

GenVInSet

HLA B27v5

Instrucciones de Uso

Kit para la detección de alelos
del grupo HLA-B*27

Para Diagnóstico In Vitro

Referencia GVS-B2705-48 (48 tests)
GVS-B2705-24 (24 tests)

Conservar de -18 a -30°C

CE 2797

Rev03/08-04-2021



Blackhills Diagnostic Resources, S.L.U.
Camino del Pílon 86, Casa 7 Local. 50011- Zaragoza - Spain
www.bdrdiagnostics.com

Indice

Uso	3
Resumen y explicación	4
Principios del procedimiento	5
Contenido del kit	6
Almacenamiento del kit	7
Material requerido pero no suministrado	8
Recolección y preparación de muestras	9
Procedimiento de uso	10
Resultados	12
Control de calidad	13
Datos específicos de funcionamiento	14
Alelos de la familia HLA-B*27 detectados	15
Limitaciones del procedimiento	19
Guía de solución de problemas	20
Bibliografía	22
Aviso al comprador	23
Cambios respecto a la versión 01	24
Símbolos de las etiquetas	25

Uso

GenVInSet® HLA B27v5 es un kit para la determinación de alelos del grupo HLA-B*27 mediante PCR en tiempo real con sondas Taqman®.

Resumen y explicación

El Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC, Major Histocompatibility Complex) es la región génica que contiene los loci más polimórficos del genoma humano, implicados en mecanismos de presentación antigénica y que, por tanto, definen la respuesta inmunitaria en general.

Dentro del MHC, la familia alélica HLA-B*27 forma parte del locus HLA-B y presenta una frecuencia de entre un 3 y 8% en la población caucásica. A pesar de su baja frecuencia, el interés de esta familia alélica reside en su relación con distintas enfermedades reumáticas conocidas conjuntamente como espondiloartritis, entre las que cabe destacar la Espondilitis Anquilosante (EA).

Alrededor del 90% de los pacientes con EA son HLA-B*27 positivos. Otras enfermedades autoinmunes relacionadas son la artritis reumatoidea juvenil (80% de los pacientes), y el síndrome de Reiter o artritis reactiva (50-80%).

El HLA-B*27 también está presente en el 50% de los pacientes que sufren espondilitis junto con otras patologías tales como enfermedad inflamatoria intestinal o psoriasis vulgar. A pesar de que el alelo HLA-B*27 no es la causa de dichas patologías, su prevalencia es mayor en pacientes afectados.

4

En los individuos HLA-B*27 positivos, el antígeno (proteína estructural) está presente en la membrana de todas las células nucleadas del organismo, incluyendo los leucocitos.

Si un paciente HLA-B*27 presenta síntomas como dolor crónico, inflamación y/o cambios óseos degenerativos (visibles mediante radiología), es muy probable que sufra EA, síndrome de Reiter u otra patología autoinmune asociada a este antígeno. La probabilidad aumenta en pacientes varones jóvenes que empiecen a mostrar síntomas antes de los 40 años.

La presencia del antígeno HLA-B*27 también está asociada a otras patologías autoinmunes como la uveítis anterior aguda aislada, las espondiloartropatías idiopáticas y la sinovitis enteropática.

La ausencia del alelo HLA-B*27 no descarta por completo la patología autoinmune, ya que el 10% de los pacientes con EA y el 40-50% de los pacientes con síndrome de Reiter son HLA-B*27 negativos.

Por otro lado, si un paciente no muestra ninguno de los síntomas asociados, la detección del antígeno HLA-B*27 por sí sola no permite determinar la presencia de una enfermedad autoinmune. Tampoco permite predecir su progresión o pronóstico.

Principios del procedimiento

El método de detección empleado por Genvinset® está basado en la tecnología de PCR a Tiempo Real, monitorizada con sondas TaqMan®.

El kit Genvinset® HLA B27v5 permite la detección de todos los alelos pertenecientes a la familia HLA-B*27(*) y de un gen control (B-Globina), empleado para verificar el correcto funcionamiento del ensayo.

Cada par de primers es complementario a dos secuencias de ADN, situadas en cis. Esto hace que se trate de una técnica de alta resolución, con una alta sensibilidad, especificidad y reproducibilidad.

(*) Ver 'Limitaciones del Procedimiento'.

