

# Návod k použití

## HISTO SPOT<sup>®</sup> SSO soupravy

testovací soupravy pro tkáňovou typizaci HLA alel molekulárně biologickými metodami

IVD CE 0123

**katalogové číslo 726010: HISTO SPOT<sup>®</sup> A 4D (96 testů)**  
**katalogové číslo 726020: HISTO SPOT<sup>®</sup> B 4D (96 testů)**  
**katalogové číslo 726030: HISTO SPOT<sup>®</sup> C 4D (96 testů)**  
**katalogové číslo 726040: HISTO SPOT<sup>®</sup> DRB1 4D (96 testů)**  
**katalogové číslo 726045: HISTO SPOT<sup>®</sup> DRB3/4/5 (24 testů)**  
**katalogové číslo 726050: HISTO SPOT<sup>®</sup> DQB1 4D (96 testů)**  
**katalogové číslo 726051: HISTO SPOT<sup>®</sup> DQB1 4D / DQA1 (96 testů)**  
**katalogové číslo 726060: HISTO SPOT<sup>®</sup> DPB1 (96 testů)**  
**katalogové číslo 726061: HISTO SPOT<sup>®</sup> DPB1 (24 testů)**  
**katalogové číslo 726098: HISTO SPOT<sup>®</sup> Reagent Kit (reagenční souprava)**

verze: 11 / 2013

vydáno: 2013-11

### Obsah

1.	POPIS VÝROBKU.....	2
2.	PRINCIP TESTU .....	2
3.	MATERIÁL .....	3
3.1	Reagaencie dodávané v lokus specifických typizačních soupravách HISTO SPOT <sup>®</sup> .....	3
3.2	Reagaencie dodávané v HISTO SPOT <sup>®</sup> Reagent kit.....	3
3.3	Reagaencie a vybavení potřebné, ale nedodávané v soupravách .....	3
4.	SKLADOVÁNÍ A STABILITA.....	4
5.	PRACOVNÍ POSTUP.....	4
5.1	Bezpečnostní opatření a speciální poznámky .....	4
5.2	DNA izolace .....	4
5.3	Amplifikace.....	4
5.4	Automatizovaná hybridizace v přístroji MR.SPOT <sup>®</sup> .....	6
5.4.1	Příprava reagencií.....	6
5.4.2	Příprava přístroje MR.SPOT <sup>®</sup> .....	6
5.4.3	Přenesení výsledků k interpretaci do PC .....	7
5.4.4	Interpretace výsledků .....	7
6.	VAROVÁNÍ A PŘEDBĚŽNÁ OPATŘENÍ .....	7
7.	SPECIFIKACE VÝKONNOSTNÍCH CHARAKTERISTIK.....	8
7.1	Vyhodnocení .....	8
7.2	PCR amplifikační reakce .....	9
7.3	Rozlišení testu.....	9
8.	OMEZENÍ METODY .....	10
9.	VNITŘNÍ KONTROLA KVALITY.....	10
10.	ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ .....	10
11.	OCHRANNÉ ZNÁMKY POUŽITÉ V DOKUMENTU NEBO NA VÝROBKU.....	10
12.	VYSVĚTLENÍ SYMBOLŮ NA ETIKETÁCH .....	11

## 1. POPIS VÝROBKU

Systém HISTO SPOT<sup>®</sup> SSO je in vitro diagnostický test pro tkáňovou typizaci HLA alel na molekulárně biologickém základě poskytující výsledky typizací o nízkém až středním rozlišení. Skládá se z HISTO SPOT<sup>®</sup> typizačních souprav, HISTO SPOT<sup>®</sup> reagenční soupravy, přístroje MR. SPOT<sup>®</sup> a interpretačního softwaru HISTO MATCH.

Typizační soupravy HISTO SPOT<sup>®</sup> obsahují veškeré reagensie potřebné pro PCR reakce a testovací jamky s navázanými sekvencemi specifickými oligonukleotidovými próbami pro detekci PCR produktů. HISTO SPOT<sup>®</sup> reagenční souprava obsahuje reagensie potřebné pro hybridizaci a detekci a lze ji použít se všemi typizačními soupravami. Přístroj MR.SPOT<sup>®</sup> je určen k použití se soupravami HISTO SPOT<sup>®</sup> a umožňuje zpracování 1-96 testů v jednom běhu, automatizuje celý proces hybridizace, detekce až k interpretaci výsledků. Software HISTO MATCH je nezbytný pro interpretaci výsledků.

