 90	100 (96,0 / 100)
C	93 / 94	98.9 (94,2 / 100)
Alle Klasse I Loci	278 / 279	99,6 (98,0 / 100)
Klasse II Loci (DQ)	94 / 94	100 (96,2 – 100 %)

Studie om reproducerbarhet i settresultat.

Denne studien sammenlignet *Olerup* SSP® HLA typing-resultater i tre HLA-testlaboratorier ved bruk av et panel med 10 godt karakteriserte DNA-prøver hvis konsensusresultater er inkludert i UCLA HLA DNA Bank for HLA-klasse I (A, B og C), vanlige klasse II-alleler (DRB1*, DRB3*/DRB 4*/DRB5*, og DQB1*) og mindre hyppig undersøkte klasse II-alleler (DQA1*, DPA1* og DPB1).

Tabell 2: Sammendrag av resultater[®] av studie av reproduserbarhet i Olerup SSP HLA-sett

HLA Alleletype	Nøyaktighet av typing % n/N 95 % bekreftet Intervall (LL, UL)	
	<i>Tvetydig resultat behandlet som uoverensstemmende</i>	<i>Tvetydig resultat behandlet som ubestemt og ekskludert fra analyse</i>
<i>Klasse I Lav oppløsning (A og B kombinert)</i>	98,3 (59/60) 91,1, 100	100 (59/59) 93,9, 100
<i>Klasse I Høy oppløsning (A, B og C kombinert)</i>	94,7 (142/150) 89,8, 97,7	98,6 (142/144) 95,1, 99,8
<i>Klasse II lav oppløsning (DRB1* og DRB3* /DRB4* /DRB5*)</i>	100 (60/60) 94,0, 100	100 (60/60) 94,0, 100
<i>Klasse II høy oppløsning - Vanlige alleler (DRB1*, DRB3* /DRB4* /DRB5* og DQB1*)</i>	98,3 (118/120) 94,1, 99,8	100 (118/118) 96,9, 100
<i>Klasse I Høy oppløsning Mindre hyppig undersøkte alleler (DQA1*, DPA1* og DPB1*)</i>	83,3 (75/90) 74,0, 90,4	86,2 (75/87) 77,2, 92,7

Denne studien benyttet et panel på ti (10) DNA-prøver med godt karakteriserte HLA-typingsresultater.

Det lavere samsvaret som er observert for de sjeldnere undersøkte klasse II høyoppløselige allelene gjenspeiler større usikkerhet i «konsensusresultatene» av UCLA DNA-prøvene med tanke på den ufullstendige sekvensinformasjonen som er tilgjengelig for DQA1*, DPA1* og DPB1*-alleler. For 9 av de 11 uoverensstemmende resultatene observert under reproduserbarhetsstudien (DQA1*0505 fra Olerup SSP[®]

Bruksanvisning
Olerup SSP® HLA-sett for typing inkludert Taq-polymerase

vs. DQA1* 0501 «konsensus-typing») kom alle tre teststedene til samme resultat som indikerer konsekvent Olerup DQA1* settytelse.

BIBLIOGRAFI

1. Olerup O, Zetterquist H. *HLA-DRB1*01* subtyping by allele-specific PCR-amplification: A sensitive, specific and rapid technique. *Vev Antigener* 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. *Vev Antigener* 1992: **39**: 225-235.
3. Nåværende HLA-alleler finner du på www.ebi.ac.uk/imgt/hla