Contenido del kit

GVS-B2705-48 (48 tests)

- GVS-B27v5-PM: 2 viales x 220 µL Primer Mix (PM)
- GVS-B27v5-MM: 2 x 276 µL Master Mix (MM)
- GVS-B27v5-C+: 1 vial x 10 µL Positive Control (C+)
- GVS-RB: 1 x 100 µL de Reaction Blank (RB)

GVS-B2705-24 (24 tests)

- GVS-B27v5-PM: 1 vial x 220 µL Primer Mix (PM)
- GVS-B27v5-MM: 1 vial x 276 µL Master Mix (MM)
- GVS-B27v5-C+: 1 vial x 10 µL Positive Control (C+)
- GVS-RB: 1 vial x 100 µL de Reaction Blank (RB)

Almacenamiento del kit

Todos los reactivos del kit deben ser almacenados de -18°C a -30°C y son estables a esta temperatura hasta la fecha de caducidad indicada en el envase. No realizar más de 3 ciclos de congelación/descongelación a los viales de Primer Mix (GVS-B27v5-PM) y de Master Mix (GVS-B27v5-MM) ya que podría reducir la sensibilidad del ensayo y alterar los resultados.

Debido a la naturaleza fotosensible del reactivo, evitar la exposición continuada a la luz.

Material requerido pero no suministrado

General

- Guantes
- Bata

Consumibles

- Puntas con filtro (P200, P100 y P10)
- Tubos 1,5 mL autoclavados
- Fungible específico de instrumento q-PCR (en caso de utilizar RotorGene® Q, sólo se admiten tubos de 0,1mL)

Equipamiento

- Instrumento q-PCR, con canales de detección para FAM y HEX. Los siguientes equipos han sido validados:
 - Rotor-Gene® Q, Qiagen®
 - DTLite, DNA Technologies
 - QTower, Analytic Jena
 - 7500 Real-Time PCR System, Applied Biosystems™
 - QuantStudio 6, Applied Biosystems™
- Agitador vortical
- Pipetas (P200, P100 y P10)

Recolección y preparación de las muestras

Esta prueba solamente debe realizarse con muestras de sangre completa tratadas con los anticoagulantes EDTA o citrato. La heparina puede interferir con la PCR y no debe utilizarse en este procedimiento.

La técnica es compatible con diversos sistemas convencionales de extracción de ADN. Se recomienda que el método de extracción de ADN utilizado, sea evaluado con el kit Genvinset® HLA B27v5 antes de utilizar los resultados con fines diagnósticos.

i Precaución

Todas las muestras biológicas y de sangre deben tratarse como potencialmente infecciosas. Al manipularlas, siga las precauciones básicas o "universales". Cualquier manipulación de las muestras debe efectuarse con guantes y protección adecuada.

Procedimiento de uso

A) Preparación de la PCR

i

Precauciones

- Descongelar todos los componentes del kit antes de comenzar el ensayo, mezclar y centrifugar.
- Trabajar en hielo o sobre un bloque frío.
- La PCR se debe montar en la zona pre-PCR.
- Utilizar sólo puntas con filtro y tubos de 1,5 mL autoclavados.
- Utilizar siempre guantes y bata.
- En cada sesión se recomienda testar el control de contaminación (Reaction Blank) y el control B*27 positivo (Positive Control), ambos incluidos en el kit. También se recomienda testar una muestra B*27 negativa.

10

1. Sacar las muestras del congelador. Vortear (o golpear con el dedo).
2. Preparar la siguiente mezcla para n+1 muestras:

	Vol. por muestra (µL)
Master Mix	10
Primer Mix	8

3. Pipetear 18 µL de esta mezcla en los pocillos de PCR. A continuación, añadir 2 µL de la muestra de ADN, control positivo o Reaction Blank.
4. Sellar los tubos o la placa con la cubierta adecuada y centrifugar brevemente para asegurar que todo el volumen se deposite en el fondo de pocillo.
5. Introducir la placa en el termociclador y establecer el siguiente programa de amplificación.

B) Configuración del termociclador

1. Establecer el siguiente programa de amplificación:

	Número de ciclos	Temperatura (°C)	Tiempo (mm:ss)	Rampa (%)	Análisis
Desnaturalización	1	95	05:00	100	X
Ciclos	40	95	00:15	100	X
		64	01:00	100	Sencillo
Enfriamiento	1	15	∞	100	X

2. Configurar los canales de lectura.

La fluorescencia emitida debe leerse en los canales FAM (495-520 nm) y HEX (535-554 nm). En todos los pocillos deben detectarse dichas fluorescencias (reacción bplex).