## 2. PRINCIP TESTU

Test zahrnuje čtyři základní kroky:

- izolaci DNA
- PCR amplifikaci
- hybridizaci a detekci
- interpretaci dat

Izolace DNA je provedena z klinického materiálu použitím DNA izolačních metod zavedených v dané laboratoři nebo standardním komerčním kitem. DNA je poté amplifikována v lokus specifické PCR reakci za použití mastermixu a roztoku MgCl<sub>2</sub> – oboje je součástí diagnostické soupravy. Specifita amplifikace je zaručena sestavou biotinylovaných primerů navržených k unikátní amplifikaci daného HLA lokusu. Po PCR reakci je PCR destička obsahující biotinem značené produkty přenesena do přístroje MR.SPOT<sup>®</sup>. MR.SPOT<sup>®</sup> přidá hybridizační pufr k amplikonům a potom směs přenesena do testovacích jamek se setem navázaných specifických oligonukleotidových (SSO) prób. Tyto próby jsou buďto samostatné oligonukleotidové próby nebo kombinace dvou nebo více samostatných prób imobilizovaných na stejném místě (mozaikové próby), které byly navrženy pro přesnější identifikaci cis lokalizovaného polymorfismu.

Biotinem značené amplikony se naváží na ty SSO próby, které obsahují komplementární cílovou sekvenci a mohou být pak prokázány kolorimetrickou reakcí. Aby se zabránilo nespecifickým vazbám amplikonů na povrch testovacích jamek, MR.SPOT<sup>®</sup> před přenesením amplikonů blokuje povrch jamek blokovacím puffrem.

Po promytí zesilujícím roztokem se odstraní veškeré nenavázané amplikony. Přidá se streptavidin zásaditý fosfatázový konjugát, který se naváže na biotin značené amplikony již navázané na SSO próbách. Po dalším promývacím kroku se přidá BCIP/NBT substrát, který se zbarví modrofialově, je-li změněn alkalickou fosfatázou. Výsledkem jsou tmavé tečky na dně jamky, které jsou vyfotografovány v přístroji MR.SPOT<sup>®</sup> a obrázek je přenesen do softwaru HISTO MATCH v PC uživatele. Při analýze obrazu HISTO MATCH software určí intenzitu každé tečky na dně jamky v testu a porovná ji s intenzitou pozadí. Z těchto dat jsou pak vypočítány pozitivní a negativní reakce. Následně interpretační část programu HISTO MATCH určí na základě uspořádání hybridizačního patternu/vzoru HLA typ vzorku.

### 3. MATERIÁL

#### 3.1 Reagencie specifické k danému lokusu dodávané v typizačních soupravách HISTO SPOT®

Reagencie v každé soupravě jsou v počtu dostatečném pro 96 testů. Každá typizační souprava obsahuje:

**Testwells | X** **Testovací jamky**, samostatně balené, každý strip o 8 jamkách obsahujících imobilizované sekvence specifické oligonukleotidové (SSO) próby.

**Mastermix | X** **Mastermix**, připraven k použití, obsahuje biotinylované primery pro daný lokus, dNTPs, Taq polymerázu, reakční pufr, 0,05% azid sodný

**MgCl<sub>2</sub>** **Chlorid hořečnatý**, 6 mM, připraven k použití, obsahuje 0,001 % Proclin® 300

**X = A, B, C, DRB1, DRB3/4/5, DQB1, DQ nebo DPB1**

V každé soupravě je přibaleno CD obsahující informace k dané šarži a verzi, které musí být uloženy v databázi interpretačním softwaru HISTO MATCH (pro detailní instrukce viz Návod k použití softwaru HISTO MATCH). Pro každou soupravu rolišujeme šarže (lot) a verze (batch).

