



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

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-002162-23-2

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-002162-23-2 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones Biodiagnostico SA 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, PCR de BCR-ABL P190.

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, PCR de BCR-ABL P190, de acuerdo con lo solicitado por Biodiagnostico SA 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 N° IF-2023-74205131-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 1201-378 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

ARTICULO 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: PCR de BCR-ABL P190

Marca comercial: 1) BCR-ABL P190 ELITe MGB Kit 2) BCR-ABL P190 ELITe Standard 3) BCR-ABL P190 - ELITe Positive Control

Modelos:

- 1) BCR-ABL P190 ELITe MGB Kit
- 2) BCR-ABL P190 ELITe Standard
- 3) BCR-ABL P190 - ELITe Positive Control

Indicación/es de uso:

1) El producto BCR-ABL P190 ELITe MGB® Kit es un ensayo cualitativo y cuantitativo de retrotranscriptasa y amplificación de ácidos nucleicos para la detección de ARNm de la reordenación del gen BCR-ABL, a saber, la translocación t(9;22), que da lugar al cromosoma Filadelfia en la variante P190 (en adelante, P190), así como para la cuantificación del ARNm de P190 comparado con el ARNm del gen que codifica la proteína cinasa Abelson

(ABL), en muestras de ARN total extraído de suspensiones de linfomonocitos y suspensiones de leucocitos de muestras clínicas de sangre periférica o de médula ósea.

El producto se utiliza, junto con los datos clínicos y otras pruebas analíticas, como ayuda en el diagnóstico y el seguimiento de casos de leucemia mielógena crónica (LMC), leucemia mielógena aguda (LMA) y leucemia linfocítica aguda (LLA) positivas para el marcador P190.

2) El producto BCR-ABL P190 ELITE Standard se utiliza como control positivo y como ADN estándar de cantidad conocida para obtener la curva estándar en ensayos cuantitativos de transcripción inversa y amplificación en tiempo real de ácidos nucleicos para la detección del ADNc del reordenamiento BCR-ABL, translocación t(9;22), cromosoma Philadelphia, variante P190 (P190) y para la cuantificación del ADNc de P190 en comparación con el ADNc del gen que codifica la proteína quinasa de Abelson (ABL). El producto debe utilizarse con el producto « BCR-ABL P190 ELITE MGB Kit, fabricado por ELITechGroup S.p.A.

3) El producto BCR-ABL P190 - ELITE Positive Control está destinado a utilizarse como control positivo en ensayos cualitativos de amplificación de ácidos nucleicos para la detección del ADNc del reordenamiento BCR-ABL, translocación t(9;22), cromosoma Filadelfia, variante P190 (P190) y del ADNc del gen que codifica la proteína quinasa de Abelson (ABL) mediante el producto BCR-ABL P190 ELITE MGB Kit en asociación con el instrumento ELITE InGenius PM-1201-258 (ELITechGroup S.p.A.).

Forma de presentación: 1) BCR-ABL P190 ELITE MGB Kit

18 determinaciones por duplicado para ARNm de P190, 18 determinaciones por duplicado para ARNm de ABL cuando se utiliza el ELITE InGenius, inclusive los calibradores y los controles.

25 determinaciones por duplicado para ARNm de P190 y 25 determinaciones por duplicado para ARNm de ABL cuando se utiliza el instrumento 7300 Real Time PCR System, 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument o 7900 Real-Time PCR System, inclusive los calibradores y los controles, con un máximo de 19 muestras clínicas en una sesión (en óptimas condiciones de uso).

Contiene:

P190 PreMix 1 × 270 μ L

ABL PreMix 1 x 270 μ L

PCR MasterMix 2 × 820 μ L

RT EnzymeMix 2 × 20 μ L

2) Contiene soluciones estabilizadas de ADN plasmídico de título conocido:

P190-ABL Q - PCR Standard 105 2 x 160 μ L

P190-ABL Q - PCR Standard 104 2 x 160 μ L

P190-ABL Q - PCR Standard 103 2 x 160 μ L

P190-ABL Q - PCR Standard 102 2 x 160 μ L

P190-ABL Q - PCR Standard 101 2 x 160 μ L

3) Contiene solución estabilizada de ADN plasmídico:

P190-ABL - Positive Control 3 x 160 μ L

Período de vida útil y condición de conservación: 1) 24 meses a una temperatura inferior a -20°C

2) 30 meses a una temperatura inferior a -20°C

3) 30 meses a una temperatura inferior a -20°C

Nombre del fabricante:
ELITechGroup S.p.A.

Lugar de elaboración:
Sede legal: Corso Italia 22, 20122 Milán, Italia - C.F.-P. I 05239350969
Planta de fabricación: Corso Svizzera 185, 10149 Turín, Italia, C.F.-P.I 05239350969

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente N° 1-0047-3110-002162-23-2

N° Identificador Trámite: 47294

AM

Digitally signed by GARAY Valéria Teresa
Date: 2023.07.12 22:33:04 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires



ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALY

Offices: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E. mail: emd.support@elitechgroup.com
WEB site: www.elitechgroup.com

NOTICE of CHANGE dated 25/05/2022

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«BCR-ABL P190 ELITe MGB[®] Kit» Ref. RTSG07PLD190

This new revision of the Instruction for Use (IFU) contains the following changes:

- Extension of the use of the product in association with «ELITe InGenius[®]» instrument (REF INT030).
- Update of procedure on “ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument” and “ABI 7300 Real-Time System” for setting of calibration curve.

The product can be used with the previous versions of the IFU as well.

Please contact the ELITechGroup staff at the following email address: emd.ifu@elitechgroup.com, to request the manual for a previous version of the Software.

PLEASE NOTE



LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT



THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT



CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT



LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT



A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT



DIE REVIEW VON DIESER IFU IST KOMPATIBLE MIT DER VORIGE VERSION VON DEM TEST.

Bioq. Laura Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

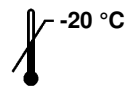


BCR-ABL P190 ELITE MGB® Kit
Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTSG07PLD190

BCR-ABL P190 ELITE MGB® Kit
Reactivos para la retrotranscriptasa del ARN y la amplificación en tiempo real del ADN complementario

REF RTSG07PLD190



ÍNDICE

USO PREVISTO	página 1
PRINCIPIO DEL ENSAYO	página 2
DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO	página 3
MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO	página 4
MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO	página 4
OTROS PRODUCTOS NECESARIOS	página 4
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	página 5
ELITE INGENIUS®	página 7
MUESTRAS Y CONTROLES	página 7
PROCEDIMIENTO	página 8
CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO	página 17
OTROS SISTEMAS	página 19
MUESTRAS Y CONTROLES	página 19
PROCEDIMIENTO	página 20
CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO	página 29
BIBLIOGRAFÍA	página 31
LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	página 32
PROBLEMAS Y SOLUCIONES	página 33
SÍMBOLOS	página 36
AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA	página 36

USO PREVISTO

El producto «BCR-ABL P190 ELITE MGB® Kit» es un ensayo cualitativo y cuantitativo de retrotranscriptasa y amplificación de ácidos nucleicos para la **detección de ARNm de la reordenación del gen BCR-ABL, a saber, la translocación t(9;22), que da lugar al cromosoma *Filadelfia* en la variante P190 (en adelante, P190), así como para la cuantificación del ARNm de P190 comparado con el ARNm del gen que codifica la proteína cinasa Abelson (ABL), en muestras de ARN total extraído de suspensiones de linfomonocitos y suspensiones de leucocitos de muestras clínicas de sangre periférica o de médula ósea.**

El producto se utiliza, junto con los datos clínicos y otras pruebas analíticas, como ayuda en el diagnóstico y el seguimiento de casos de leucemia mielógena crónica (LMC), leucemia mielógena aguda (LMA) y leucemia linfocítica aguda (LLA) positivas para el marcador P190.

PRINCIPIOS DEL ENSAYO

El ensayo consiste en una reacción de retrotranscriptasa y de amplificación en tiempo real (método de un paso) con un termostato programable que se suministra con un sistema óptico de detección de fluorescencia (termociclador de amplificación en tiempo real).

Para cada muestra de ARN extraída, el ensayo comprende **una reacción por duplicado específica de una región del ARNm de P190 (diana) y una reacción por duplicado específica de una región del ARNm de ABL (control).**

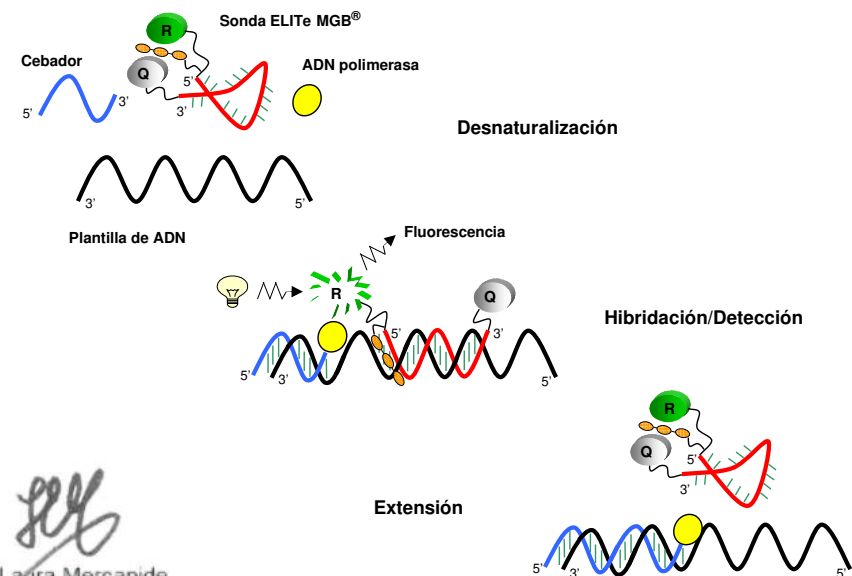
La sonda específica del ADNc de P190 con la tecnología ELITE MGB®, marcada con el fluoróforo FAM, se activa cuando se hibrida con el producto específico de la reacción de amplificación del ADNc de P190.

La sonda específica del ADNc de ABL con la tecnología ELITE MGB®, marcada con el fluoróforo FAM, se activa cuando se hibrida con el producto específico de la reacción de amplificación del ADNc de ABL.

A medida que aumenta el producto específico de la reacción de amplificación, la emisión de fluorescencia también aumenta y el instrumento la mide y la registra. El procesamiento de los datos permite detectar la presencia y el título de ARNm de P190 y de ABL en la muestra inicial.

El ensayo se ha validado para utilizarlo con los sistemas que se describen en estas instrucciones de uso.

En la siguiente ilustración, se muestra el mecanismo de activación y la emisión de fluorescencia de la sonda de tecnología ELITE MGB®. Tenga en cuenta que la sonda no se hidroliza durante los ciclos de amplificación.



Bioq. Laura Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El producto «BCR-ABL P190 ELITE MGB® Kit» incluye los siguientes componentes:

• **P190 PreMix**

Mezcla de oligonucleótidos, específica de la retrotranscriptasa y de la amplificación en tiempo real de P190, en una solución estabilizada, **dividida en alícuotas en una probeta** (tapón morado), que contiene **270 µL** de solución, que son suficientes para al menos **36 análisis** cuando se utiliza el «**ELITE InGenius®**», o bien para **50 análisis** cuando se utilizan otros sistemas.

Los oligonucleótidos del cebador y la sonda específica de P190 (estabilizada mediante el grupo MGB®, marcada con el fluoróforo FAM e inactivada con una molécula no fluorescente) son específicos de una región del ARNm generada por la **variante P190 (e1a2) de la reordenación del gen BCR-ABL**.

La mezcla de reacción contiene el fluoróforo AP593, que se utiliza en lugar de ROX o CY5 como referencia pasiva para la normalización de la fluorescencia.

• **ABL PreMix**

Mezcla de oligonucleótidos, específica de la retrotranscriptasa de ABL y de la amplificación en tiempo real, en una solución estabilizada, **dividida en alícuotas en una probeta** (tapón neutro), que contiene **270 µL** de solución, que son suficientes para al menos **36 análisis** cuando se utiliza el «**ELITE InGenius®**», o bien para **50 análisis** cuando se utilizan otros sistemas.

Los oligonucleótidos del cebador y la sonda específica de ABL (estabilizada mediante el grupo MGB®, marcada con el fluoróforo FAM e inactivada con una molécula no fluorescente) son específicos de una región del ARNm del gen humano que codifica **ABL (exones a2a3)**.

La mezcla de reacción contiene el fluoróforo AP593, que se utiliza en lugar de ROX o CY5 como referencia pasiva para la normalización de la fluorescencia.

• **PCR MasterMix**

Mezcla de reactivos optimizados y estabilizados para la retrotranscriptasa y la amplificación en tiempo real **divididos en alícuotas en 2 probetas** (tapón neutro). Cada probeta contiene **820 µL** de solución, que son suficientes para al menos **36 análisis** cuando se utiliza el «**ELITE InGenius®**», o bien para **50 análisis** cuando se utilizan otros sistemas.