NOTA - Establecer la siguiente configuración en el termociclador Rotor-Gene® Q:

- a. Abrir el software Rotor-Gene® Q y en la ventana "New Run", seleccionar la pestaña "Advanced" y hacer clic en "New".
- b. Seleccionar el formato de rotor "72-Well Rotor" y activar la opción "Locking Ring Attached". A continuación clicar en "Next".
- c. Fijar el volumen de reacción en 20 µL. Si se desea, determinar el nombre del operario y las notas. Hacer clic en "Next".
- d. Hacer clic en "Edit Profile" y configurar el programa de amplificación tal como se indica en el apartado anterior. Seleccionando el paso de 60 segundos a 64 °C, hacer clic en "Acquiring to Cycling A". Seleccionar los canales "Green" y "Yellow". Seguidamente clicar en "OK" para aceptar y cerrar la ventana.
- e. Hacer clic en "Gain Optimisation". En el menú desplegable "Channel Settings" seleccionar "Acquiring Channels" y clicar en "Add". En la ventana "Auto-Gain Optimisation Channel Settings", establecer los siguientes parámetros para cada canal ("Green" y "Yellow"):
 - Tube position = 1
 - Target Sample Range: 5 FI up to 10 FI
 - Acceptable Gain Range: -10 to 10
- f. Activar la opción "Perform Optimisation Before 1st Acquisition" y clicar en "Close".
- g. Clicar en "Next" y "Start Run".

Resultados

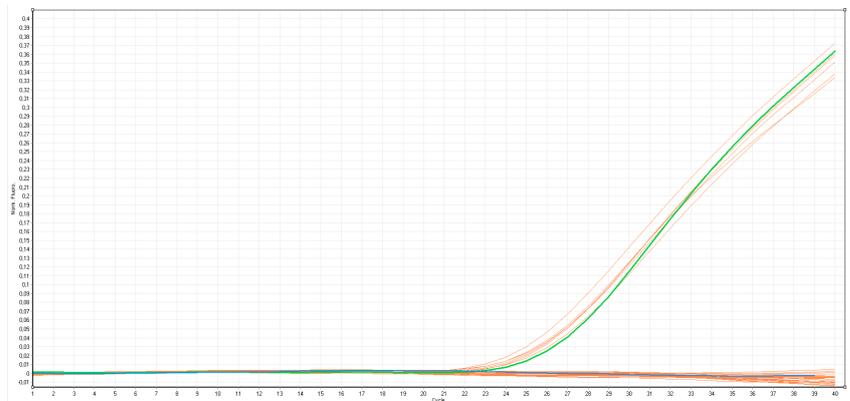
El kit Genvinset® HLA B27v5 constituye una técnica cualitativa que permite la determinación de la presencia o ausencia de alelos de la familia HLA-B*27.

No es necesaria la utilización de ninguna referencia pasiva.

Los resultados obtenidos con el presente kit deben interpretarse de la siguiente manera:

Resultados de B*27

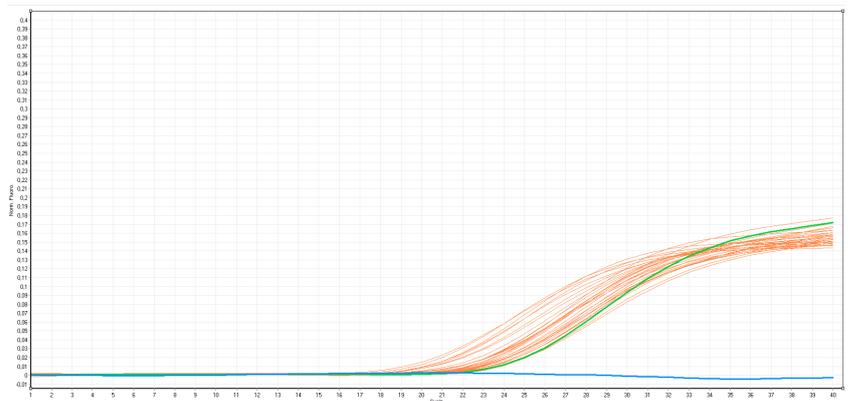
Seleccionando el canal de lectura "Green" (FAM) en la gráfica de amplificación pueden observarse resultados similares a los siguientes:



Las muestras que generen una curva de amplificación en el canal "Green" (FAM) deberán considerarse B*27 positivas. Podrán identificarse con un valor llamado "Crossing Point" (Cp), que corresponde al ciclo en el que la fluorescencia es detectada.