- **Souprava:** např. **HISTO SPOT A**, definuje lokus, který lze danou soupravou testovat.
- **Šarže (Lot):** např. **A084, A085** definuje uspořádání SSO prób použitých v dané soupravě a jejich specifitu. Každá šarže může obsahovat více verzí.
- **Verze (Batch):** např. **A085-1, A085-2, A085-3** definuje jak dané próby reagují v porovnání s kontrolními próbami (hodnota cut off) a definuje datum výroby a expirace stripů.

#### 3.2 Reagencie dodávané v HISTO SPOT® Reagent kit

Reagencie v každé soupravě jsou v počtu dostatečném pro 96 testů. Každá reagenční souprava obsahuje:

**BLOCKBUF** **Blokovací pufr**, připraven k použití, obsahuje 0,001% Proclin® 150 80 ml

**HYBBUF** **Hybridizační pufr**, připraven k použití, obsahuje 0,001% barvivo, 0,1% dodecyl sulfát sodný, 0,001% Proclin® 150 40 ml

**STRGWASH** **Zesilující pufr**, připraven k použití, obsahuje 0,001% barvivo, 0,1% dodecyl sulfát sodný, 0,001% Proclin® 150 100 ml

**TBSWASH** **TBS promývací pufr** (Tris pufovaný fyziologický roztok), připraven k použití, obsahuje 20 mM Tris, 0,003% barvivo, 0,001% Proclin® 150 100 ml

**SUBS** **BCIP® / NBT substrát**, připraven k použití, (5-bromo-4-chloro-3-indolyl fosfát / nitroblue tetrazolium chlorid) 36 ml

**CONJ** **Konjugát**, Streptavidin alkalická fosfatáza, KONCENTROVANÝ obsahuje < 0,1% azid sodný (musí být naředěn 1:1666 v blokovacím pufru) 40 µl

#### 3.3 Reagencie a vybavení potřebné, ale nedodávané v soupravách

- přístroj MR.SPOT®, včetně softwaru HISTO MATCH, **REF** kat.č. 726100
- pipetovací špičky k přístroji MR.SPOT®, 1000 µl **REF** kat.č. 726099 a 200 µl **REF** kat.č. 726097
- reagencie/souprava pro extrakci DNA (nelze použít vysolovací metody)

- PCR destičky s víčky nebo přelepovací fólií (HISTO SPOT PCR® Frameplates, REF kat.č. 726220, HISTO SPOT® PCR Caps, REF 726090, HISTO SPOT® PCR Foils, REF 726089)
- termální cyklér
- deionizovaná voda
- různé pipety (rozmezí 0,5 – 1000 µl) a špičky k pipetám

#### 4. SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Veškeré reagensie a složky souprav by měly být skladovány při 2...8 °C. Datum expirace je vyznačeno na etiketě na každé reagensii a je platné pro originálně uzavřené reagensie. Datum expirace uvedené na krabici odpovídá nejkratšímu datu expirace jednotlivých reagensií obsažených v soupravě. Lze vyjmout jednotlivé jamky z obalů, odlomit od stripů a zbytek uchovat k pozdějšímu použití. Testovací jamky skladované v otevřené fólii je nutno použít do 30ti dnů. Ostatní otevřené reagensie je nutné zpracovat do 3 měsíců od prvního otevření. Roztok konjugátu je nutno připravovat vždy čerstvý.

#### 5. PRACOVNÍ POSTUP

##### 5.1 Bezpečnostní opatření a speciální poznámky

Molekulárně genetické metody jsou velmi citlivé a musí být prováděny pouze dobře zaškolenými osobami, zkušenými jak v technikách PCR, tak i v testování histokompatibility. Výsledky těchto testů nesmí být použity samotně pro klinická rozhodnutí.

Je třeba dodržovat transplantační směrnice, stejně jako standardy EFI, aby se minimalizovalo nebezpečí falešné typizace, obzvláště v případech diskrepance mezi výsledky molekulárně biologických a sérologických metod.