La mezcla de reacción contiene solución tampón, cloruro de magnesio, nucleótidos-trifosfatos y la enzima ADN polimerasa Taq con activación térmica («hot start»).

• **RT EnzymeMix**

Mezcla de reactivos optimizados y estabilizados para la retrotranscriptasa, **divididos en alícuotas en 2 probetas** (tapón con inserto negro). Cada probeta contiene **20 µL** de solución, que son suficientes para al menos **36 análisis** cuando se utiliza el «**ELITE InGenius®**», o bien para **50 análisis** cuando se utilizan otros sistemas.

La mezcla de reacción contiene la enzima para la retrotranscriptasa.

El producto permite realizar **18 determinaciones por duplicado para el ARNm de P190**, así como **18 determinaciones por duplicado para el ARNm de ABL** cuando se utiliza el **ELITE InGenius**, inclusive los calibradores y los controles.

El producto permite realizar **25 determinaciones por duplicado para el ARNm de P190** y **25 determinaciones por duplicado para el ARNm de ABL** cuando se utiliza un «7300 Real Time PCR System», un «7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument» o un «7900 Real-Time PCR System», inclusive los calibradores y los controles, con un máximo de **19 muestras clínicas** en una sesión (en óptimas condiciones de uso).

MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligro
P190 PreMix	Mezcla oligonucleótidos del cebador/de la sonda Tapón neutro	1 x 270 µL	-
ABL PreMix	Mezcla de oligonucleótidos del cebador/de la sonda Tapón neutro	1 x 270 µL	-
PCR MasterMix	Mezcla de reactivos para la retrotranscriptasa y la amplificación en tiempo real Tapón neutro	2 x 820 µL	-
RT EnzymeMix	Retrotranscriptasa Tapón con inserto negro	2 x 20 µL	-

MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin talco desechables de nitrilo o de otro material similar.
- Agitadora vorticial.
- Microcentrifugadora de sobremesa (12.000–14.000 rpm).
- Micropipetas y puntas estériles con filtro para aerosoles o desplazamiento positivo (2–20 µL, 5–50 µL, 50–200 µL, 200–1000 µL).
- Agua de calidad para biología molecular.
- Probeta Sarstedt de 2,0 mL con base de apoyo y tapón roscado (Sarstedt ref. 72.694.005).
- Microprobetas de propileno de 1,5 mL para procedimientos de biología molecular.
- Termostato programable con un sistema óptico de detección de fluorescencia «7300 Real Time PCR System», «7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument» o «7900 Real-Time PCR System» calibrado conforme a las instrucciones del fabricante.

OTROS PRODUCTOS NECESARIOS

Los reactivos para la extracción del ARN de las muestras, las microplacas de amplificación y los calibradores de ADN en cantidad conocida **no están** incluidos en el volumen de suministro de este producto.

Para el análisis automático de muestras con el instrumento «**ELITE InGenius**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT030), se necesitan los siguientes productos genéricos: los cartuchos de extracción «**ELITE InGenius® SP RNA**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT034SPRNA), el «**ELITE InGenius DNase I**» (ELITechGroup S.p.A. INT034DNASE), el producto «**Dnase Tube Adapter Kit**» (ref. G6431-000) y los consumibles para la extracción y la amplificación de ácidos nucleicos a partir de muestras biológicas «**ELITE InGenius® SP 200 Consumable Set**» (ELITechGroup S.p.A, ref. INT032CS), «**ELITE InGenius® Waste Box**» (ELITechGroup S.p.A, ref. F2102-000), «**ELITE InGenius® PCR Cassette**» (ELITechGroup S.p.A, ref. INT035PCR) y «**300 µL Filter Tips Axygen**» (Axygen BioScience Inc., CA, EE. UU., ref. TF-350-L-R-S).

Para la extracción automática del ARN, la amplificación y la interpretación del análisis de las muestras, es necesario utilizar el instrumento «**ELITE InGenius**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT030) y los siguientes protocolos de ensayo específicos (ELITechGroup S.p.A.):

- para los calibradores, «**BCR-ABL P190 ELITE STD_P190**» y «**BCR-ABL P190 ELITE STD_ABL**»;
- para el control positivo de amplificación, «**BCR-ABL P190 ELITE_PC**»;
- para el control negativo de amplificación, «**BCR-ABL P190 ELITE_NC**»;
- para el análisis de las muestras, «**BCR-ABL P190 ELITE_PBL_200_100**».


 Bioq. Laura Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

BCR-ABL P190 ELITE MGB® Kit

Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTSG07PLD190

Para la extracción de ARN de las muestras que van a analizarse, utilizar un producto validado para laboratorio, como el sistema de extracción automática «Maxwell® CSC» (Promega, código AS6000) con los reactivos del producto «Maxwell® CSC RNA Blood Kit» (Promega, código AS1410) u otros productos equivalentes.

Si se utiliza un «7300 Real-Time PCR System» o un «7900 Real-Time PCR System», se recomienda utilizar el producto genérico «Q - PCR Microplates» (ELITechGroup S.p.A., código RTSACC01), que incluye microplacas con pocillos de 0,2 mL y placas de sellado adhesivas para la amplificación en tiempo real.

Cuando se utiliza un «7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument» o un «7900 Real-Time PCR System», se recomienda utilizar el producto genérico «Q - PCR Microplates Fast» (ELITechGroup S.p.A., ref. RTSACC02), que contiene microplacas con pocillos de 0,1 mL y placas selladoras adhesivas para la amplificación en tiempo real.

Para la detección y la cuantificación del ARNm de P190 y de ARNm de ABL, es necesario utilizar el producto «BCR-ABL P190 - ELITE Positive Control» (ELITechGroup S.p.A., ref. CTRG07PLD190), que es el control positivo de ADN plasmídico.

Para la detección y la cuantificación del ARNm de P190 y del ARNm de ABL, es necesario utilizar el producto «BCR-ABL P190 ELITE Standard» (ELITechGroup S.p.A., código STDG07PLD190), que contiene cinco diluciones de ADN plasmídico en cantidad conocida para obtener las curvas de calibración de P190 y de ABL.

Para el pretratamiento de la sangre, utilizar un producto genérico validado para laboratorio, como la solución «Cell Lysis Solution» (Promega, ref. A7933), la solución tampón «RNA Lysis Buffer» (Promega, ref. Z3051) y «Thioglycero» (Promega, ref. A208B-C) u otros reactivos equivalentes (como la «Solution A» (Promega, ref. MC130A), la «Solution B» (Promega, ref. MC131A) y «Thioglycero» (Promega, ref. MC132A).

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto está diseñado para uso exclusivo *in vitro*.

Advertencias y precauciones generales

Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si fueran potencialmente infecciosas. Evitar el contacto directo con las muestras biológicas. Evitar salpicaduras o pulverizaciones. Los materiales que entran en contacto con las muestras biológicas deben tratarse durante al menos 30 minutos con hipoclorito de sodio al 3 %, o procesarse en autoclave durante una hora a 121 °C antes de su eliminación.

Manipular y eliminar todos los reactivos y materiales utilizados para realizar el ensayo como si fueran potencialmente infecciosos. Evitar el contacto directo con los reactivos. Evitar salpicaduras o pulverizaciones. Los residuos deben tratarse y eliminarse conforme a las normas de seguridad aplicables. El material combustible desechable debe incinerarse. Los residuos líquidos que contienen ácidos o bases deben neutralizarse antes de eliminarlos.

Usar ropa de protección y guantes adecuados y protegerse los ojos y la cara.

No pipetear ninguna solución con la boca.

No comer, beber, fumar ni aplicarse cosméticos en el área de trabajo.

Lavarse bien las manos después de manipular muestras y reactivos.

Eliminar los reactivos sobrantes y los residuos conforme a las normas vigentes.

Leer atentamente todas las instrucciones proporcionadas con el producto antes de realizar el ensayo.

Seguir las instrucciones proporcionadas con el producto para realizar el ensayo.

No utilizar el producto después de la fecha de caducidad indicada.

Utilizar únicamente los reactivos que se suministran con el producto y los recomendados por el fabricante.

No mezclar reactivos procedentes de lotes diferentes.

No utilizar reactivos de otros fabricantes.

Advertencias y precauciones para los procedimientos de biología molecular

Con el fin de evitar el riesgo de resultados incorrectos, sobre todo debido a la degradación de los ácidos nucleicos de las muestras o a la contaminación de estas con productos de amplificación, los

BCR-ABL P190 ELITE MGB® Kit

Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTSG07PLD190

procedimientos de biología molecular, como la extracción de ácidos nucleicos, la retrotranscriptasa, la amplificación y la detección, deben correr a cargo de personal debidamente formado y cualificado.

Cuando la sesión de amplificación se configura manualmente, es necesario disponer de áreas independientes para la extracción/preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación/detección de los productos de amplificación. No introducir nunca un producto de amplificación en el área asignada a la extracción/preparación de las reacciones de amplificación.

Cuando la sesión de amplificación se configura manualmente, es necesario disponer de batas de laboratorio, guantes y herramientas que se empleen exclusivamente para la extracción/preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación/detección de los productos de amplificación. No llevar nunca batas de laboratorio, guantes ni herramientas del área asignada a la amplificación/detección de productos de amplificación al área asignada a la extracción/preparación de las reacciones de amplificación.

Las muestras deben usarse exclusivamente para este tipo de análisis. Las muestras deben manipularse bajo una campana de flujo laminar. No abrir al mismo tiempo probetas que contengan muestras diferentes. Las pipetas utilizadas para manipular las muestras deben destinarse exclusivamente a dicho propósito. Las pipetas deben ser del tipo de desplazamiento positivo o utilizarse con puntas con filtro para aerosoles. Las puntas utilizadas deben ser estériles y no deben contener desoxirribonucleasas ni ribonucleasas, ni tampoco ADN ni ARN.

Los reactivos deben manipularse bajo una campana de flujo laminar. Los reactivos necesarios para la amplificación deben prepararse de forma que puedan utilizarse en una sola sesión. Las pipetas utilizadas para manipular los reactivos deben destinarse exclusivamente a dicho propósito. Las pipetas deben ser del tipo de desplazamiento positivo o utilizarse con puntas con filtro para aerosoles. Las puntas utilizadas deben ser estériles y no deben contener desoxirribonucleasas ni ribonucleasas, ni tampoco ADN ni ARN.

Con el fin de evitar el riesgo de contaminación, los productos de amplificación deben manipularse de manera que se reduzca al mínimo la dispersión hacia el entorno. Las pipetas utilizadas para manipular los productos de amplificación deben destinarse exclusivamente a dicho propósito.

Advertencias y precauciones específicas de los componentes

- P190 PreMix**
 La mezcla «P190 PreMix» debe conservarse a -20 °C en un lugar protegido de la luz. La mezcla «P190 PreMix» puede congelarse y descongelarse un máximo de **seis veces**; más ciclos de congelación y descongelación pueden reducir el rendimiento del producto.
- ABL PreMix**
 La mezcla «ABL PreMix» debe conservarse a -20 °C en un lugar protegido de la luz. La mezcla «ABL PreMix» puede congelarse y descongelarse un máximo de **seis veces**; más ciclos de congelación y descongelación pueden reducir el rendimiento del producto.
- PCR MasterMix**
 La mezcla «PCR MasterMix» debe conservarse a -20 °C. La mezcla «PCR MasterMix» puede congelarse y descongelarse un máximo de **seis veces**; más ciclos de congelación y descongelación pueden reducir el rendimiento del producto.
- RT EnzymeMix**
 La mezcla «RT EnzymeMix» debe conservarse a -20 °C. La mezcla «RT EnzymeMix» no debe exponerse a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos más de **seis veces**.


 Bioq. Laura Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

ELITe InGenius®

MUESTRAS Y CONTROLES

Muestras

Este producto debe utilizarse con las siguientes muestras clínicas:

Sangre periférica recogida en EDTA o en citrato de sodio

La sangre periférica recogida en EDTA o en citrato de sodio, que se utiliza en la preparación de suspensiones de linfomonocitos y de leucocitos para la extracción de ARN, debe recogerse conforme a las directrices para laboratorios, así como transportarse y conservarse a una temperatura comprendida entre +2 °C y 8 °C durante un máximo de 48 horas antes de la purificación.

Con el fin de evitar una degradación del ARN, no congelar la sangre periférica.

Al comenzar con sangre periférica, se recomienda separar los leucocitos conforme a las directrices para laboratorios o a las siguientes indicaciones.

Verter de 10 a 14 mL de sangre periférica roja recogida en EDTA o en citrato de sodio en una probeta de a 15 mL después de mezclarla por completo mediante inversión. Centrifugar durante 10 minutos a 3000 RCF; añadir 5 mL de «Cell Lysis Solution» (Promega, ref. A7933) a una probeta nueva de 15 mL; con una pipeta de 1 mL, retirar la placa leucoplaquetaria obtenida después de la centrifugación y verterla en la probeta de 15 mL que contiene la solución de lisis; aspirar y liberar hasta que las células estén dentro de la probeta y la pipeta esté libre de material; incubar a temperatura ambiente durante 10 minutos y mezclar mediante inversión (NO EN AGITADORA VORTICIAL) al menos 3 o 4 veces; centrifugar a 3000 RCF durante 10 minutos.