FEILSØKING

Problem	Årsak	Handling
Ingen forsterkning (verken forsterkning av internkontrollfragmentene eller spesifikke forsterkninger).	For lav mengde DNA.	Mål DNA-konsentrasjonen og se om mengden som tilsettes er riktig. RNA-kontaminering kan forårsake en spektrofotometrisk overestimert DNA-konsentrasjon. Gjenta DNA-ekstraksjonen nøye med nylig tilberedte løsninger. Vi anbefaler automatisert DNA-ekstraksjon med QIAGEN EZ1 DSP DNA Blood System.
	DNA-et inneholder PCR-hemmere, for eksempel proteiner, etanol (fra utfelling), gjenværende matriser fra fastfase DNA-reneprodukt.	Mål DNA-kvaliteten. Vi anbefaler et A260/A280-forhold på 1,6 – 2,0 ved UV-spektrofotometri. Følg leverandørens DNA-ekstraksjonsprotokoll nøyaktig. Trekk ut DNA-et på nytt. Vi anbefaler automatisert DNA-ekstraksjon med QIAGEN EZ1 DSP DNA Blood System.
	DNA-et er hentet ut av heparinisert blod.	Bruk ikke-heparinisert blod eller bruk DNA-ekstraksjonsprotokoller for heparinisert blod.
	DNA-et oppløses i en buffer som inneholder EDTA.	Gjenta DNA-ekstraksjonen og løs opp DNA-et i dH ₂ O.

Bruksanvisning
Olerup SSP® HLA-sett for typing inkludert Taq-polymerase

Problem	Årsak	Handling
Pågående: Ingen forsterkning (verken forsterkning av internkontrollfragmentene eller spesifikke forsterkninger).	Utsiktet innføring av blekemiddel i test.	Gjennomgå områder der blekemiddel muligens kan bli innført.
	Settene lagres ikke ved riktig temperatur.	Oppbevar settene ved -20 °C.
	Termisk syklisk fungerer ikke på riktig måte.	Kalibrer termosykleren og kontroller PCR-programmet. En termisk syklisk som brukes til rutinemessig PCR-SSP-typing, bør kalibreres hver 6-12 måneder.
	Utilstrekkelig kontakt mellom varmesyklens varmeblokk og SSP-typingsbrett.	Bruk riktig skuff/holder for 0,2 ml tynnveggede reaksjonsbrønner, se bruksanvisningen for termiske syklere.
Tilfeldig svikt i forsterkning (frafall).	PCR-tetninger/PCR-rørhetter som ikke er tett lukket, vil føre til fordampning og påfølgende svikt i forsterkning.	Kontroller at PCR-tetningene / alle hettene er tett lukket. <i>Olerup SSP® Compression Pad</i> (produkt nr. 103.505-06) kan påføres på toppen av de selvklebende PCR-tetningene for å forhindre fordampning under termisk sykling.
	Feil i gelelasting.	Kontroller at riktig antall brønner er lastet inn og at hver brønn inneholder omtrent samme mengde PCR-blanding.
	Bruk av ikke-kalibrerte pipetter.	Kalibrer alle pipetter rutinemessig i henhold til leverandørens anbefalinger.
	Pipetteringsfeil.	Utfør pipettering mer forsiktig.
	Master Mix og prøve-DNA har ikke blitt riktig blandet før bruk.	Bland kort ved hjelp av vorteksing før bruk. Vi anbefaler vorteksing etter hver rad.
	Ulik mengde DNA-Master Mix-blanding er tilsatt brønnene.	Utfør pipettering mer forsiktig.

Bruksanvisning
Olerup SSP® HLA-sett for typing inkludert Taq-polymerase

Problem	Årsak	Handling
Svake internkontrollfragmenter.	Urent DNA.	Mål DNA-kvaliteten. $A_{260/280}$ -forholdet skal være 1,6 – 2.0 ved UV-spektrofotometri. RNA-kontaminering kan forårsake en spektrofotometrisk overestimering av DNA-konsentrasjonen. Degradert DNA forårsaker smøring i gelebaner. Gjenta DNA-ekstraksjonen nøye med nylig tilberedte løsninger. Vi anbefaler automatisert DNA-ekstraksjon med QIAGEN EZ1 DSP DNA Blood System.
	For lav mengde DNA.	Mål DNA-konsentrasjonen og juster til 30 ng/µl eller til 15 ng/µl for DNA ekstrahert av QIAGEN EZ1 DSP DNA Blood System. RNA-kontaminering kan forårsake en spektrofotometrisk overestimering av DNA-konsentrasjonen. Degradert DNA forårsaker smøring i gelebaner. Gjenta DNA-ekstraksjonen nøye med nylig tilberedte løsninger. Vi anbefaler automatisert DNA-ekstraksjon med QIAGEN EZ1 DSP DNA Blood System.