Je nutno dodržovat zvláštní bezpečnostní opatření, aby se předešlo kontaminacím a tím i falešným výsledkům.:

- ◆ Pracujte v rukavicích (pokud je to možné, tak bez obsahu pudru).
- ◆ Používejte novou špičku na každý pipetovací krok (s integrovaným filtrem).
- ◆ Používejte oddělená pracovní místa pro jednotlivé kroky: pre-amplifikační fáze (DNA izolace a příprava reakce) a post-amplifikační fáze (hybridizace a detekce). Nejlépe ve dvou oddělených místnostech.
- ◆ Amplikony by neměly být nošeny zpět na místa, kde se připravuje PCR.
- ◆ Používejte nástroje, reagensie a přístroje samostatně pro každé pracovní místo zvláště a nepřenášejte je.

##### 5.2 DNA izolace

Připravte vzorek DNA standardní metodou pro přípravu DNA pro použití v PCR (preferovány jsou metody, které nejsou založeny na principu vysolování).

Validovaná metoda extrakce DNA:

- kolonky Qiagene

Metody úspěšně používané uživateli:

- EZ-1 / Geno M6 (Qiagend beads)
- Promega Maxwell 16
- QuatroProbe (BeeRobotics)

Přítomnost heparinu potenciálně blokuje PCR reakci, používejte tedy EDTA nebo citrátovou krev. Vzorek DNA by měl mít koncentraci přibližně 15-30 ng/µl a indexy čistoty:

- Poměr extinkcí  $OD_{260}/OD_{280}$  mezi 1,5 a 2,0. Vyšší hodnoty znamenají přítomnost RNA, nižší kontaminaci proteiny.
- Poměr extinkcí  $OD_{260}/OD_{230} > 1,8$ . Nižší hodnota indikuje možné znečištění uhlovodíky, solemi nebo organickými rozpouštědly.

### 5.3 Amplifikace

Použijte pro amplifikaci PCR destičky s okrajem (skirted), neboť musí být následně přidržovány sponou za okraj v přístroji MR.SPOT®. HISTO SPOT PCR plates jsou validovány pro amplifikaci, destičky od osatních výrobců musí být validovány uživatelem. Pro každý vzorek k amplifikaci pipetujte do mikrozkušavky následující množství:

**10 µl** Mastermix  
**5 µl** MgCl<sub>2</sub>  
**5 µl** vzorek DNA (15 ng/µl)

Celkový objem amplifikační reakce je 20 µl.

Při přípravě premixu: počet vzorků + 2 x 10 µl Mastermixu } použijte 15 µl  
 počet vzorků + 2 x 5 µl MgCl<sub>2</sub> } pro každý vzorek

**Poznámka:** Je důležité, aby koncentrace DNA byla v rozmezí 15-30ng/µl. Vyšší koncentrace může vést s falešně pozitivní reakci prób a nižší koncentrace může způsobit chybu amplifikace.

Pokud provádíte **negativní kontrolu**, připravte PCR reakci s destilovanou vodou místo DNA.

Uzavřete amplifikační mikrozkušavky víčky, nebo přelepte fólií, vložte do cykléru a amplifikujte s následujícím programem:

krok programu	čas	teplota	počet cyklů
první denaturace	2 min	96 °C	1 cyklus
denaturace	15 s	96 °C	10 cyklů
annealing+ extenze	60 s	65 °C	
denaturace	10 s	96 °C	20 cyklů
annealing	50 s	61 °C	
extenze	30 s	72 °C	
podržení	∞	22 °C	

Nastavení je stejné pro všechny cykléry, ale celkový čas se bude měnit podle rychlosti změn teplot (ramping speed) u jednotlivých typů cyklérů.

Následující cykléry byly validovány pro použití s HISTO SPOT SSO:

Applied Biosystems: PE 9600, PE 9700 (použijte ramp rate of PE 9600), Veriti™

Biorad: PTC 100 / PTC 200, Mycycler

Eppendorf: Mastercycler EP Gradient S

V ostatních cyklérech musí uživatel provést validaci sám, všeobecně doporučujeme používat Ramp rate 1-2° C/sec.

Po ukončení amplifikace mohou být vzorky testovány buď okamžitě nebo skladovány při 2...8 °C po dobu až pěti dnů.

Není nutné provádět po amplifikaci kontrolu produktů na gelu. V mnoha případech to nepřinese žádnou informaci, neboť prožky jsou velmi slabé a nemusí být na gelu patrné. Pokud přesto chcete provést gelovou elektroforézu, neměli byste odebrat více než 2-3 µl amplikonů.