Note: la cantidad ideal de leucocitos se muestra en una escala 1:1 en la imagen siguiente.



LLG
 Bioq. Laura Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

Retirar el sobrenadante y resuspender en 2 mL de «Cell Lysis Solution» vertiéndola en una probeta de 2 mL; volver a centrifugar durante aproximadamente 2 minutos a 3000 RCF; retirar con cuidado el sobrenadante (prestando atención a quitar las trazas de eritrocitos que se encuentran por encima del sedimento de células) y resuspender el sedimento en 200 µL de solución de lisis (1 mL de ARN de solución tampón de lisis, Promega, ref. Z3051 + 20 µL de «1-Thioglycerol», Promega, ref. A208B-C).

Note: cuando la extracción de ácidos nucleicos se realiza con el instrumento **ELITe InGenius** y la versión 1.3 del **software ELITe InGenius®** (o cualquier versión posterior equivalente), es preciso utilizar el protocolo de extracción **BCR-ABL P190 ELITe_PBL_200_100**, que procesa 200 µL de muestra y eluye los ácidos nucleicos en 100 µL.

Sustancias interferentes

Con el fin de evitar el riesgo de inhibición y de resultados no válidos frecuentes, el ARN extraído no debe contener heparina, hemoglobina, Ficoll®, etanol ni 2-propanol.

Una cantidad de ARN superior a 2,0 µg por reacción puede inhibir la reacción de retrotranscriptasa y la amplificación en tiempo real.

Las cantidades de ADN genómico humanas superiores a 100 ng por reacción en el ARN extraído de la muestra pueden inhibir la reacción de retrotranscriptasa y la amplificación en tiempo real.

PROCEDIMIENTO

El procedimiento para utilizar el producto «**BCR-ABL P190 ELITe MGB® Kit**» con el sistema **ELITe InGenius** comprende tres pasos:

- Verificación de la disponibilidad del sistema.
- Configuración de la sesión.
- Revisión y exportación de los resultados.

Verificación de la correcta preparación del sistema

Antes de iniciar la sesión, es necesario realizar las siguientes tareas siguiendo las indicaciones de la documentación del instrumento:

- Encender el **ELITe InGenius** y seleccionar el modo «**CLOSED**».
- Comprobar que los calibradores («**BCR-ABL P190 Q-PCR Standard**») se hayan procesado con el lote de reactivos de amplificación pertinente, así como que se hayan aprobado y no hayan caducado («**Status**»). Si no se dispone de calibradores de amplificación aprobados o válidos, procesarlos tal como se describe en los siguientes apartados.
- Comprobar que los controles de amplificación (controles, **BCR-ABL P190 Positive Control**, **BCR-ABL P190 Negative Control**) se hayan procesado con el lote de reactivos de amplificación pertinente, así como que se hayan aprobado y no hayan caducado («**Status**»). Si no se dispone de controles de amplificación aprobados o válidos, procesarlos tal como se describe en los apartados siguientes.
- Seleccionar el tipo de sesión, siguiendo las instrucciones de la interfaz, para configurar la sesión utilizando los protocolos de ensayo proporcionados por ELITechGroup S.p.A. Estos protocolos para diagnóstico *in vitro* se han validado específicamente con los kits **ELITe MGB®**, el instrumento **ELITe InGenius** y la matriz mencionada.

En la tabla siguiente, se describe el protocolo de ensayo disponible para el análisis de muestras con el producto «**BCR-ABL P190 ELITe MGB® Kit**».

Protocolo de ensayo para el producto « ABL P190 ELITe MGB® Kit »			
Nombre	Matriz	Informe	Características
BCR-ABL P190 ELITe_PBL_200_100	Leucocitos de sangre periférica	% de P190	Volumen de entrada de extracción: 200 µL Volumen de eluido extraído: 100 µL Ultrasonidos: NO Internal Control: NO Volumen de la mezcla de PCR: 20 µL Volumen de entrada de PCR de la muestra: 10 µL

Si el protocolo de ensayo deseado no está en el sistema, contactar con el servicio de atención al cliente de ELITechGroup más cercano.

Configuración de la sesión

El producto «**BCR-ABL P190 ELITe MGB® Kit**» puede utilizarse con el **ELITe InGenius** para realizar las tareas siguientes:

- A. Sesión integrada (modo de procesamiento «Extract + PCR»).
- B. Sesión de amplificación (modo de procesamiento «PCR Only»).
- C. Sesión de calibración (modo de procesamiento «PCR Only»).
- D. Sesión de amplificación para el Positive Control y el Negative Control (modo de procesamiento «PCR Only»).

Todos los parámetros necesarios para la sesión están incluidos en el protocolo de ensayo disponible en el instrumento y se abren automáticamente al seleccionar el protocolo de ensayo.

Nota: el sistema **ELITe InGenius** puede conectarse al servidor de información de ubicaciones (LIS, «Location Information Server»), que permite enviar la información de la sesión de trabajo. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

Antes de iniciar la sesión, es necesario realizar las siguientes tareas:

1. Descongelar durante 30 minutos a temperatura ambiente (de +18 °C a +25 °C) las probetas de mezcla «P190 PreMix» (tapón blanco) y «ABL PreMix» (tapón neutro) que se necesitan para la sesión, teniendo en cuenta que el contenido de cada una de ellas es suficiente para **21 reacciones**. Mezclar en una agitadora vorticial durante 10 segundos tres veces, centrifugar las probetas durante 5 segundos para llevar el contenido al fondo y conservar en hielo.

2. Descongelar durante 30 minutos a temperatura ambiente (de +18 °C a +25 °C) las probetas de mezcla PCR MasterMix (tapón neutro) que se necesitan para la sesión, teniendo en cuenta que el contenido de cada una de ellas es suficiente para **21 reacciones**. Mezclar en una agitadora vorticial durante 10 segundos tres veces, centrifugar las probetas durante 5 segundos para llevar el contenido al fondo y conservar en hielo.

3. Tomar las probetas de mezcla «RT EnzymeMix» (tapón con inserto negro) que se necesitan para la sesión, teniendo en cuenta que el contenido de cada una de ellas es suficiente para configurar **21 reacciones**. Agitar suavemente las probetas, centrifugarlas durante 5 segundos para llevar el contenido al fondo y conservar en hielo.

Nota: La mezcla «RT EnzymeMix» no debe exponerse a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos.

4. Preparar una probeta de 2 mL con tapón roscado (Sarstedt Ref. 72.694.005, no incluida en el kit) para la **mezcla completa de reacción** y etiquetarla de forma identificable con un rotulador permanente.

5. Calcular los volúmenes de los tres componentes proporcionados con el kit que se necesitan para preparar la **mezcla completa de reacción**:

a. Para la calibración, seguir la tabla siguiente:

Diana	Número de muestras	PreMix	PCR MasterMix	RT EnzymeMix
P190	5	30 µL	90 µL	0,9 µL
ABL	3	20 µL	60 µL	0,6 µL

b. Para los controles y las muestras, seguir la tabla siguiente:

Número de muestras	«P190 PreMix» o «ABL PreMix»	PCR MasterMix	RT EnzymeMix
1	15 µL	45 µL	0,5 µL
2	25 µL	75 µL	0,8 µL
3	40 µL	120 µL	1,2 µL

6. Preparar la **mezcla completa de reacción** añadiendo a la probeta dedicada de 2 mL los volúmenes calculados de los tres componentes.

7. Mezclar en una agitadora vorticial a **baja velocidad** tres veces durante 10 segundos, centrifugar la probeta durante 5 segundos para llevar el contenido al fondo y conservar en hielo.

Nota: La **mezcla completa de reacción** debe utilizarse en el transcurso de 5 horas cuando se conserva en el bloque refrigerado. La mezcla completa de reacción **no puede** conservarse. Durante este tiempo, es posible llevar a cabo 1 sesión de trabajo de 3,5 horas cada una e iniciar una segunda sesión de trabajo.

Los pasos principales para la configuración de los cuatro tipos de procesamiento se describen a continuación.

A. Sesión integrada

Para configurar la sesión integrada a partir de las muestras pretratadas, llevar a cabo el procedimiento que se indica a continuación siguiendo las instrucciones de la interfaz:

1. Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
2. Asegurarse de que «Extraction Input Volume» esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume», a 100 µL.
3. Para cada pista deseada, introducir el ID de la muestra («SampleID» o SID), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.

4. En la columna «Assay», seleccionar el protocolo de ensayo que se va a utilizar (p. ej., «BCR-ABL P190 ELITE_PBL_200_100»).
5. Asegurarse de que el protocolo que se muestra en el área «Protocol» sea «Extract + PCR».
6. Asegurarse de que la posición de carga de la muestra de la columna «Sample Position» sea «Extraction Tube» (fila inferior). Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
7. Cargar la **mezcla completa de reacción** en el bloque de inventario («Inventory Block») seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz de usuario. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
8. Cargar y revisar las gradillas de puntas en el área de inventario («Inventory Area») seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
9. Cargar el cartucho «PCR Cassette», los cartuchos de extracción «ELITE InGenius SP RNA», el producto «ELITE InGenius DNase I», todos los consumibles necesarios y las muestras que deben extraerse en las posiciones indicadas en el paso 8, siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
10. Cerrar la puerta del instrumento.
11. Presionar «Start» para iniciar la sesión.

Una vez finalizado el proceso, el **ELITE InGenius** permite mostrar, aprobar y guardar los resultados, así como imprimir y guardar el informe.

Nota: al finalizar la sesión, la muestra extraída que queda en la probeta de elución («Elution Tube») debe extraerse del instrumento, así como taparse, identificarse y conservarse a -20 °C durante un mes. Evitar derramar la muestra extraída.

Nota: al finalizar la sesión, los cartuchos «PCR Cassette» que contienen los productos de reacción y los consumibles deben extraerse del instrumento y eliminarse sin contaminar el medio ambiente. Evitar derramar los productos de reacción.

Nota: Al finalizar la sesión, la **mezcla completa de reacción** puede conservarse en el bloque refrigerado teniendo en cuenta el tiempo máximo de 5 horas.

B. Sesión de amplificación

Para configurar la sesión de amplificación a partir del ARN extraído, llevar a cabo el procedimiento que se indica a continuación siguiendo las instrucciones de la interfaz:

1. Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
 - únique no se vaya a realizar ninguna extracción, asegurarse de que «Extraction Input olume» esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume», a 100 µL.
 - ara cada pista deseada, rellenar el SID escribiendo o escaneando el código de barras de la muestra.
 - n la columna «Assay», seleccionar el protocolo de ensayo que se va a utilizar (p. ej., «BCR-ABL P190 ELITE_PBL_200_100»).
 - n la columna «Protocol», seleccionar «PCR Only».
6. Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» sea «Elution Tube» (fila inferior). Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
7. Cargar la **mezcla completa de reacción** en el bloque de inventario («Inventory Block») seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz de usuario. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
8. Cargar y revisar las gradillas de puntas en el área de inventario («Inventory Area») seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
9. Cargar los cartuchos «PCR Cassette» y las muestras del ácido nucleico extraído siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
10. Cerrar la puerta del instrumento.


 Bioq. Ladrá Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

11. Presionar «Start» para iniciar la sesión.

Una vez finalizado el proceso, el **ELITE InGenius** permite mostrar, aprobar y guardar los resultados, así como imprimir y guardar el informe.

Nota: al finalizar la sesión, la muestra extraída que queda en la probeta de elución («Elution Tube») debe extraerse del instrumento, así como taparse, identificarse y conservarse a -20 °C durante un mes. Evitar derramar la muestra extraída.

Nota: al finalizar la sesión, los cartuchos «PCR Cassette» que contienen los productos de reacción y los consumibles deben extraerse del instrumento y eliminarse sin contaminar el medio ambiente. Evitar derramar los productos de reacción.

Nota: Al finalizar la sesión, la **mezcla completa de reacción** puede conservarse en el bloque refrigerado teniendo en cuenta el tiempo máximo de 5 horas.

C. Sesión de calibración

Para configurar la sesión de calibración con los calibradores «Q-PCR Standard», llevar a cabo el procedimiento que se indica a continuación siguiendo las instrucciones de la interfaz.