Bruksanvisning
Olerup SSP® HLA-sett for typing inkludert Taq-polymerase

Problem	Årsak	Handling
Pågående: Svake internkontrollfragmenter.	Den termiske syklere er ikke kalibrert for høy hybridiseringstemperatur.	Kalibrer termosyklere og kontroller PCR-programmet. En termisk syklere som brukes til rutinemessig PCR-SSP-typing, bør kalibreres hver 6-12 måneder.
	PCR Master Mix har vært lagret ved +4 °C i mer enn 2 uker.	Lagre PCR Master Mix på riktig måte.
Ikke-spesifikk forsterkning (stiger eller smøring).	Bruk av overflødig DNA-prøve.	Mål DNA-konsentrasjonen og juster til 30 ng/µl eller til 15 ng/µl for DNA ekstrahert av QIAGEN EZ1 DSP DNA Blood System. Noen primerløsninger har en høyere tendens til å gi opphav til ikke-spesifikk forsterkning, se fotnoter i hver partispesifikke spesifisitetstabell.
	Urent DNA.	Alle fragmenter som er større enn internkontrollfragmentet, skal ses bort fra når resultatene tolkes. Kontroller DNA-kvaliteten. Gjenta DNA-uttrekkingen. Vi anbefaler automatisert DNA-ekstraksjon med QIAGEN EZ1 DSP DNA Blood System. Noen primerløsninger har en høyere tendens til å gi opphav til ikke-spesifikk forsterkning, se fotnoter i hver partispesifikke spesifisitetstabell.

Bruksanvisning
Olerup SSP® HLA-sett for typing inkludert Taq-polymerase

Problem	Årsak	Handling
Svakere og svakere forsterkningssignaler over tid.	Fargingsoppløsningen for etidiumbromid agarose-geleen er gammel.	Forbered ny etidiumbromidløsning for å oppnå bedre farging av agarose-geleen og bedre signaler. Primerskyene er enkle å oppdage hvis fargingen av agarosegeleen er normal.
	En av UV-lampene er ødelagt.	Kontroller UV-lysutstyret. Primerskyene er enkle å oppdage hvis UV-lyset er normalt.
	Brukte for lite DNA-prøve.	Mål DNA-konsentrasjonen og juster til 30 ng/µl eller til 15 ng/µl for DNA ekstrahert av QIAGEN EZ1 DSP DNA Blood System.
	Den termiske syklere er ikke kalibrert for høy hybridiseringstemperatur.	Kalibrer termosyklere og kontroller PCR-programmet. En termisk syklere som brukes til rutinemessig PCR-SSP-typing, bør kalibreres hver 6-12 måneder.
Merkelige forsterkningsmønstre.	Feil partispesifikk tolkningstabell/regneark er brukt.	Kontroller partinummeret til produktet som er brukt, og tolkningstabellen/regnearket som er brukt.
	Feil rekkefølge i gelelasting.	Kontroller justeringen av blandinger og gelebaner.
	Forsterkningsmønsteret inneholder en falsk positiv.	Se nedenfor.
	Forsterkningsmønsteret inneholder en falsk negativ.	Se nedenfor.