Velikost amplikonů se mění u jednotlivých souprav, v každé soupravě jsou k dispozici na přiloženém CD (hit table v excelovém formátu, druhý list Notes/poznámky).

## 5.4 Automatizovaná hybridizace v přístroji MR.SPOT®

### 5.4.1 Příprava reagensí

Vyjměte reagensie HISTO SPOT® a testovací jamky HISTO SPOT® z lednice a nechte je vytemperovat na pokojovou teplotu.

Někdy mohou být pozorovatelné krystalky soli v hybridizačním pufru a/nebo v zesilovacím pufru. Pokud krystalky zpozorujete, zahřejte reagensie na 30 °C a krystalky se rozpustí. Zahřívejte celý obsah lahvičky, ne část!

Konjugát je nutno naředit v poměru 1:1666 v blokovacím pufru. Roztok konjugátu je nutno vždy připravit čerstvý pro každé testování.

### Konjugát musí být vortexován a stočen před každou přípravou roztoku!

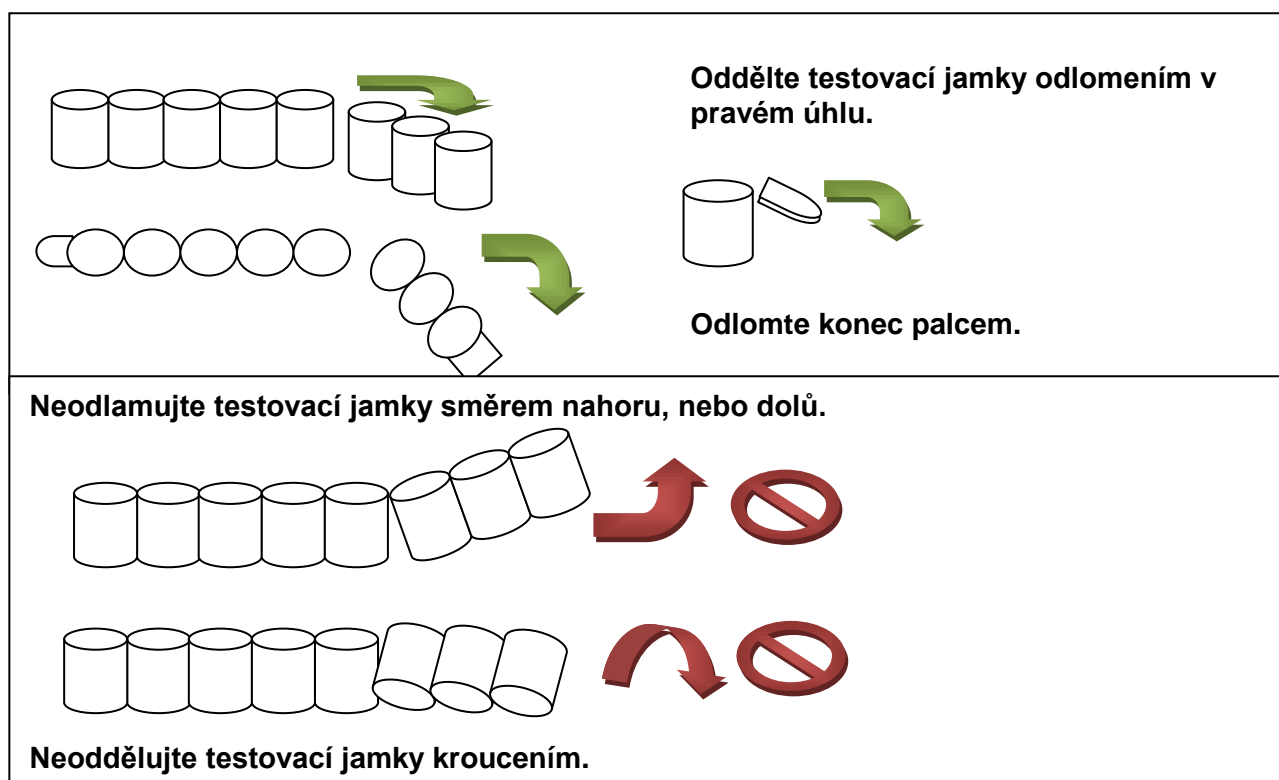
Potřebné množství reagensí se bude měnit podle počtu zpracovávaných vzorků. Potřebná množství se objeví na obrazovce MR.SPOT® po zadání počtu stripů. Naplňte požadovaná množství reagensí do odpovídajících označených zásobníků.