1. Descongelar una probeta de cada uno de los niveles del calibrador «BCR-ABL P190 Q - PCR Standard» para la calibración de P190 (Cal1: BCR-ABL Q-PCR Standard 10¹, Cal2: BCR-ABL Q-PCR Standard 10², Cal3: BCR-ABL Q-PCR Standard 10³, Cal4: BCR-ABL Q-PCR Standard 10⁴, Cal5: BCR-ABL Q-PCR Standard 10⁵). Cada probeta es suficiente para 4 sesiones. Mezclar suavemente y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos.
2. Descongelar otra probeta de calibrador BCR-ABL P190 Q - PCR Standard 10⁵, 10⁴ y 10³ para la calibración de ABL (Cal3: BCR-ABL Q-PCR Standard 10³, Cal4: BCR-ABL Q-PCR Standard 10⁴, Cal5: BCR-ABL Q-PCR Standard 10⁵). Cada probeta es suficiente para 4 sesiones. Mezclar suavemente y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos.
3. Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
4. Aunque no se vaya a realizar ninguna extracción, asegurarse de que «Extraction Input Volume» esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume», a 100 µL.
5. Para la calibración de P190, en la columna «Assay», seleccionar al protocolo de ensayo «BCR-ABL P190 ELITE_STD_P190» y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad del calibrador «**BCR-ABL P190 Q-PCR Standard**».
6. Para la calibración de ABL, en la columna «Assay», seleccionar el protocolo de ensayo «BCR-ABL P190 ELITE_STD_ABL» y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad del calibrador «**BCR-ABL P190 Q-PCR Standard**».
7. Cargar la **mezcla completa de reacción** en el bloque de inventario («Inventory Block») seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz de usuario. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
8. Cargar y revisar las gradillas de puntas en el área de inventario («Inventory Area») seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
9. Cargar los cartuchos «PCR Cassette» y las probetas de «**BCR-ABL P190 Q-PCR Standard**» siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
10. Cerrar la puerta del instrumento.
11. Presionar «Start» para iniciar la sesión.

Una vez finalizado el proceso, el **ELITE InGenius** permite mostrar, aprobar y guardar los resultados, así como imprimir y guardar el informe.

Nota: al finalizar la sesión, el calibrador «**BCR-ABL P190 Q-PCR Standard**» que queda debe extraerse del instrumento, así como taparse y conservarse a -20 °C.

Nota: Al finalizar la sesión, los cartuchos «PCR Cassette» que contienen los productos de reacción y los consumibles deben extraerse del instrumento y eliminarse sin contaminar el medio ambiente. Evitar derramar los productos de reacción.

Nota: Al finalizar la sesión, la **mezcla completa de reacción** puede conservarse en el bloque refrigerado teniendo en cuenta el tiempo máximo de 5 horas.

D. Sesión de amplificación para el Positive Control y el Negative Control

Para configurar la sesión de amplificación para el Positive Control y el Negative Control, llevar a cabo el procedimiento que se indica a continuación siguiendo las instrucciones de la interfaz:

1. Descongelar la probeta de control positivo «BCR-ABL P190 - ELITE» para la sesión. Cada probeta es suficiente para 2 sesiones. Mezclar suavemente y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos.
2. Verter al menos 80 µL de agua de calidad para biología molecular en una probeta de elución, incluida en el volumen de suministro del producto «ELITE InGenius SP 200 Consumable Set».
3. Seleccionar «Perform Run» en la pantalla «Home».
4. Aunque no se vaya a realizar ninguna extracción, asegurarse de que «Extraction Input Volume» esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume», a 100 µL.
5. En la pista deseada, seleccionar en la columna «Assay» el protocolo de ensayo que va a utilizarse.
6. Para el control positivo, en la columna «Assay», seleccionar el protocolo de ensayo «BCR-ABL P190 ELITE_PC» y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad del producto «BCR-ABL P190 Positive Control».
7. Para el control negativo, en la columna «Assay», seleccionar el protocolo de ensayo «BCR-ABL P190 ELITE_NC» y rellenar el número de lote y la fecha de caducidad del agua de calidad para biología molecular.
8. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
9. Cargar la **mezcla completa de reacción** en el bloque de inventario («Inventory Block») seleccionado siguiendo las instrucciones de la interfaz de usuario. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
10. Cargar y revisar las gradillas de puntas en el área de inventario («Inventory Area») seleccionada siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
11. Cargar los cartuchos «PCR Cassette», la probeta de Positive Control de P190 de BCR-ABL y la probeta de Negative Control siguiendo las instrucciones de la interfaz. Hacer clic en «Next» para continuar con la configuración.
12. Cerrar la puerta del instrumento.
13. Presionar «Start» para iniciar la sesión.

Una vez finalizado el proceso, el **ELITE InGenius** permite mostrar, aprobar y guardar los resultados, así como imprimir y guardar el informe.

Nota: Al finalizar la sesión, el **BCR-ABL P190 Positive Control** que queda debe extraerse del instrumento, así como taparse y conservarse a -20 °C. El Negative Control que queda debe eliminarse.

Nota: Al finalizar la sesión, los cartuchos «PCR Cassette» que contienen los productos de reacción y los consumibles deben extraerse del instrumento y eliminarse sin contaminar el medio ambiente. Evitar derramar los productos de reacción.

Nota: Al finalizar la sesión, la **mezcla completa de reacción** puede conservarse en el bloque refrigerado teniendo en cuenta el tiempo máximo de 5 horas.

Revisión y aprobación de los resultados

Al finalizar la sesión, aparece automáticamente la pantalla «Results Display», en la que se muestran los resultados de la muestra/del calibrador/del control y la información sobre la sesión. En esta pantalla, es posible aprobar el resultado, así como imprimir o guardar los informes («Sample Report» o «Track Report»). Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

Nota: El **ELITE InGenius** puede conectarse al servidor de información de laboratorios (LIS, «Laboratory Information Server»), que permite enviar los resultados de la sesión de trabajo al centro de datos del


Biol. Laura Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

laboratorio. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

El **ELITe InGenius** genera los resultados utilizando el producto «**BCR-ABL P190 ELITe MGB® Kit**» con el siguiente procedimiento:

- A. Validación de la curva de calibración
- B. Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control de amplificación
- C. Validación de los resultados de la muestra
- D. Generación del informe de los resultados de la muestra.

A. Validación de la curva de calibración

El software del instrumento analiza automáticamente e interpreta las señales de fluorescencia emitidas por la sonda para P190 (canal 1 «P190») en las reacciones de amplificación del calibrador utilizando los parámetros incluidos en el protocolo de ensayo «BCR-ABL ELITe_STD_P190».

El software del instrumento analiza automáticamente e interpreta las señales de fluorescencia emitidas por la sonda de ABL (canal 1 «ABL») en las reacciones de amplificación utilizando los parámetros incluidos en el protocolo de ensayo «BCR-ABL ELITe_STD_ABL».

Las curvas de calibración de P190 y ABL, específicas del lote de reactivos de amplificación, se almacenan en la base de datos («Calibration»). El personal cualificado como administrador («Administrator») o analista («Analyst») puede consultarlas y aprobarlas siguiendo las instrucciones de la interfaz.

Las curvas de calibración, específicas del lote de reactivos de amplificación, caducan **después de 30 días**.

Nota: Si la curva de calibración no cumple los criterios de aceptación, en la pantalla «Calibration» aparece el mensaje «Failed» y no es posible aprobar la curva. En este caso, es necesario repetir las reacciones de amplificación del calibrador.

Nota: si la curva de calibración se procesa junto con las muestras y el resultado no es válido, se invalida la sesión entera. En este caso, también es necesario repetir la amplificación de todas las muestras.

B. Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control de la amplificación

El software del instrumento analiza automáticamente e interpreta las señales de fluorescencia emitidas por la sonda de P190 (canal 1 «P190») en la reacción de amplificación del Positive Control y del Negative Control utilizando los parámetros incluidos en los protocolos de ensayo «BCR-ABL P190 ELITe_PC» y «BCR-ABL P190 ELITe_NC».

Los resultados del Positive Control y del Negative Control de la amplificación, específicos del lote de reactivos de amplificación utilizado, se guardan en la base de datos («Controls»). El personal cualificado como administrador («Administrator») o analista («Analyst») puede consultar dichos resultados y aprobarlos siguiendo las instrucciones de la interfaz.

Los resultados del Positive Control y del Negative Control de amplificación, específicos del lote de reactivos de amplificación, caducan **después de 15 días**.

El software del instrumento utiliza los resultados de la amplificación del Positive Control y del Negative Control para calcular la configuración de los gráficos de control («Control Charts»). Se necesitan cuatro resultados del Positive Control y del Negative Control para configurar el gráfico de control («Control Chart»). Después de esto, los resultados del Positive Control y del Negative Control se utilizan para controlar el rendimiento del paso de amplificación. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso.

Nota: Si el Positive Control o el Negative Control de amplificación no cumple los criterios de aceptación, en la pantalla «Controls» aparece el mensaje «Failed» y no es posible aprobarlo. En este caso, es necesario repetir la reacción de amplificación del Positive Control y del Negative Control.

Nota: si el Positive Control o el Negative Control se procesan junto con las muestras que van a analizarse y el resultado no es válido, se invalida la sesión entera. En este caso, también es necesario repetir la amplificación de todas las muestras.

C. Validación de los resultados de las muestras

El software del instrumento analiza automáticamente e interpreta las señales de fluorescencia emitidas por la sonda para P190 (canal 1 «P190») y por la sonda para ABL (canal 1 «ABL») en las reacciones de amplificación utilizando los parámetros incluidos en el protocolo de ensayo «BCR-ABL P190_PBL_200_100».

Los resultados se muestran en los informes generados por el instrumento («Result Display»).

La sesión de la muestra puede aprobarse cuando se cumplen las tres condiciones que se indican en la tabla siguiente.

1) Curva de calibración	Estado
BCR-ABL P190 Q-PCR Standard	APROBADO
2) Positive Control	Estado
BCR-ABL P190 Positive Control	APROBADO
3) Negative Control	Estado
BCR-ABL P190 Negative Control	APROBADO

Para cada muestra, el sistema interpreta automáticamente el resultado del ensayo según se establece en el algoritmo del **software ELITe InGenius** y en los parámetros del protocolo del ensayo, tal como se explica en apartado siguiente.

En el caso de las reacciones de amplificación de cada **muestra**, los valores de **Ct de P190** se utilizan para detectar y cuantificar la presencia del ARNm diana, mientras que los valores de **Ct de ABL** se utilizan para detectar y cuantificar la presencia del ARNm de control (validación de la extracción y normalización de la diana).

Los valores de **Ct de P190** y de **Ct de ABL** de las reacciones de amplificación de cada **muestra** y las **curvas de calibración** se utilizan para calcular la cantidad de **ARNm** de P190 y de ABL presente en las reacciones de amplificación de las muestras. A continuación, las **cantidades de ARNm** de P190 y de ABL se utilizan para calcular el **porcentaje de copias de ARNm de P190** normalizadas a copias de ARNm de ABL (**% de P190**).

En la tabla siguiente se indican los posibles mensajes de los resultados de una muestra.

Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
P190: percentage is x.xxxx%	Se ha detectado ARN de P190. Se muestra el valor de P190 calculado, en porcentaje.
P190: percentage is 0.0000%	No se ha detectado ARN de P190 o se encuentra por debajo del límite de detección del ensayo. Equivale a un porcentaje de P190 del 0 %.
Inconclusive - Retest Sample	Se ha detectado ARN de P190, pero no se puede calcular el porcentaje de P190. Las diferencias en las cantidades de P190 dentro del duplicado no se consideran aceptables. Vuelva a analizar la muestra.
Invalid - Retest Sample	El ARN de ABL se encontraba por debajo del valor de corte (10.000 copias). Vuelva a analizar la muestra.



Bioq. Lúcia Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

Para completar la información de cada muestra analizada, a continuación se incluyen los resultados de reacciones individuales (pistas) para lasdianas de P190 y de ABL.

Resultado de un solo duplicado	Interpretación
P190: RNA Detected, quantity equal to xxx copies/reaction	Se ha detectado ARN de P190. Se muestra la cantidad calculada de ARNm de P190.
P190: RNA Not detected or below the LoD	No se ha detectado ARN de P190 o se encuentra por debajo del límite de detección del ensayo.
ABL: RNA Detected, quantity equal to xxx copies/reaction	Se ha detectado ARN de ABL. Se muestra la cantidad calculada de ARNm de ABL.
ABL: RNA Not detected or below the LoD	No se ha detectado ARN de ABL o se encuentra por debajo del límite de detección del ensayo.

La tabla siguiente muestra los diferentes casos que pueden producirse en una sesión de amplificación y el enfoque que debe seguirse para generar los mensajes de resultados.