Resultados de β -globina

Al seleccionar el canal de lectura "Yellow" (HEX/VIC), en el gráfico de amplificación, pueden observarse resultados similares a los siguientes:



Las muestras que generan una curva de amplificación en el canal "Yellow" (HEX/VIC) deben considerarse positivas para el control interno (β -Globina).

Control de Calidad

Debido a la naturaleza cualitativa de este test, no será necesario realizar una calibración.

Se recomienda llevar a cabo un control de contaminación sustituyendo el ADN por el control de contaminación (Reaction Blank) y por el control positivo (muestra con tipaje HLA-B*27) suministrados con el kit.

Deben cumplirse los siguientes criterios para que el ensayo se considere válido:

- El control de contaminación debe reportar resultados negativos tanto para el gen B*27 como para la β -Globina. Se considerarán como resultado negativo valores de $C_p > 35$. Valores de $C_p < 35$ indicarán una contaminación, por lo que toda la sesión deberá quedar invalidada.
- Una muestra control positivo debe proporcionar resultados positivos tanto para B*27 como para β -globina.
- Las muestras de ADN deben reportar siempre resultado positivo para la β -globina ($C_p < 35$).
- Las muestras de ADN que generen un $C_p > 35$ para la β -globina y/o para B*27 deben ser consideradas como dudosas y deben ser retestadas realizando una nueva extracción del ADN.

El ensayo se debe llevar a cabo según las recomendaciones de este protocolo, así como según otros procedimientos de control de calidad que cumplen las especificaciones locales, estatales, federales y/o de las agencias certificadoras.

Datos específicos de funcionamiento

1. Especificidad Analítica

La revisión de los primers y sondas dentro de las bases de datos más comunes (IMGT-HLA) ha revelado la ausencia de uniones no específicas. No se ha informado ningún caso de reactividad cruzada a partir de ADN genómico.

2. Sensibilidad Analítica

Una vez realizado un análisis de diluciones, utilizando diluciones seriadas 1:4 de dos muestras de ADN, una de ellas B*27 positiva, y otra B*27 negativa, obtenidas mediante sistema de extracción convencional, a una concentración inicial de 35,7 y 13,7 ng/μL respectivamente, se ha obtenido el siguiente dato en cuanto a sensibilidad analítica en la detección de los alelos del grupo HLA-B*27:

- Muestra de ADN obtenido por sistema de extracción convencional:
Límite de detección = 0,14 ng/μL (*)

(*) Cp < 35

3. Sensibilidad y especificidad diagnóstica

En tres estudios de muestras de ADN genómico humano, realizados en un laboratorio interno y en dos externos, se analizaron 159 muestras con un tipaje previo obtenido con la metodología SSO (Sequencing Specific Oligonucleotides).

De las 159 muestras analizadas se pudieron validar todas (amplificación positiva del gen control β -globina), de las que 26 resultaron B*27 positivas.

Genvinset [®] HLA B27v5			
	Muestras	B*27+	B*27-
SSO	B*27 +	26	0
	B*27 -	0	133

Existe un 100% de concordancia de los resultados obtenidos con el kit Genvinset[®] HLA B27v5 y la información previa de las muestras tipadas mediante SSO.

Alelos de la familia HLA-B*27 (IMGT-HLA 3.43.0) detectados por Genvinset® HLA B27v5