Vložte testovací jamky a PCR destičku do patřičných bloků přístroje MR.SPOT®.

Pozor na správnou orientaci PCR destičky.

Prosíme, ujistěte se, že není žádná nečistota nebo zbytky plastu v držáku reagenčních jamek, neboť toto by mohlo narušit přenos tepla při hybridizaci.

Pokud potřebujeme do běhu méně než 8 testů, mohou být testovací stripy rozděleny jednotlivé jamky podle obrázku 1. Pokud používáte jednotlivé jamky, dbejte na to, aby byly dobře umístěny v držáku reagenčních jamek a nebyly zkroucené jedna vůči druhé.



**Obrázek 1:** oddělení jednotlivých testovacích jamek



## 6. VAROVÁNÍ A PŘEDBĚŽNÁ OPATŘENÍ

Soupravy HISTO SPOT<sup>®</sup> jsou určeny pouze pro in vitro diagnostické použití a měly by být používány pouze dobře zaškolenými a kvalifikovanými osobami. Veškerá práce by měla probíhat za dodržování Standardů laboratorní práce.

S biologickým materiálem použitým k extrakci DNA (t.j. krví nebo lidskou tkání) je nutno zacházet jako s potenciálně infekčním materiálem. Při manipulaci s biologickým materiálem doporučujeme odpovídající opatření (nepipetujte ústy, noste jednorázové rukavice při manipulaci se vzorkem i při provádění testu, dezinfikujte si ruce po provedení testu).

Biologický materiál je třeba před likvidací inaktivovat (např. v autoklávu). Stejně tak jednorázové pomůcky by měly být po použití autoklávovány nebo spáleny.

Vylitý potenciálně infekční materiál by měl být ihned odstraněn savým papírovým obrouskem a kontaminovaná oblast očištěna standardním desinfekčním prostředkem nebo 70% alkoholem.

Materiál použitý na úklid včetně rukavic je nutno inaktivovat před vyhozením (např. v autoklávu).

Blokovací pufr, hybridizační pufr, zesilující roztok a TBS promývací pufr obsahují ProClin<sup>®</sup>150 a roztok chloridu hořečnatého obsahuje ProClin<sup>®</sup>300. Tyto regencie obsahují pouze 0,001% konzervantu, přesto zabraňte kontaktu s kůží a sliznicemi.

Mastermix a konjugát obsahují jako konzervační činidlo azid sodný. Koncentrace v reagentech je < 0,1% azidu sodného a tato koncentrace není považována za nebezpečnou. Přesto se vyhněte kontaktu s kůží a sliznicemi. Azid sodný může reagovat s olovem a mosazí v instalacích odpadů a vytvářet výbušné azidy kovů. Při vylévání roztoků obsahujících azid sodný splachujte tyto do laboratorních odpadů velkým množstvím vody.

Veškerá práce s reagenty by měla být prováděna náležitou opatrností. Požívejte ochranu očí, laboratorní pláště a jednorázové rukavice. Vyhněte se kontaktu materiálů s kůží, sliznicemi a okem. Pokud dojde ke kontaktu, oplachujte velkým množstvím vody. Při nedostatečném ošetření může dojít k popáleninám.

Při rozlití reagentů je nejprve naředit vodou a pak utírejte. Substrát nesmí přijít do styku s kovy a oxidačními činidly.

Likvidace vzorků, nepoužitých reagentů a odpadu musí být ve shodě s příslušnými místními nařízeními.

Zabraňte mikrobiální kontaminaci vzorků při odebírání aliquotů ze zásobních lahví. Doporučuje se používat sterilní jednorázové pipety a pitovací špičky. Nepoužívejte reagenty s patrným zákalem nebo mikrobiální kontaminací.