Muestra	P190 (copias/reacción)	ABL (copias/reacción)	Resultado de la sesión de la muestra (%P190)	Interpretación
1 ^{er} duplicado	Cantidad	Cantidad ≥10.000	P190 percentage is x.xxxx%	Se ha detectado ARN de P190. Se muestra el valor de P190 calculado, en porcentaje.
2 ^o duplicado	Cantidad	Cantidad ≥10.000		
1 ^{er} duplicado	No detectado	Cantidad ≥10.000	P190 RNA Not Detected or below the LoD	No se ha detectado ARN de P190 o se encuentra por debajo del límite de detección del ensayo. Equivale a un porcentaje de P190 del 0 %.
2 ^o duplicado	No detectado	Cantidad ≥10.000		
1 ^{er} duplicado	Cantidad <10 copias	Cantidad ≥10.000	P190 percentage is x.xxxx %	Se ha detectado ARN de P190. Se muestra el valor de P190 calculado, en porcentaje.
2 ^o duplicado	No detectado	Cantidad ≥10.000		
1 ^{er} duplicado	Cantidad >10 copias	Cantidad ≥10.000	Inconclusive-Retest Sample	Se ha detectado ARN de P190, pero no se puede calcular el porcentaje de P190. Las diferencias en las cantidades de P190 dentro del duplicado no se consideran aceptables. Vuelva a analizar la muestra.
2 ^o duplicado	No detectado	Cantidad ≥10.000		
1 ^{er} duplicado	Detectado o No detectado	Cantidad <10.000	Invalid-Retest Sample	El ARN de ABL se encontraba por debajo del valor de corte (10.000 copias). Vuelva a analizar la muestra.
2 ^o duplicado	Detectado o No detectado	Cantidad ≥10.000		
1 ^{er} duplicado	DETECTADO o NO DETECTADO	Cantidad <10.000	Invalid-Retest Sample	El ARN de ABL se encontraba por debajo del valor de corte (10.000 copias). Vuelva a analizar la muestra.
2 ^o duplicado	DETECTADO o NO DETECTADO	Cantidad <10.000		

Nota: si el resultado de la reacción de amplificación de P190 es inferior a 3 copias/reacción para una muestra, la cantidad se muestra como 3 copias/reacción.

Las muestras que el software ELITE InGenius indica como «Invalid-Retest Sample» no son aptas para la interpretación de los resultados, pues el ARNm de ABL no se ha detectado de forma eficaz. En este caso, se han producido problemas durante la fase de extracción (reducción del título de ARN, presencia de

inhibidores o degradación del ARN extraído; consultar la sección «Problemas y soluciones»), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos y falsos negativos. La muestra no es apta el cálculo del % de P190, el ensayo no es válido y debe repetirse primero en el ARN extraído y, si el problema se confirma, es necesario comenzar de nuevo extrayendo una nueva muestra.

Las muestras que el software ELITE InGenius indica como «Inconclusive-Retest» Sample no son aptas para la interpretación de resultados, pues el ARN de P190 no se ha detectado correctamente. En este caso, se han producido problemas durante la fase de extracción (reducción del título de ARN, presencia de inhibidores o degradación del ARN extraído; consultar la sección «Problemas y soluciones»), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos y falsos negativos. La muestra no es apta para calcular el % de P190, el ensayo no es concluyente y debe repetirse primero en el ARN extraído y, si el problema se confirma, es necesario comenzar de nuevo extrayendo una nueva muestra.

Las muestras que se indican como «P190 RNA Not Detected or below LoD» son aptas para el análisis, pero no ha sido posible detectar el ARN de P190. En este caso, no puede descartarse que el ARN esté presente a una concentración inferior al límite de detección del ensayo (consultar la sección «Características de rendimiento»).

Nota: los resultados obtenidos con este ensayo deben interpretarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

Los resultados de la sesión de la muestra se guardan en la base de datos y, si son válidos, pueden ser aprobados («Result Display») por personal que tenga la cualificación de administrador («Administrator») o analista («Analyst») y siga las instrucciones de la interfaz. La ventana «Result Display» permite imprimir y guardar los resultados de la sesión de la muestra como «Sample Report» y como «Track Report».

D. Generación del informe de los resultados de las muestras

Los resultados de la muestra se guardan en la base de datos y pueden verse como «Sample Report» y «Track Report».

El «Sample Report» muestra los detalles de una sesión de trabajo ordenados por la muestra seleccionada (SID).

El «Track Report» muestra los detalles de una sesión de trabajo ordenados por la pista seleccionada.

El personal autorizado puede imprimir y firmar los informes «Sample Report» y «Track Report».


 Bioq. Laura Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Límite de detección

El límite de detección del ensayo para P190 con ARN total se verificó utilizando el material de referencia calibrado «IVS-0032 Clonal Control RNA» (InVivoScribe, EE. UU.), que contenía ARN total extraído de una línea celular humana positiva para P190 de BCR-ABL (e1a2) y diluida en ARN total de una línea celular humana negativa para la translocación. La dilución de $10^{-4.5}$ se analizó en 40 duplicados (300 ng de ARN/reacción), llevando a cabo la reacción de retrotranscriptasa y de reacción de amplificación con productos de ELITechGroup S.p.A. y utilizando el sistema ELITe InGenius.

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Límite de detección con muestras de ARN total y el ELITe InGenius					
Muestra	Dilución	N	Positivas	Negativas	% de P190
ARN de P190	$10^{-4.5}$	40	39	1	0,0032 %

Todos los duplicados dieron un resultado positivo para P190, con una concentración media porcentual de P190 del 0,0032 %. La cantidad media de ABL registrada en los análisis para la definición del límite de detección fue de aproximadamente 120.000 copias por reacción.

Rango de medición lineal

El rango de medición lineal de P190 de este ensayo con ARN total se determinó utilizando el panel del material de referencia calibrado «IVS-0032 Clonal Control RNA» (InVivoScribe, EE. UU.). El panel constaba de ARN total extraído de una línea celular humana positiva para P190 de BCR-ABL (e1a2) y diluida en ARN total de una línea celular humana negativa para la translocación. Las diluciones oscilaron entre ARN puro positivo para P190 (ARN de P190) y 10^{-5} (1 log pasos de dilución). Cada muestra del panel se analizó en 4 duplicados (300 ng de ARN reacción), llevando a cabo la reacción de retrotranscriptasa y de amplificación con productos de ELITechGroup S.p.A. y utilizando el sistema ELITe InGenius. El análisis estadístico se realizó mediante una regresión lineal.

El análisis de los datos obtenidos demostró que el ensayo presenta una respuesta lineal para los puntos del panel que abarcan desde ARN puro positivo para P190 hasta 10^{-5} con un coeficiente de correlación lineal superior a 0,99.

El límite superior de la medición lineal verificado en este análisis es el ARN puro positivo para P190, que corresponde a una concentración de P190 del 100 %.

El límite inferior de la medición lineal verificado en este análisis es la dilución de 10^{-5} , inferior al límite de detección y correspondiente a una concentración de P190 del 0,001 %.

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Rango de medición lineal con muestras de ARN total y el ELITe InGenius			
Muestra	Media de copias de P190/reacción	Media de P190 log copias/reacción	Desv. est.
ARN de P190	346.796	5,540	0,01
Dilución de $10^{-1.0}$	34.073	4,532	0,02
Dilución de $10^{-2.0}$	3.453	3,530	0,10
Dilución de $10^{-3.0}$	474	2,675	0,034
Dilución de $10^{-4.0}$	74	1,860	0,094
Dilución de $10^{-5.0}$	4	0,590	N/A

La cantidad media de ABL registrada en los análisis fue de aproximadamente 180.000 copias por reacción.

Sensibilidad diagnóstica: confirmación de las muestras positivas

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, definida como la confirmación de las muestras clínicas positivas, se evaluó analizando un panel de muestras clínicas positivas para P190.

La sensibilidad diagnóstica se evaluó utilizando 24 muestras recientes de sangre periférica recogida en EDTA de pacientes con leucemia que habían dado un resultado positivo para la variante P190 de la translocación de BCR-ABL con un producto de amplificación en tiempo real para diagnóstico *in vitro* con marcado CE. Las muestras se procesaron en el sistema ELITe InGenius en el modo de procesamiento «Extract + PCR».

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente:

Muestras	N	Positivas	Negativas
Muestras de sangre periférica positivas para P190	24	24	0

En el análisis, 24 muestras de 24 se confirmaron como positivas. En este análisis, la sensibilidad diagnóstica del ensayo fue del 100 %.

La cantidad media de ABL registrada en los análisis fue de aproximadamente 70.000 copias por reacción.

Especificidad diagnóstica: confirmación de las muestras negativas

La especificidad diagnóstica del ensayo, definida como confirmación de las muestras clínicas negativas, se evaluó analizando un panel de muestras clínicas negativas para P190.

La especificidad diagnóstica se evaluó utilizando 30 muestras recientes de sangre periférica recogida en EDTA de diferentes pacientes que habían dado un resultado negativo para la variante P190 de translocación de BCR-ABL con un producto de amplificación en tiempo real para diagnóstico *in vitro* con marcado CE. Las muestras se procesaron en el sistema ELITe InGenius en el modo de procesamiento «Extract + PCR».

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente:

Muestras	N	Positivas	Negativas
Muestras de sangre periférica negativas para P190	30	1	29

En el análisis, 29 muestras de 30 se confirmaron como negativas y una muestra presentó un resultado positivo diferente del resto. En este análisis, la especificidad diagnóstica del ensayo fue del 96,7 %.

La cantidad media de ABL registrada en los análisis fue de aproximadamente 50.000 copias por reacción.

Nota: Los datos y resultados completos de las pruebas realizadas para la evaluación de las características de rendimiento producto con las matrices y los instrumentos se recogen en la documentación técnica del producto «BCR-ABL P190 ELITe MGB® Kit», FTP G07PLD190.


Biol. Ladrá Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument
ABI 7300 Real-Time System

MUESTRAS Y CONTROLES

Muestras

Este producto debe utilizarse con **ARN extraído** de las siguientes muestras clínicas: suspensiones de linfomonocitos y de leucocitos de sangre periférica recogida en EDTA o en citrato de sodio y sangre de la médula ósea recogida en EDTA o en citrato de sodio.

Este producto debe utilizarse añadiendo de 300 ng a 1,5 µg de **ARN extraído** a la reacción de retrotranscriptasa y de amplificación en tiempo real.

Suspensiones de linfomonocitos y de leucocitos.

Las suspensiones de linfomonocitos o de leucocitos (como la capa leucoplaquetaria) que se utilizan para la extracción de ARN deben prepararse a partir de muestras clínicas de sangre periférica o de sangre de la médula ósea conforme a las directrices para laboratorios, así como resuspenderse en una solución fisiológica estéril o en una solución tampón estéril con fosfato y conservarse a una temperatura comprendida entre +2 °C y +8 °C durante un máximo de cuatro horas.

La cantidad óptima de linfomonocitos o de leucocitos a partir de los que debe extraerse el ARN total es de aproximadamente 10.000.000 células.

Con el fin de evitar una degradación del ARN, no congelar las suspensiones de linfomonocitos o de leucocitos.

La sangre periférica recogida en EDTA o en citrato de sodio, así como la sangre de la médula ósea recogida en EDTA o en citrato de sodio, que se utilizan en la preparación de suspensiones de linfomonocitos o de leucocitos, deben recogerse conforme a las directrices para laboratorios, así como transportarse y conservarse a una temperatura comprendida entre +2 °C y 8 °C durante un máximo de cuatro horas.

Con el fin de evitar una degradación del ARN, no congelar la sangre periférica ni la sangre de la médula ósea.

Sustancias interferentes

Con el fin de evitar el riesgo de inhibición y de resultados no válidos frecuentes, el ARN extraído no debe contener heparina, hemoglobina, Ficoll®, etanol ni 2-propanol.

Una cantidad de ARN superior a 1,5 µg por reacción puede inhibir la reacción de retrotranscriptasa y la amplificación en tiempo real.

Las cantidades de ADN genómico humanos superiores a 100 ng por reacción en el ARN extraído de la muestra pueden inhibir la reacción de retrotranscriptasa y la amplificación en tiempo real.

No se dispone de datos sobre la inhibición provocada por antibióticos, antiviricos, antineoplásicos o inmunodepresores.

Controles de amplificación

Cada sesión de amplificación debe validarse necesariamente con una reacción de control negativo y una de control positivo.

Como Negative Control (NC), utilizar agua de calidad para biología molecular (no incluida en el volumen de suministro del producto), que debe añadirse a la reacción en lugar del ARN obtenido de la muestra.

Como Positive Control (PC), utilizar el producto «**BCR ABL P190 ELITE Standard**».

Controles de calidad

Se recomienda validar el procedimiento entero de análisis de cada extracción, retrotranscriptasa y amplificación procesando una muestra negativa y una muestra positiva que ya se hayan analizado previamente o un material de referencia calibrado.

PROCEDIMIENTO

Configuración de la sesión de amplificación en tiempo real

Debe realizarse en el área de amplificación/detección.

Utilizando un «**7300 Real-Time PCR System**» o un «**7900 Real-Time PCR System**».

Antes de iniciar la sesión, realizar los pasos siguientes conforme a las indicaciones de la documentación del instrumento:

- Encender el termociclador en tiempo real, encender el ordenador de control, ejecutar el software y abrir una sesión de cuantificación absoluta («Absolute quantification»).
- Configurar (administrador del detector) el «detector» para la sonda P190 con el marcador («reporter») = «FAM» y el inhibidor («quencher») = «none» (no fluorescente) y asignarle el nombre «P190».
- Configurar (administrador de detectores) el detector para la sonda de ABL con el marcador «FAM» y el inhibidor «none» (no fluorescente) y asignarle el nombre «ABL».
- Para cada pocillo empleado en la microplaca, configurar (en «Well Inspector») el «detector» (tipo de fluorescencia que se debe medir), la referencia pasiva («passive reference») o «ROX» (AP593 se usa en lugar de ROX, normalización de la fluorescencia medida) y el tipo de reacción (muestra, control negativo de amplificación, control positivo de amplificación o calibrador en una cantidad conocida). Añadir esta información a la **hoja de trabajo** que se adjunta al final de estas instrucciones de uso o imprimir la configuración de la microplaca. La **hoja de trabajo** debe seguirse estrictamente al verter la mezcla de reacción y las muestras en los pocillos.