15

<i>B*27:01</i>	B*27:05:02:09	B*27:05:16	B*27:05:43
<i>B*27:02:01:01</i>	B*27:05:02:10	B*27:05:17	B*27:05:44
B*27:02:01:02	B*27:05:02:11	B*27:05:18:01	B*27:05:45
B*27:02:01:03	B*27:05:02:12	B*27:05:18:02	B*27:05:46
B*27:02:01:04	B*27:05:02:13	B*27:05:19	B*27:05:47
B*27:02:01:05	B*27:05:02:14	B*27:05:20	B*27:05:48
B*27:02:01:06	B*27:05:02:15	<u>B*27:05:21</u>	B*27:05:49
B*27:02:02	B*27:05:02:16	B*27:05:22	B*27:05:50
B*27:02:03	B*27:05:02:17	B*27:05:24	B*27:05:51
B*27:02:04	B*27:05:02:18	<u>B*27:05:25</u>	B*27:05:52
B*27:02:05	B*27:05:02:19	B*27:05:26	B*27:05:53
B*27:02:06	B*27:05:02:20	B*27:05:27	<i>B*27:06:01:01</i>
<i>B*27:03</i>	B*27:05:02:21	B*27:05:28	B*27:06:01:02
<i>B*27:04:01</i>	B*27:05:02:22	B*27:05:29	<i>B*27:07:01</i>
B*27:04:02	B*27:05:03	B*27:05:30	B*27:07:02
B*27:04:03	B*27:05:04	B*27:05:31	B*27:07:03
B*27:04:04	B*27:05:05	B*27:05:32	B*27:07:04
B*27:04:05	B*27:05:06	B*27:05:33	B*27:07:05
B*27:04:06	B*27:05:07	B*27:05:34	B*27:07:06
<i>B*27:05:02:01</i>	B*27:05:08	B*27:05:35	<i>B*27:08</i>
B*27:05:02:02	<u>B*27:05:09</u>	B*27:05:36	B*27:09
B*27:05:02:03	B*27:05:10	B*27:05:37	B*27:10
B*27:05:02:04Q	B*27:05:11	B*27:05:38	B*27:11
B*27:05:02:05	B*27:05:12	<u>B*27:05:39</u>	B*27:12:01:01
B*27:05:02:06	B*27:05:13	B*27:05:40	B*27:12:01:02
B*27:05:02:07	B*27:05:14	B*27:05:41	B*27:12:01:03
B*27:05:02:08	B*27:05:15	B*27:05:42	B*27:13:01

Continúa en la siguiente página >

• Alelo Detectado

• Alelo no testado. Posible amplificación de baja señal

• ***Alelos CWD marcados en negrita y cursiva***

Alelos de la familia HLA-B*27 (IMGT-HLA 3.43.0) detectados por Genvinset® HLA B27v5

B*27:13:02	B*27:40	B*27:66N	<u>B*27:91</u>
B*27:14	B*27:41	<u>B*27:67</u>	<u>B*27:93</u>
B*27:15	B*27:42	B*27:68	B*27:94N
B*27:16	B*27:43	B*27:69	B*27:95
B*27:17	B*27:44	B*27:70	B*27:96:01
B*27:18	B*27:45	B*27:71	B*27:96:02
B*27:19:01:01	B*27:46	B*27:72	B*27:97
B*27:19:01:02	B*27:47	B*27:73	B*27:98
B*27:20	B*27:48	B*27:74	B*27:99
B*27:21:01	B*27:49	B*27:76	B*27:100
B*27:21:02	B*27:50:01	B*27:77	B*27:101
B*27:24	B*27:50:02	B*27:78	B*27:102
B*27:25	B*27:51	B*27:79	B*27:103
B*27:26	<u>B*27:52</u>	B*27:80	B*27:104
B*27:27	B*27:53	B*27:81	B*27:105
B*27:28	B*27:54	B*27:82	B*27:106
B*27:29	B*27:55	B*27:83	B*27:107
B*27:30	B*27:56	B*27:84	B*27:108
B*27:31	B*27:57	<u>B*27:85</u>	<u>B*27:109</u>
B*27:32	B*27:58	B*27:86	B*27:110
B*27:33	B*27:59N	B*27:87	B*27:111
B*27:34	B*27:60	B*27:88	B*27:112
B*27:35	B*27:61	B*27:89	B*27:113
B*27:36	B*27:62	B*27:90:01	B*27:114
B*27:37	B*27:63	B*27:90:02	B*27:115
B*27:38	B*27:64N	B*27:90:03	B*27:116
B*27:39	B*27:65N	B*27:90:04	B*27:117

Alelos de la familia HLA-B*27 (IMGT-HLA 3.43.0) detectados por Genvinset® HLA B27v5