**Bezpečnostní listy (Material Safety Data Sheets (MSDS))** jsou k dispozici ke stažení na:  
[www.bag-healthcare.com](http://www.bag-healthcare.com)

## 7. SPECIFIKACE VÝKONNOSTNÍCH CHARAKTERISTIK

### 7.1 Vyhodnocení

Vyhodnocení souprav HISTO SPOT<sup>®</sup> SSO bylo provedeno s min. 180 vzorky. Výsledky byly porovnány s dalšími typizačními metodami (t.j. SSP, sekvenování). Nebyly pozorovány žádné rozdíly mezi jednotlivými metodami.

Pro každou šarži je každá próba verifikována pomocí referenčních DNA vzorků.



## 7.2 PCR amplifikační reakce

Alely amplifikované každou HISTO SPOT<sup>®</sup> SSO soupravou, použitá HLA nomenklatura a exony, které jsou amplifikovány, jsou popsány v odpovídajících informacích specifických k příslušné šarži. Tyto informace jsou dostupné na CD přiloženém ke každé soupravě.

## 7.3 Rozlišení testu

HISTO SPOT<sup>®</sup> SSO typizační systém je navržen tak, aby produkoval jednoznačné výsledky přinejmeší na úrovni skupiny alel (t.j. dvou číslic).

Různá kombinace alel napříč alelickými skupinami může mít také stejný pattern (vzor) prób a v tomto případě jsou tedy interpretovány jako nejednoznačné ambikvitní.

**HISTO SPOT 4D** typizační kity produkují výsledky na úrovni alel (čtyři číslice) pokud je použit filtr pro běžné alely. Kritéria tohoto filtru jsou: frekvence alel  $\geq 0,5\%$  alespoň v jedné populaci s rozsahem větším než 1000 vzorků podle databáze [www.allelefrequencies.net](http://www.allelefrequencies.net).

## 8. OMEZENÍ METODY

Protože PCR je vysoce citlivá na kvalitu a koncentraci DNA, lze použít pouze vzorky, které mají koncentraci 15 -30 ng/μl a indexy čistoty: poměr extinkcí OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> mezi 1,5 a 2,0 a poměr extinkcí OD<sub>260</sub>/OD<sub>230</sub> >1,8.

Je třeba věnovat maximální pozornost zabránění kontaminace souprav a dalšího laboratorního materiálu a vybavení amplikony DNA. Pravidelné stěrové testy (např. BAG WipeTest, kat. č. 7091) a negativní kontroly v každém testu jsou doporučeny.

Hybridizace je velmi citlivá na přesné dodržení teploty. Proto je nezbytné používat soupravy HISTO SPOT<sup>®</sup> SSO pouze v přístroji MR.SPOT<sup>®</sup>, aby byly zajištěny správné inkubační teploty a časy.

Veškeré přístroje a nástroje (pipety, cykléry, termobloky, přístroj MR.SPOT<sup>®</sup>) musí být kalibrovány podle pokynů výrobce. Přesnost a teplotní uniformita cyklérů může být zkontrolována pomocí testu BAG CyclorCheck (kat. č. 7104).

## 9. VNITŘNÍ KONTROLA KVALITY

Vnitřní kontrola kvality nových šarží HISTO SPOT<sup>®</sup> SSO souprav může být prováděna pomocí kombinace DNA vzorků o známém HLA typu.

Vnitřní pozitivní kontrola je zahrnuta v každé testovací jamce a umožňuje kontrolu správné amplifikace a hybridizace.

Doporučuje se provádění negativních kontrol k průkazu možné kontaminace. Použijte PCR reakci bez DNA a následnou hybridizaci jako negativní kontrolu.