Bruksanvisning
Olerup SSP® HLA-sett for typing inkludert Taq-polymerase

Problem	Årsak	Handling
Falske positive forsterkninger.	DNA-forurensning.	Bruk hansker, pipettespisser som inneholder barrierer (filterplugg) og separate rom for pre-PCR-håndtering og post-PCR-håndtering. Sørg for nøyaktig håndtering av alle prøver, i alle trinn. Se etter kontaminering ved hjelp av <i>Olerup SSP® Wipe Test kit</i> .
	Urent DNA.	Mål DNA-kvalitet. Følg leverandørens DNA-ekstraksjonsprotokoll nøyaktig. Prøv andre DNA-ekstraksjonssystemer. Trekk ut DNA-et på nytt. Vi anbefaler automatisert DNA-ekstraksjon med QIAGEN EZ1 DSP DNA Blood System.
	Bruk av overflødig DNA-prøve.	Mål DNA-konsentrasjonen og juster til 30 ng/µl eller til 15 ng/µl for DNA ekstrahert av QIAGEN EZ1 DSP DNA Blood System.
	For lav hybridiseringstemperatur.	Kalibrer termosyklere og kontroller PCR-programmet. En termisk syklus som brukes til rutinemessig PCR-SSP-typing, bør kalibreres hver 6 - 12 måneder.
	Langt intervall mellom PCR-oppsett og starten på termisk sykling.	Det bør ikke tillates mer enn 5 minutters intervall før termisk sykling.
	Intervall mellom plassering av typingsbrett i termisk sykling og start av sykling.	Bruk forvarmet termisk sykler.

Bruksanvisning
Olerup SSP® HLA-sett for typing inkludert Taq-polymerase

Problem	Årsak	Handling
Pågående: Falske positive forsterkninger.	Bruk av overflødig etidiumbromid.	Bruk anbefalt mengde etidiumbromid.
	Feil tolkning av en gjenstand som et bestemt bånd.	Sjekk den partispesifikke tolkningstabellen / regnearket og spesifisitetstabellen for riktig båndstørrelse og fotnoter.
	Forsterkningsmønsteret inneholder en falsk positiv.	Kontroller om alle spesifikke forsterkninger er korrekte i størrelse, eller om en gjenstand (overføring, primer dimer) har blitt feiltolket som en forsterkning.
	Feil rekkefølge i gelelasting.	Kontroller justeringen av blandinger og gelebaner.
Falske negative forsterkninger.	Den termiske sykleren er ikke riktig kalibrert.	Kalibrer termosykleren og kontroller PCR-programmet. En termisk sykler som brukes til rutinemessig PCR-SSP-typing, bør kalibreres hver 6-12 måneder. Hvis testen ikke korrigeres ved recalibrering, skriver du den inn på nytt med en referanseprøve med samme spesifisitet. Hvis bekreftet negativt, kontakt kundestøtte.
	Feil rekkefølge i gelelasting.	Kontroller justeringen av blandinger og gelebaner.

Bruksanvisning
Olerup SSP® HLA-sett for typing inkludert Taq-polymerase

Problem	Årsak	Handling
Generelle geleproblemer (uklare geler og / eller smurte baner).	Degradert DNA-prøve.	Vises som flekk i gelebanene. Isoler DNA fra en ny prøve.
	Kraftig striper i tilfeldige brønner.	Ujevne suspensjoner av DNA. Forsikre deg om at prøve-DNA er oppløst før du tar alikvoten din. Vorteks fortynnet DNA-prøve.
	PCR-produktet fløt ut av brønnen.	Juster pipettespissene forsiktig og sakte med gelebrønner og dispenser.
	Elektroforesebufferen kan være for varm.	Klargjør ny TBE-buffer. Kjør med lavere spenning.
	Feil prosentandel agarose-gele har blitt brukt.	Pass på at den anbefalte 2 % agarose-geleen brukes.
	Agarose er ikke fullstendig oppløst.	Kok raskt på nytt for å smelte agarosen.
	Feil TBE-konsentrasjon.	Bruk den anbefalte konsentrasjonen på 0,5 x TBE.
	Geleene er for nystøpt.	Geleer er ikke klare til bruk før 15 minutter etter støping.
	Geleene er for gamle.	Geleer må ikke støpes for lang tid på forhånd.
	Gelekammen som brukes har for tykke spor.	Bruk tynne kammer (4 x 1 mm).
	Gelebrettet er ikke UV-gjennomsiktig.	Fjern geleen fra gelebrettet før du ser på den.
	Gelebildet er for lyst.	Overflødig bruk av etidumbromid. Kontroller kamerainnstillingene.
	Gelebildet er for mørkt.	Bruk anbefalt mengde etidumbromid. Kontroller kamerainnstillingene.