B*27:118	B*27:144:02	B*27:172	B*27:200
B*27:119	B*27:145	B*27:173	B*27:201
B*27:120	B*27:146	B*27:174	B*27:202
B*27:121	B*27:147	B*27:175	B*27:203
B*27:122	B*27:148	B*27:176N	B*27:204
B*27:123	B*27:149	B*27:177	B*27:205
B*27:124	B*27:150	<u>B*27:178</u>	B*27:206
B*27:125	B*27:151	B*27:179	B*27:207
B*27:126	B*27:152	B*27:180	B*27:208
B*27:127	B*27:153	B*27:181	B*27:209
B*27:128	B*27:154	B*27:182	B*27:210
B*27:129	B*27:155	B*27:183	B*27:211
B*27:130	B*27:156	B*27:184	B*27:212N
B*27:131	B*27:158	B*27:185Q	B*27:213
B*27:132	B*27:159	B*27:186	B*27:214
B*27:133	B*27:160	B*27:187	B*27:216
B*27:134	B*27:161	B*27:188	B*27:217
B*27:135	B*27:162	B*27:190	B*27:218
B*27:136	B*27:163	B*27:191	B*27:219
B*27:137	B*27:164	B*27:192	B*27:220
B*27:138	B*27:165	B*27:193	<u>B*27:221</u>
B*27:139	B*27:166	B*27:194	B*27:222
<u>B*27:140</u>	B*27:167	B*27:195	B*27:223N
B*27:141	B*27:168	B*27:196	B*27:224
B*27:142	B*27:169	B*27:197	B*27:225N
B*27:143	B*27:170	<u>B*27:198</u>	B*27:226
B*27:144:01	B*27:171	B*27:199	B*27:227

Alelos de la familia HLA-B*27 (IMGT-HLA 3.43.0) detectados por Genvinset® HLA B27v5

B*27:228

B*27:229

B*27:230

B*27:231

B*27:232

B*27:233

B*27:234

B*27:235

B*27:236

B*27:237

B*27:238

Limitaciones del procedimiento

- El método detecta los alelos del grupo HLA-B*27 especificados en la sección anterior (IMGT-HLA 3.43.0)
- La posible presencia de mutaciones en los lugares de hibridación de los primers y sondas puede dar lugar a la falta de definición de un alelo. En dichos casos, tecnologías alternativas podrían ayudar a resolver el tipaje.
- Las condiciones descritas para la PCR deben controlarse con precisión. Cualquier desviación de estos parámetros pueden provocar la obtención de resultados deficientes.
- Todos los trabajos de Genvinset® deben efectuarse conforme a las buenas prácticas de laboratorio y ajustándose tanto a las normas locales como a los estándares de la EFI (European Federation of Immunogenetics).
- El termociclador q-PCR debe estar calibrado según recomendaciones del fabricante y utilizarse respetando los límites especificados por éste.
- No mezclar componentes de otros kits y lotes.
- No utilizar el kit una vez rebasada su fecha de caducidad.
- No utilizar el kit en caso de sospecha de pérdida de reactividad, contaminación, deterioro del envase o cualquier otra incidencia que pueda afectar al rendimiento del mismo.
- Debido a la complejidad de la tipificación del HLA, la interpretación de los datos y resultados obtenidos debe ser revisada por personal cualificado.
- Los reactivos caducados deben desecharse siguiendo la normativa aplicable.

El Reaction Blank (H₂O) es positivo

- **Contaminación del Primer Mix/Master Mix/Reaction Blank**
 - Repita el experimento con nuevas alícuotas de Primer Mix/Master Mix/Reaction Blank
 - Manipule los componentes del kit siempre según las prácticas habitualmente aceptadas para evitar la contaminación
 - Verifique condiciones de almacenamiento y manipulación
 - Deseche reactivos contaminados
- **Contaminación presente en la zona pre-PCR**
 - Confirme que se han seguido las precauciones necesarias en la zona de PCR
 - Revise posibles problemas de contaminación en otras técnicas de PCR
 - Confirme la idoneidad del fungible utilizado (tubos 1.5 mL, puntas de pipetas)
- **Error de pipeteo**
 - Verifique que la muestra añadida en una posición dada corresponde siempre a la asignada en la hoja de trabajo

20

Señal débil o ausente en todas las muestras. Muestras control funcionan bien.