Nota: con el fin de determinar el título de ARN en la muestra inicial, configurar por duplicado las reacciones con el calibrador «**Q - PCR Standard**» y las dos mezclas completas de reacción para obtener las dos curvas de calibración, una para P190 (10⁵, 10⁴, 10³, 10², 10¹ copias/reacción) y otra para ABL (10⁵, 10⁴, 10³ copias/reacción).

Nota: para optimizar el uso del producto, la curva de calibración para P190 puede configurarse omitiendo el nivel de 10¹ copias/reacción de «Q - PCR Standard» y utilizando los otros cuatro niveles de «Q - PCR Standard» (10⁵, 10⁴, 10³, 10² copias/reacción), o bien utilizando el nivel de 10¹ copias/reacción de «Q - PCR Standard» y omitiendo el nivel de 10³ copias/reacción de «Q - PCR Standard» (10⁵, 10⁴, 10², 10¹ copias/reacción).

Nota: para la P190 diana y la ABL de control, calcular dos pocillos para cada una de las muestras que van a analizarse (S), dos pocillos para la amplificación del Negative Control (NC) y dos pocillos para cada calibrador «Q - PCR Standard» (5 o 4 puntos para P190 y 3 puntos para ABL).

A continuación se incluye un ejemplo de la forma en la que puede organizarse el análisis de 6 muestras.

P190	P190	P190	P190	P190	P190	P190	P190	P190	P190	P190	P190	P190
S1	S1	S2	S2	S3	S3	S4	S4	S5	S5	S6	S6	S6
P190	P190	P190	P190	P190	P190	P190	P190	P190	P190	P190	P190	P190
NC	NC	10 ¹	10 ¹	10 ²	10 ²	10 ³	10 ³	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵
ABL	ABL	ABL	ABL	ABL	ABL	ABL	ABL	ABL	ABL	ABL	ABL	ABL
S1	S1	S2	S2	S3	S3	S4	S4	S5	S5	S6	S6	S6
ABL	ABL	ABL	ABL	ABL	ABL	ABL	ABL	ABL	ABL	ABL	ABL	ABL
NC	NC	10 ³	10 ³	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁵					

[Logo]
 Bioq. Ladrá Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

Clave:
P190 S1 a P190 S6: Reacciones de P190 con las muestras analizadas.
P190 NC: Reacción de P190 con el Negative Control.

BCR-ABL P190 ELITE MGB® Kit
Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTSG07PLD190

P190 10¹, P190 10², P190 10³, P190 10⁴, P190 10⁵: reacciones de P190 con los niveles de 10¹, 10², 10³, 10⁴ y 10⁵ copias/reacción del calibrador de ADN.

ABL S1 a ABL S6: Reacciones de ABL con las muestras analizadas.

ABL NC: Reacciones de ABL con el control negativo de amplificación.

ABL 10³, ABL 10⁴, ABL 10⁵: reacciones de ABL con los niveles de 10³, 10⁴ y 10⁵ copias/reacción del calibrador de ADN.

Seguindo las indicaciones de la documentación del instrumento, utilizar el software dedicado («Instrument > Thermal Cycler Protocol > Thermal Profile») para definir los parámetros del **ciclo térmico**:

- Añadir a la fase de amplificación (con la opción «Add Step») un paso para la **extensión a 72 °C**.

Nota: la adquisición de la fluorescencia («Instrument > Thermal Cycler Protocol > Settings > Data Collection») debe configurarse durante el **paso de hibridación a 56 °C**.

- Modificar el tiempo tal como se indica en la tabla «Ciclo térmico».
- Establecer el número de ciclos a **45**.
- Establecer el volumen de reacción a **30 µL**.

Ciclo térmico		
Fase	Temperatura	Tiempo
Retrotranscriptasa	50 °C	20 min
Desnaturalización inicial	94 °C	5 min
Amplificación y detección (45 ciclos)	94 °C	10 s
	56 °C (adquisición de fluorescencia)	30 s
	72 °C	15 s

Si se utiliza el **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument**, tener en cuenta lo siguiente:

Antes de iniciar la sesión, realizar los pasos siguientes conforme a las indicaciones de la documentación del instrumento:

- Encender el termociclador en tiempo real, encender el ordenador de control, abrir el software, abrir una sesión de cuantificación absoluta («absolute quantification») y configurar «Run mode: Fast 7500».
- Configurar (administrador del detector) el «detector» para la sonda P190 con el marcador («reporter») = «FAM» y el inhibidor («quencher») = «none» (no fluorescente) y asignarle el nombre «P190».
- Configurar (administrador de detectores) el detector para la sonda de ABL con el marcador «FAM» y el inhibidor «none» (no fluorescente) y asignarle el nombre «ABL».
- Para cada pocillo empleado en la microplaca, configurar (en «Well Inspector») el «detector» (tipo de fluorescencia que se debe medir), la referencia pasiva («passive reference») o «CY5» (AP593 se usa en lugar de CY5, normalización de la fluorescencia medida) y el tipo de reacción (muestra, control negativo de amplificación, control positivo de amplificación o calibrador en una cantidad conocida). Añadir esta información a la **hoja de trabajo** que se adjunta al final de estas instrucciones de uso o imprimir la configuración de la microplaca. La **hoja de trabajo** debe seguirse estrictamente al verter la mezcla de reacción y las muestras en los pocillos.

Nota: con el fin de determinar el título de ARN en la muestra inicial, configurar dos series de reacciones con el calibrador «**Q - PCR Standard**» para obtener las **dos curvas de calibración**, una para P190 (10⁵, 10⁴, 10³, 10², 10¹ copias/reacción) y la otra para ABL (10⁵, 10⁴, 10³ copias/reacción).

Nota: para optimizar el uso del producto, la curva de calibración para P190 puede configurarse omitiendo el nivel de 10¹ copias/reacción de «Q - PCR Standard» y utilizando los otros cuatro niveles de «Q - PCR Standard» (10⁵, 10⁴, 10³, 10² copias/reacción), o bien utilizando el nivel de 10¹ copias/reacción de «Q - PCR Standard» y omitiendo el nivel de 10³ copias/reacción de «Q - PCR Standard» (10⁵, 10⁴, 10², 10¹ copias/reacción).

Nota: para la P190 diana y la ABL de control, calcular dos pocillos para cada una de las muestras que van a analizarse (S), dos pocillos para la amplificación del Negative Control (NC) y dos pocillos para cada calibrador «Q - PCR Standard» (5 o 4 puntos para P190 y 3 puntos para ABL).

BCR-ABL P190 ELITE MGB® Kit
Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTSG07PLD190

La configuración del análisis cuantitativo de 6 muestras se indica, a modo de ejemplo, en la sección anterior, donde se describe el procedimiento para el «**7300 Real Time PCR System**».

Seguindo las indicaciones de la documentación del instrumento, utilizar el software dedicado («Instrument > Thermal Cycler Protocol > Thermal Profile») para definir los parámetros del **ciclo térmico**:

- Añadir a la fase de amplificación (con la opción «Add Step») un **paso para la extensión a 72 °C**,

Nota: la adquisición de la fluorescencia («Instrument > Thermal Cycler Protocol > Settings > Data Collection») debe configurarse durante el **paso de hibridación a 56 °C**.

- Modificar el tiempo tal como se indica en la tabla «Ciclo térmico».
- Establecer el número de ciclos a **45**.
- Establecer el volumen de reacción a **30 µL**.

Ciclo térmico		
Fase	Temperatura	Tiempo
Retrotranscriptasa	50 °C	20 min
Desnaturalización inicial	94 °C	5 min
Amplificación y detección (45 ciclos)	94 °C	10 s
	56 °C (adquisición de fluorescencia)	30 s
	72 °C	15 s

Configuración de la amplificación

Para realizar en el área de extracción/preparación.

Antes de iniciar la sesión, seguir los pasos que se indican a continuación:

- Verificar la disponibilidad de los reactivos solicitados para cada muestra que vaya a analizarse (consulte la tabla de la página 10).
- Tomar y descongelar a temperatura ambiente (de +18 °C a +25 °C) las probetas que contienen las muestras de ARN que van a analizarse. Mezclar las probetas en una agitadora vortical durante 5 segundos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y conservar en un bloque frío.
- Tomar y descongelar las probetas de mezcla «**P190 PreMix**» (tapón morado) y de mezcla «**ABL PreMix**» (tapón neutro) que se necesitan para la sesión durante 30 minutos a temperatura ambiente (de +18 °C a +25 °C). Tener en cuenta que el contenido de cada probeta es suficiente para **50 reacciones**. Mezclar las probetas en una agitadora vortical durante 10 segundos tres veces, centrifugar el contenido durante 5 segundos y conservar en un bloque frío.
- Tomar y descongelar (a una temperatura comprendida entre +18 °C y +25 °C) las probetas de mezcla «**PCR MasterMix**» (tapón neutro) que se necesitan para la sesión durante 30 minutos a temperatura ambiente (a una temperatura comprendida entre +18 °C y +25 °C). Tener en cuenta que el contenido de cada probeta es suficiente para configurar **50 reacciones**. Mezclar las probetas en una agitadora vortical durante 10 segundos tres veces, centrifugar el contenido durante 5 segundos y conservar en un bloque frío.
- Extraer la mezcla «**RT EnzymeMix**» (tapón negro) que se necesita para la sesión teniendo en cuenta que el contenido de cada probeta es suficiente para configurar **50 reacciones**. Centrifugar durante 5 segundos para llevar el contenido al fondo y conservar en un bloque frío.

Nota: la mezcla «**RT EnzymeMix**» no debe exponerse a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos.

- Tomar y descongelar las probetas de «**P190-ABL Q-PCR Standard**» que se necesitan para la sesión (**para sendas reacciones de P190 y de ABL**) durante 30 minutos a temperatura ambiente (de +18 °C a +25 °C). Tener en cuenta que el contenido de cada probeta es suficiente para configurar **12 reacciones**. Mezclar las probetas en una agitadora vortical durante 10 segundos tres veces, centrifugar el contenido durante 5 segundos y conservar en un bloque frío.
- Tomar la **microplaca de amplificación** que se utilizará durante la sesión, manipulándola con guantes sin talco y teniendo cuidado de no dañar los pocillos.
- Tomar la **placa de sellado de amplificación** que se usará durante la sesión, manipulándola con guantes sin talco y teniendo cuidado de no dañarla.
- Preparar dos probetas de 1,5 mL de polipropileno estéril (no incluidas en el volumen de suministro del producto), una para la mezcla completa de reacción de **P190** y la otra, para la mezcla completa de reacción de **ABL** y, después, marcarlas de forma identificable con un rotulador permanente.


 Biog. Ladrá Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

BCR-ABL P190 ELITE MGB® Kit

Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

REF RTSG07PLD190

- Preparar dos mezclas completas de reacción, una para **P190** y la otra, para **ABL**, utilizando los tres componentes incluidos en el volumen de suministro del producto, basándose en el número de muestras que van a analizarse, tal como se describe en la tabla siguiente.

Nota: para preparar una reacción de retrotranscriptasa y de amplificación en tiempo real, se necesitan 5 µL de «PreMix», 15 µL de «PCR MasterMix» y 0,3 µL de «RT EnzymeMix». Los volúmenes indicados en la tabla son suficientes para configurar las reacciones de retrotranscriptasa y de amplificación en tiempo real que se necesitan para el número de muestras que deben analizarse, el control negativo y cuatro calibradores «Q-PCR Standard», por duplicado más un margen de seguridad adecuado.

Número de muestras	PreMix	PCR MasterMix	RT EnzymeMix
1	65 µL	195 µL	3,9 µL
2	75 µL	225 µL	4,5 µL
3	85 µL	255 µL	5,1 µL
4	95 µL	285 µL	5,7 µL
5	110 µL	330 µL	6,6 µL
6	120 µL	360 µL	7,2 µL
7	130 µL	390 µL	7,8 µL
8	140 µL	420 µL	8,4 µL
9	150 µL	450 µL	9,0 µL
10	160 µL	480 µL	9,6 µL
11	170 µL	510 µL	10,2 µL
12	180 µL	540 µL	10,8 µL
13	190 µL	570 µL	11,4 µL
14	205 µL	615 µL	12,3 µL
15	215 µL	645 µL	12,9 µL
16	225 µL	675 µL	13,5 µL
17	235 µL	705 µL	14,1 µL
18	245 µL	735 µL	14,7 µL
19	255 µL	765 µL	15,3 µL

Mezclar las dos mezclas completas de reacción durante 10 segundos tres veces, centrifugar el contenido durante 5 segundos y conservar en un bloque frío.

Nota: las mezclas completas de reacción preparadas deben utilizarse en el transcurso de 1 hora. Las mezclas de reacción preparadas **no pueden** conservarse.