Problem	Årsak	Handling
Generelle problemer med falsk negativ forsterkning eller løp-til-løp-avhengige problemer av en slik art	Hastighetsinnstillingen er for høy.	Olerup SSP-sett valideres ved hjelp av GeneAmp 9700-sykler i 9600-modus og ProFlex med en hastighet på 3 °C/s. Høyere hastigheter enn dette kan ha innvirkning på resultatene av typingen.

VAREMERKER SOM BRUKES I DETTE DOKUMENTET/PRODUKTET

Olerup SSP® er et registrert varemerke for CareDx AB.

Qiagen™ er et varemerke for QIAGEN.

GARANTI

CareDx AB stiller garanti for sine produkter til den opprinnelige kjøperen mot defekter i materialer og utførelse ved normal bruk og påføring. CareDx ABs eneste forpliktelse i henhold til denne garantien skal være å erstatte, uten kostnad, ethvert produkt som ikke oppfyller ytelsesstandardene som er angitt på produktspesifikasjonsarket.

Denne garantien gjelder bare for produkter som er håndtert og lagret i samsvar med CareDx ABs anbefalinger, og gjelder ikke for produkter som har vært gjenstand for endring, feil bruk eller misbruk.

Alle krav i henhold til denne garantien må rettes skriftlig til CareDx AB og må ledsages av en kopi av kjøpers faktura. Denne garantien erstatter alle andre garantier, uttrykt eller underforstått, inkludert garantier om salgbarhet og egnethet for et bestemt formål. CareDx AB skal *ikke under noen omstendigheter holdes ansvarlig for tilfeldige skader eller følgeskader.*

Dette produktet kan ikke omformuleres, pakkes om eller videreselges i noen form uten skriftlig samtykke fra CareDx AB, Franzéngatan 5, SE-112 51 Stockholm, Sverige.

Håndter alle prøver som om de kan overføre sykdom. Alt arbeid skal utføres med hansker og egnet beskyttelse.

GARANTI

CareDx AB garanterer at primerne i Olerup SSP®-typingsbrettene har egenskapene som er oppgitt i regnearket, partispesifisitet og tolkningstabeller for produktvedlegget.

ADRESSER:

Produsent:

CareDx AB, Franzéngatan 5, SE-112 51 Stockholm, Sverige

Tlf: +46-8-508 939 00

Faks: +46-8-717 88 18

E-post: orders-se@caredx.com

Nettside: www.caredx.com

Distribuert av:

CareDx AB, Franzéngatan 5, SE-112 51 Stockholm, Sverige

Tlf: +46-8-508 939 00

Faks: +46-8-717 88 18

E-post: orders-se@caredx.com

Nettside: www.caredx.com

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

Tlf: 1-877-653-7871

Faks: 610-344-7989

E-post: orders-us@caredx.com

Nettside: www.caredx.com

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

Tlf: +61 8 9336 4212

E-post: orders-aus@caredx.com

Nettside: www.caredx.com

Autorisert representant:

Qarad Suisse S.A., World Trade Center, Avenue Gratta-Paille 2, 1018 Lausanne, Sveits.

CHRN: CHRN-AR-20002058

Hvis du vil ha informasjon om CareDx-distributører over hele verden, kan du kontakte CareDx AB.

1581-LBL v02 er oversatt fra engelsk master 0192-LBL v07 Olerup SSP® HLA -typingssett inkludertTaq-polymerase.

Endringer i revisjon 0192-LBL v07 sammenlignet med 0192-LBL v06:

1. Tillegg av sveitsisk autorisert representant.
2. Tillegg av GelRed til seksjon B. Materialer som er nødvendige, men ikke levert.