- **Muestras con muy baja concentración de ADN**
 - Revise la concentración de ADN de las muestras
- **Muestras de ADN con elevada concentración**
 - Realice una validación previa del sistema de extracción testando diluciones de la muestra

Intensidad de fluorescencia demasiado baja

- **Degradación del kit (Vial de Primer Mix o de Master Mix)**
 - Confirme el correcto almacenamiento del kit (Vial de Primer Mix en oscuridad y vial de Master Mix congelado)
 - Evite realizar más de 3 ciclos de congelación/descongelación a los viales de Primer Mix y Master Mix
 - Alicuote los reactivos en caso necesario
 - Repita la tanda con reactivos nuevos

Muestra de control negativo (B*27 neg.) da resultado positivo

- **Contaminación cruzada**
 - Manipule los componentes del kit siempre según las prácticas habitualmente aceptadas para evitar la contaminación
- **Error de pipeteo**
 - Verifique que la muestra añadida en una posición dada corresponde siempre a la asignada en la hoja de trabajo

Muestra de control positivo (B*27 pos.) da resultado negativo

- **Error de pipeteo**
 - Verifique que la muestra añadida en una posición dada corresponde siempre a la asignada en la hoja de trabajo

Intensidad de fluorescencia varía

- **Existe suciedad en la parte exterior del tubo que interfiere con la señal de lectura**
 - Manipule siempre las placas con guantes
- **El volumen no se encuentra en el fondo del pocillo o existe alguna burbuja de aire**
 - Realice una centrifugación para asegurar que todo el volumen se deposite en el fondo del pocillo y eliminar las burbujas de aire
- **Error de pipeteo**
 - Verifique que el volumen añadido en cada pocillo coincide con el correcto

No hay señal de fluorescencia

- **Selección de canales de lectura incorrectos**
 - Configure los canales de lectura correctos
- **Errores de pipeteo u omisión de reactivos**
 - Controle el esquema de pipeteo y la configuración de la reacción
 - Repita la PCR
- **No se ha seleccionado en el programa del termociclador ninguna lectura**
 - Revise y modifique el programa del termociclador

Bibliografía

1. "HLA-B27 Genotyping by Fluorescent Resonance Emission Transfer (FRET) Probes in Real-Time PCR". Rosa Faner, Natàlia Casamitjana, Roger Colobran, Anna Ribera, Ricardo Pujol-Borrell, Eduard Palou, and Manel Juan. *Biotechniques*. 1996 Jun;20(6):1012-4, 1016, 1018-20.
2. "Optimization of Dnase I removal of contaminating DNA from RNA for use in quantitative RNA-PCR." Huang Z, Fasco MJ, Kaminsky LS. *School of Public Health, State University of New York, New York 12201-0509, USA*.

Aviso al comprador

- Este producto está concebido para uso en diagnóstico in vitro.
- Los productos de BLACKHILLS DIAGNOSTIC RESOURCES, S.L.U. no deben ser revendidos, modificados para reventa ni utilizados para fabricar otros productos comerciales sin autorización por escrito de BLACKHILLS DIAGNOSTIC RESOURCES, S.L.U.
- La información del presente documento puede ser modificada sin previo aviso. BLACKHILLS DIAGNOSTIC RESOURCES, S.L.U. no asume ninguna responsabilidad por los errores que puedan encontrarse en este documento. Este documento se considera completo y exacto en el momento de su publicación. En ningún caso será BLACKHILLS DIAGNOSTIC RESOURCES, S.L.U. responsable por daños fortuitos, especiales, múltiples o derivados del uso de este documento.
- La compra de este producto concede derechos al comprador bajo ciertas patentes de Roche, utilizándose sólo para proporcionar servicios de diagnóstico in vitro. Ella no concede ninguna patente general ni otra licencia de ningún tipo aparte de este derecho de uso específico por la compra.
- FAM™ y HEX™ son marcas comerciales de Life Technologies Corporation.
- VIC® es una marca registrada de Life Technologies Corporation.
- FAM™, HEX™ y VIC® podrían estar cubiertos por una o más de las patentes propiedad de Applied Biosystems, LLC. El precio de compra de este producto incluye derechos limitados, no transferibles.
- TaqMan® es una marca registrada de Roche Molecular Systems, Inc.
- Genvinset® es una marca comercial de BLACKHILLS DIAGNOSTIC RESOURCES, S.L.U.

Cambios respecto a la version 01

Versión	Descripción del cambio
Rev. 01	Primera edición del documento
Rev. 02	Actualización del listado de termocicladores validados

Símbolos de las etiquetas



Uso diagnóstico in vitro



Producto que cumple con los requisitos de la Directiva 98/79/CE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro



Número de catálogo



Número de lote



Fecha de caducidad



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fabricado por



Conservar a



Manténgase fuera de la luz del sol



Control positivo