## 10. ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ

projev	možná závada/y	možné/á řešení
přístroj nefunguje, nebo funguje špatně	mnohé	konzultujte manuál k MR.SPOT <sup>®</sup>
chybové hlášení při přenosu dat	chyba při přenosu dat	manuálně přeneste data na USB flash disk
žádné výsledky	chyba v analýze obrazu	proved'te manuální gridování
v jamkách nejsou žádné tečky	chyba v PCR, nebyl přidán Master mix	zopakujte celý test a zkontrolujte PCR produkt na gelu
pouze kontrolní tečky jsou pozitivní	chyba v amplifikaci, nebyla přidána DNA	zopakujte celý test a zkontrolujte PCR produkt na gelu
falešně pozitivní próby	příliš mnoho DNA, nebo příliš vysoká koncentrace konjugátu (nebyl stočen před použitím)	zkontrolujte koncentraci DNA, stočte konjugát
výpadek jednoho exonu	koncentrace DNA příliš vysoká, DNA degradovaná	zkontrolujte koncentraci DNA, dejte DNA na gel
žádné výsledky nebo nerozlišitelné výsledky v důsledku slabého signálu	chyba v ředění konjugátu, špatná amplifikace, chyba přístroje	zopakujte test, zkontrolujte teplotu hybridizace v přístroji




## 11. OCHRANNÉ ZNÁMKY POUŽITÉ V TOMTO DOKUMENTU A NA VÝROBCÍCH:

Proclin<sup>®</sup> je ochranná známka společnosti Rohm and Haas

BCIP<sup>®</sup> je ochranná známka společnosti Sigma Aldrich Co.

Veriti<sup>™</sup> je ochranná známka společnosti Applied Biosystems.

**12. VYSVĚTLENÍ SYMBOLŮ NA ETIKETÁCH**

<b>IVD</b>	Pouze pro IN VITRO použití
	Teplota skladování
<b>LOT</b>	Číslo šarže
	Spotřebujte do
<b>REF</b>	Katalogové číslo
	Viz návod k použití
<b>Mastermix   A</b>	Mastermix pro amplifikaci HLA-A lokusu
<b>Mastermix   B</b>	Mastermix pro amplifikaci HLA-B lokusu
<b>Mastermix   C</b>	Mastermix pro amplifikaci HLA-C lokusu
<b>Mastermix   DRB1</b>	Mastermix pro amplifikaci HLA-DRB1 lokusu
<b>Mastermix   DQB1</b>	Mastermix pro amplifikaci HLA-DQB1 lokusu,
<b>Mastermix   DQ</b>	Mastermix pro amplifikaci HLA-DQB1 a HLA-DQA1 lokusů
<b>Mastermix   DPB1</b>	Mastermix pro amplifikaci HLA-DPB1 lokusu
<b>Mastermix   DRB3/4/5</b>	Mastermix pro amplifikaci HLA-DPB3/4/5 lokusů
<b>Testwells   A</b>	Testovací jamky s navázanými próbami k typizaci HLA-A lokusu
<b>Testwells   B</b>	Testovací jamky s navázanými próbami k typizaci HLA-B lokusu
<b>Testwells   C</b>	Testovací jamky s navázanými próbami k typizaci HLA-C lokusu
<b>Testwells   DRB1</b>	Testovací jamky s navázanými próbami k typizaci HLA-DRB1 lokusu
<b>Testwells   DQB1</b>	Testovací jamky s navázanými próbami k typizaci HLA-DQB1 lokusu
<b>Testwells   DQ</b>	Testovací jamky s navázanými próbami k typizaci HLA-DQB1 a HLA-DQA1 lokusů
<b>Testwells   DPB1</b>	Testovací jamky s navázanými próbami k typizaci HLA-DPB1 lokusu
<b>Testwells   DRB3/4/5</b>	Testovací jamky s navázanými próbami k typizaci HLA-DRB3/4/5 lokusů
<b>MgCl2</b>	Roztok chloridu hořečnatého
<b>BLOCKBUF</b>	Blokovací pufr
<b>HYBBUF</b>	Hybridizační pufr
<b>STRGWASH</b>	Zesilující roztok
<b>TBS</b>	TRIS pufrovaný fyziologický roztok
<b>SUBS</b>	Substrát
<b>CONJ</b>	Streptavidin alkalická fosfatáza-konjugát

**Návody k použití v jiných jazycích můžete nalézt na:**

**<http://www.bag-healthcare.com/en/Diagnostika/Downloads/>**

BAG Health Care GmbH, organizační složka, Na Hlínách 17, 182 00 Praha 8, tel.: 286 840 508,  
fax: 286 840 510, info@bag-healthcare.cz, www.bag-healthcare.cz