Configurar las **reacciones de P190 y de ABL** tal como se describe a continuación para conservar la **microplaca de amplificación** en un bloque frío (aprox. +5 °C).

- Pipetear de forma exacta **20 µL** de **mezcla completa de reacción «P190»** en el fondo de los pocillos de la **microplaca de amplificación «P190»**, tal como se ha establecido anteriormente en la **hoja de trabajo**. Evitar la formación de burbujas.
- Pipetear de forma exacta **20 µL** de **mezcla completa de reacción «ABL»** en el fondo de los pocillos de la **microplaca de amplificación «ABL»**, tal como se ha establecido anteriormente en la **hoja de trabajo**. Evitar la formación de burbujas.
- Pipetear de forma exacta **10 µL** de **extracto de ARN** en la mezcla completa de reacción desde la primera muestra en los dos pocillos correspondientes de «**P190**» y en los dos pocillos correspondientes de «**ABL**» de la **microplaca de amplificación**, tal como se ha establecido anteriormente en la **hoja de trabajo**. Mezclar bien la muestra pipeteando el **ARN extraído** en la mezcla completa de reacción tres veces. Evitar la formación de burbujas en el fondo del pocillo y en la superficie. Proceder de la misma forma con todas las demás muestras de **ARN extraído**.
- Pipetear de forma exacta **10 µL** de **agua de calidad para biología molecular** (no incluida en el volumen de suministro de este producto) en la mezcla completa de reacción en los dos pocillos correspondientes de «**P190**» y en los dos pocillos de correspondientes de «**ABL**» de la **microplaca de amplificación**, tal como se ha establecido anteriormente en la **hoja de trabajo**. Mezclar bien el pocillo del control negativo pipeteando el **agua de calidad para biología molecular** en la mezcla completa de reacción tres veces. Evitar la formación de burbujas en el fondo del pocillo y en la superficie.

BCR-ABL P190 ELITE MGB® Kit

Reactivos para la retrotranscriptasa de ARN y la amplificación en tiempo real de ADNc

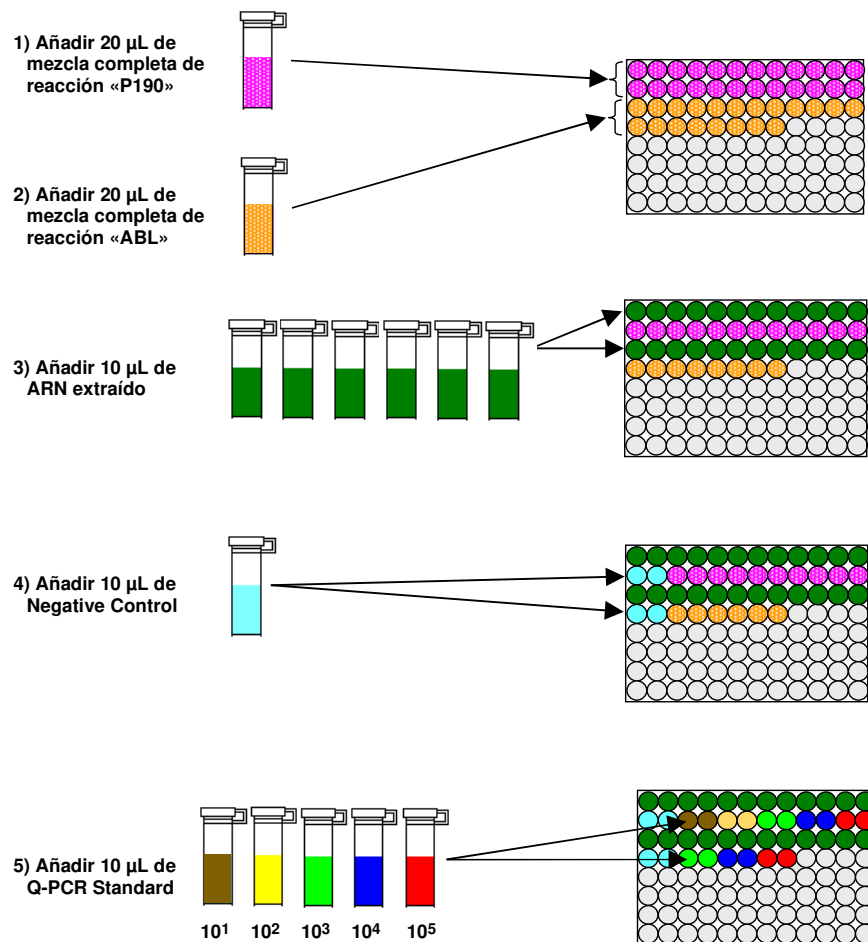
REF RTSG07PLD190

- Pipetear de forma exacta **10 µL** del primer calibrador «**P190-ABL Q-PCR Standard**» en la mezcla completa de reacción en los dos pocillos correspondientes de «**P190**» de la **microplaca de amplificación**, tal como se ha establecido previamente en la **hoja de trabajo**. Mezclar bien el pocillo del calibrador pipeteando el calibrador «**P190-ABL Q-PCR Standard**» en la mezcla completa de reacción tres veces. Evitar la formación de burbujas en el fondo del pocillo y en la superficie. Proceder de la misma manera con los demás calibradores «**P190-ABL Q-PCR Standard**».
- Pipetear de forma exacta **10 µL** del primer calibrador «**P190-ABL Q-PCR Standard**» en la mezcla completa de reacción en los dos pocillos correspondientes de «**ABL**» de la **microplaca de amplificación**, tal como se ha establecido previamente en la **hoja de trabajo**. Mezclar bien el pocillo del calibrador pipeteando el calibrador «**P190-ABL Q-PCR Standard**» en la mezcla completa de reacción tres veces. Evitar la formación de burbujas en el fondo del pocillo y en la superficie. Proceder de la misma manera con los demás calibradores «**P190-ABL Q-PCR Standard**».
- Sellar de forma exacta la **microplaca de amplificación** con la **placa de sellado de amplificación**.
- Transferir la **microplaca de amplificación** al termociclador en tiempo real en el área de amplificación/detección y comenzar el ciclo térmico para la amplificación guardando la configuración de la sesión con un nombre de archivo único e identificable (p. ej., «año-mes-día-BCR-ABL-P190-EGSpA»).

Nota: Al finalizar el ciclo térmico, la **microplaca de amplificación** que contiene los productos de reacción debe extraerse del instrumento y eliminarse sin contaminar el medio ambiente. Con el fin de evitar un derrame de los productos de reacción, la **placa de sellado de amplificación no debe retirarse de la microplaca de amplificación**.


 Bioq. Laura Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biológico S.A.

La siguiente imagen resume la configuración de las reacciones de retrotranscriptasa y de amplificación en tiempo real para P190 y ABL.



LMC
 Bíoq. Laura Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

Análisis de los resultados

Los valores de fluorescencia emitidos por la sonda específica de P190 (detector FAM «P190») en la reacción de amplificación de P190 y por la sonda específica de ABL (detector FAM «ABL») en la reacción de amplificación de ABL deben analizarse con el software del instrumento.

Antes de realizar el análisis, es necesario realizar las siguientes tareas siguiendo las indicaciones de la documentación del instrumento:

- Configurar manualmente «Results > Amplification plot > delta Rn vs Cycle» el rango de cálculo para el nivel de fondo de fluorescencia (punto de referencia) del ciclo 6 al ciclo 15.

Nota: en el caso de una muestra positiva con un alto título de P190 o de ABL, la fluorescencia FAM de la sonda específica de P190 o de ABL puede empezar a aumentar antes del 15º ciclo. En este caso, el rango de cálculo para el «punto de referencia» debe ajustarse para los detectores desde el ciclo 6 hasta el ciclo en el que la fluorescencia FAM de la muestra empieza a aumentar, según detecte el software del instrumento («Results > Component»).

- Configurar manualmente el **umbral** para el detector FAM «P190» a **0,1**.
- Configurar manualmente el **umbral** para el «ABL» del detector FAM a **0,1**.

Los valores de fluorescencia emitidos por las sondas específicas en las reacciones de amplificación y el valor **umbral** de fluorescencia permiten determinar el **ciclo umbral (Ct)**, es decir, el ciclo en el que la fluorescencia ha alcanzado el valor umbral.

Curva de calibración

En el caso de la reacción de amplificación de P190 y de ABL de los calibradores «Q - PCR Standard», los valores de **Ct** de **P190** y de **ABL** se utilizan para calcular las dos **curvas de calibración** («Results > Standard Curve») de la sesión de amplificación y para validar la amplificación y la detección tal como se muestra en la tabla siguiente:

Reacción de P190 - Q - PCR Standard 10s Detector FAM «P190»	Resultado del ensayo	Amplificación/Detección
Ct ≤25	POSITIVO	CORRECTA
Reacción de P190 - Curva de calibración Detector FAM «P190»	Rango de aceptación*	Amplificación/Detección
Coefficiente de determinación (R2)	0,980 ≤ R2 ≤ 1,000	CORRECTA
Reacción de ABL - PCR Standard 10s detector FAM «ABL»	Resultado del ensayo	Amplificación/Detección
Ct ≤25	POSITIVO	CORRECTA
Reacción de ABL - Curva de calibración Detector FAM «ABL»	Rango de aceptación	Amplificación/Detección
Coefficiente de determinación (R2)	0,990 ≤ R2 ≤ 1,000	CORRECTA

*Nota: Si la curva de calibración para P190 se ha configurado omitiendo el nivel de 10¹ copias/reacción del calibrador «Q - PCR Standard», el rango de aceptación del coeficiente de determinación será 0,990 ≤R2 ≤1,000.

Si el resultado de la reacción de amplificación de «Q - PCR Standard 10s» es **Ct >25** o **Ct Undetermined** o si el valor del **coeficiente de determinación (R2)** no se encuentra dentro de los límites, significa que el ADN diana no se ha detectado correctamente. En este caso, se han producido problemas durante el paso de amplificación o detección (preparación incorrecta de la mezcla completa de reacción, distribución incorrecta de la mezcla completa de reacción o de los calibradores, degradación de la sonda o de los calibradores, configuración incorrecta de la posición del calibrador o configuración incorrecta del ciclo térmico; consultar la sección «Problemas y soluciones»), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos. La sesión no es válida y debe repetirse a partir del paso de amplificación.

Negative Control

En el caso de la reacción de amplificación de P190 y de ABL del **Negative Control**, los valores de **Ct de P190 y ABL** («Results > Report») se utilizan para validar la amplificación y la detección, tal como se muestra en la tabla siguiente:

Reacción de P190 - Negative Control detector FAM «P190»	Resultado del ensayo	Amplificación/Detección
Ct Undetermined	NEGATIVO	CORRECTA

Reacción de ABL - Negative Control detector FAM «ABL»	Resultado del ensayo	Amplificación/Detección
Ct Undetermined	NEGATIVO	CORRECTA

Si el resultado de la reacción de amplificación del **Negative Control** es diferente de **Ct Undetermined** para P190 y ABL, significa que se ha detectado el ADN diana en la reacción de amplificación. En este caso, se han producido problemas durante la fase de amplificación (contaminación, preparación incorrecta de la mezcla completa de reacción, degradación de la sonda, configuración incorrecta de la posición del control negativo o configuración incorrecta del ciclo térmico; consultar apartado «Problemas y soluciones»), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos y a falsos positivos. La sesión no es válida y debe repetirse a partir del paso de amplificación.

Muestras

En el caso de las reacciones de amplificación de cada **muestra**, los valores de **Ct de P190** se utilizan para detectar y cuantificar la presencia del ARNm diana, mientras que los valores de **Ct de ABL** se utilizan para detectar y cuantificar la presencia de ARNm de control (validación de la extracción y normalización de la diana).

Nota: utilizar las herramientas de software de los instrumentos («Results > Amplification plot > delta Rn vs Cycle») para verificar que el valor de **Ct** se determina mediante un aumento rápido y uniforme de los valores de fluorescencia y no mediante picos aislados o aumentos de la señal de fondo.

Los valores de **Ct de P190** y de **Ct de ABL** en las reacciones de amplificación de cada **muestra** y las **curvas de calibración** de la sesión de amplificación se utilizan para calcular la **cantidad de ARNm** de P190 y de ABL presente en las reacciones de amplificación de las muestras.

Reacción de las muestras		
Detector FAM	ARNm	Cantidad de ARNm obtenido
Ct Determined	DETECTADO	Cantidad
Ct Undetermined	NO DETECTADO	0


 Bioq. Leora Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

Las **cantidades** de las reacciones de amplificación de **P190** y de **ABL** para los duplicados de cada **muestra** («Results > Report») se analizan tal como se describe en la tabla siguiente, que muestra los diferentes casos que pueden producirse en una sesión de amplificación, así como el enfoque recomendado para evaluar los datos:

Muestra	ARNm de P190	ARNm de ABL*	Cantidad calculada de ARNm de P190	Cantidad calculada de ARNm de ABL
1 ^{er} duplicado	DETECTADO	Cantidad ≥10.000	Cantidad total	Cantidad total
2 ^o duplicado	DETECTADO	Cantidad ≥10.000		
1 ^{er} duplicado	NO DETECTADO	Cantidad ≥10.000	0	Cantidad total
2 ^o duplicado	NO DETECTADO	Cantidad ≥10.000		
1 ^{er} duplicado	Cantidad <10 copias	Cantidad ≥10.000	Cantidad	Cantidad total
2 ^o duplicado	NO DETECTADO	Cantidad ≥10.000		
1 ^{er} duplicado	Cantidad >10 copias	Cantidad ≥10.000	Volver a analizar la muestra	
2 ^o duplicado	NO DETECTADO	Cantidad ≥10.000		
1 ^{er} duplicado	DETECTADO o NO DETECTADO	Cantidad <10000	Volver a analizar la muestra	
2 ^o duplicado	DETECTADO o NO DETECTADO	Cantidad ≥10.000		
1 ^{er} duplicado	DETECTADO o NO DETECTADO	Cantidad <10000	Volver a analizar la muestra	
2 ^o duplicado	DETECTADO o NO DETECTADO	Cantidad <10000		

* **Nota:** si el resultado de las reacciones de amplificación de **ABL** de una muestra es «**ABL Quantity < 10,000**» o «**ABL NOT DETECTED**», significa que el ARNm de ABL no se ha detectado correctamente. En este caso, se han producido problemas durante la fase de extracción (reducción del título de ARN, presencia de inhibidores o degradación del ARN extraído; consultar la sección «Problemas y soluciones»), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos y falsos negativos.

Nota: si el resultado de las reacciones de amplificación de una muestra es «**P190 NOT DETECTED**» y «**ABL Quantity <10,000**» o «**ABL NOT DETECTED**» para al menos uno de dos duplicados, el resultado del ensayo no es válido y la muestra no es idónea. La muestra debe repetirse primero en el ARN extraído y, si el problema se confirma, se debe comenzar de nuevo extrayendo una nueva muestra.

Nota: si el resultado de las reacciones de amplificación de una muestra es «**P190 DETECTED**» y «**ABL Quantity < 10,000**» o «**ABL NOT DETECTED**» para al menos uno de dos duplicados, el resultado del ensayo no es válido y la muestra es positiva para el ARNm de P190. No obstante, en este caso no es posible realizar el análisis cuantitativo. La muestra debe repetirse primero en el ARN extraído y, si el problema se confirma, se debe comenzar de nuevo extrayendo una nueva muestra.

Nota: si el resultado de la reacción de amplificación de una muestra es «**P190 NOT DETECTED**» y «**ABL Quantity ≥ 10,000**» para los dos duplicados, significa que el ARNm de P190 no se ha detectado en el ARN obtenido de la muestra, si bien no puede descartarse que el ARNm de P190 esté presente a un título inferior al límite de detección del producto (consultar la sección «Características de rendimiento»). En este caso, el resultado sería un falso negativo.

Nota: Si el resultado de la reacción de amplificación de una muestra es «**P190 Quantity > 10 copias**» para un duplicado y «**P190 NOT DETECTED**» para el otro duplicado y «**ABL Quantity ≥ 10,000**» para los dos duplicados, significa que el ARNm de P190 no se ha detectado correctamente en el ARN obtenido de la muestra. El resultado del ensayo es válido y la muestra es positiva para ARNm de P190. No obstante, en este caso no es posible realizar el análisis cuantitativo. La muestra debe repetirse primero en el ARN extraído y, si el problema se confirma, se debe comenzar de nuevo extrayendo una nueva muestra.

Si el resultado de las reacciones de amplificación de una muestra es «P190 DETECTED» y «ABL Quantity \geq 10,000», el resultado del ensayo es válido, la muestra es positiva para el ARNm de P190 y es posible llevar a cabo el análisis cuantitativo.

Las cantidades calculadas de ARNm de P190 y de ABL de cada muestra se utilizan para calcular el porcentaje de copias de ARNm de P190 normalizadas a copias de aRNm de ABL (% de P190) en la muestra inicial conforme a esta fórmula:

$$\% \text{ de P190} = \frac{\text{Cantidad calculada de ARNm de P190}}{\text{Cantidad calculada de ARNm de ABL}} \times 100$$

Los resultados obtenidos con este ensayo deben interpretarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Límite de detección

El límite de detección del ensayo para P190 con ARN total se determinó utilizando un panel de diluciones preparado a partir del material de referencia calibrado «IVS-0032 Clonal Control RNA» (InVivoScribe, EE. UU.). El panel constaba de ARN total extraído de una línea celular humana positiva para P190 de BCR-ABL (e1a2) y diluida en ARN total de una línea celular humana negativa para la translocación. Las diluciones utilizadas oscilaron entre $10^{-3.5}$ y $10^{-6.0}$ (0,5 log pasos de dilución). Cada muestra del panel se analizó en 24 duplicados (300 ng de ARN/reacción), realizando las reacciones de retrotranscriptasa y de amplificación con productos de ELITechGroup S.p.A. y utilizando el «7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument». El análisis estadístico se realizó mediante una regresión Probit. El límite de detección se definió como la dilución a la que la probabilidad de obtener un resultado positivo era del 95 %.

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Límite de detección con muestras de ARN total			
Intervalo de confianza del 95 %			
		Límite inferior	Límite superior
Positividad del 95 %	Dilución de $10^{-4,46}$	Dilución de $10^{-4,63}$	Dilución de $10^{-4,15}$

El límite de detección se definió a una dilución de $10^{-4,46}$, que corresponde a una concentración porcentual de P190 de entre el 0,0005 % (dilución de $10^{-4,5}$) y el 0,0081 % (dilución de $10^{-4,0}$). La cantidad media de ABL registrada en los análisis para la definición del límite de detección fue de aproximadamente 200.000 copias por reacción.

Rango de medición lineal

El rango de medición lineal de P190 de este ensayo con ARN total se determinó utilizando el panel del material de referencia calibrado «IVS-0032 Clonal Control RNA» (InVivoScribe, EE: UU.). El panel constaba de ARN total extraído de una línea celular humana positiva para P190 de BCR-ABL (e1a2) y diluida en ARN total de una línea celular humana negativa para la translocación. Las diluciones utilizadas oscilaron entre ARN puro positivo para P190 (ARN de P190) y $10^{-6,0}$ (1 log pasos de dilución). Cada muestra del panel se analizó en 24 duplicados (300 ng de ARN/reacción), realizando las reacciones de retrotranscriptasa y de amplificación con productos de ELITechGroup S.p.A. y utilizando el «7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument». El análisis estadístico se realizó mediante una regresión lineal.

El análisis de los datos obtenidos demostró que el ensayo presenta una respuesta lineal para los puntos del panel que abarcan desde ARN puro positivo para P190 hasta 10^{-4} con un coeficiente de correlación lineal superior a 0,99.

El límite superior de la medición lineal verificado en este análisis es el ARN puro positivo para P190, que corresponde a una concentración de P190 del 69,9 %.

El límite inferior de la medición lineal verificada en este análisis es la dilución de $10^{-4,0}$, igual al límite de detección y correspondiente a una concentración de P190 del 0,015 %.

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Rango de medición lineal con muestras de ARN total			
Muestra	Media de copias de P190/reacción	Media de log copias de P190/reacción	Desv. est.
ARN de P190	226.290,72	5,35	0,07
Dilución de $10^{-1,0}$	28.245,34	4,45	0,07
Dilución de $10^{-2,0}$	3.715,29	3,57	0,06
Dilución de $10^{-3,0}$	535,35	2,72	0,10
Dilución de $10^{-4,0}$	26,44	1,38	0,19

La cantidad media de ABL registrada en los análisis para la definición del rango de medición lineal fue de aproximadamente 250.000 copias por reacción.

La cantidad medida de ABL se verificó utilizando el material de referencia certificado europeo «ERM®-AD623» (IRMM, Bélgica). El material constaba de un panel de dilución (1,0 log pasos de dilución) de ADN plasmídico que contenía productos de amplificación de ABL. La concentración de ADN plasmídico se calculó mediante un método de PCR digital. Las diluciones utilizadas oscilaron entre 106 copias/μL y 101 copias/μL. Cada muestra del panel se analizó en 9 duplicados realizando la reacción de amplificación con los productos de ELITechGroup S.p.A. «BCR-ABL P190 ELITE MGB® Kit» y «BCR-ABL P190 ELITE Standard» y utilizando el «7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument».

El análisis de los datos, realizado conforme a las recomendaciones del Instituto de Materiales y Mediciones de Referencia (IRMM), demostró que los valores medidos del material de referencia certificado obtenidos con productos de ELITechGroup S.p.A. se encuentran dentro de la incertidumbre de medición para cantidades comprendidas entre 10^6 copias/μL y 10^1 copias/μL (equivalente a 10.000.000 copias por reacción y a 100 copias por reacción, utilizando 10 μL por reacción) y, por lo tanto, se ajustan al material de referencia certificado europeo «ERM®-AD623» (IRMM, Bélgica).

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Ajuste entre la medición de ABL y el material de referencia europeo «ERM®-AD623»		
Copias certificadas/μL	Copias medidas/μL	Desviación estándar
1.108.000	1.121.250	86.262
108.000	111.797	14.429
10.300	12.769	2.119
1.020	1.314	261
104	146	31
10	16	3

Eficacia de detección y cuantificación en los posibles polimorfismos

La sensibilidad analítica del ensayo, definida como la eficacia de detección y de cuantificación con los posibles polimorfismos, se evaluó comparando las secuencias con bases de datos de nucleótidos.

La verificación de las regiones de hibridación de los oligonucleótidos del cebador y de las sondas fluorescentes (P190 y ABL) mediante la alineación con la secuencia de los genes humanos P190 y ABL disponibles en la base de datos demostró su conservación y la ausencia de mutación reseñables.

Sensibilidad diagnóstica: confirmación de las muestras positivas

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, definida como confirmación de las muestras clínicas positivas, se evaluó analizando un panel de muestras clínicas positivas para P190.

La sensibilidad diagnóstica se evaluó utilizando 45 muestras de ARN archivadas extraídas de suspensiones linfomonocitos y de leucocitos obtenidas de pacientes con leucemia que habían dado un resultado positivo para P190 con un producto de amplificación en tiempo real. Las muestras se extrajeron con un método validado en el laboratorio de referencia. Las reacciones de retrotranscriptasa y de amplificación del ARN total extraído (300 ng/reacción) se realizaron con productos de ELITechGroup S.p.A. en un «7500 Fast Dx Real Time PCR Instrument».


 Bioq. Lidia Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Muestras	N	Positivas	Negativas
ARN de suspensiones de linfomonocitos y de leucocitos positivo para P190	45	41	4

Un total de 41 muestras se confirmaron positivas (se detectó P190), con una cantidad media de ABL de aproximadamente 115.000 copias/reacción. Cuando se analizaron con el producto de referencia, las cuatro muestras negativas diferentes del resto presentaron un título muy bajo (<3 copias por reacción) y solo uno de dos duplicados fue positivo.

En este análisis, la sensibilidad diagnóstica del ensayo fue del 91,1 %.

Especificidad diagnóstica: confirmación de las muestras negativas

La especificidad diagnóstica del ensayo, definida como confirmación de las muestras clínicas negativas, se evaluó analizando un panel de muestras clínicas negativas para P190.

La especificidad diagnóstica se evaluó utilizando 52 muestras de ARN archivadas extraídas de suspensiones de linfomonocitos y de leucocitos obtenidas de pacientes que habían dado un resultado negativo para P190 con un producto comercial para diagnóstico *in vitro* con marcado CE. Las muestras se extrajeron con un método validado en el laboratorio de referencia. Las reacciones de retrotranscriptasa y de amplificación del ARN total extraído (300 ng/reacción) se realizaron con productos de ELITechGroup S.p.A. en un «7500 Fast Dx Real Time PCR Instrument».

Los resultados finales se resumen en la tabla siguiente.

Muestras	N.	Positivas	Negativas
ARN de suspensiones de linfomonocitos y de leucocitos negativo para P190	52	12	40

En la primera parte, 40 muestras se confirmaron como negativas desde el punto de vista cualitativo (no se detectó P190), con una cantidad de ABL de aproximadamente 91.000 copias/reacción. Las doce muestras positivas diferentes del resto presentaron un título extremadamente bajo de P190 (aproximadamente 1 copia/reacción y solo en uno de los duplicados). Las publicaciones especializadas informan de la detección a un título bajo, de manera similar a una enfermedad residual mínima, de la variante P190 provocada por la translocación t(9,22) en muestras de sangre periférica de personas sanas (Biernaux C. *et al.* y Bose S. *et al.*).

Teniendo en cuenta estas pruebas, es posible afirmar que la especificidad diagnóstica del ensayo fue del 100 %.

Nota: Los datos y resultados completos de las pruebas realizadas para la evaluación de las características de rendimiento producto con las matrices y los instrumentos se recogen en la documentación técnica del producto «BCR-ABL P190 ELITe MGB® Kit», FTP RTSG07PLD190.

BIBLIOGRAFÍA

- J. Gabert *et al.* (2003) *Leukemia* 17: 2318 - 2357
- E. Beillard *et al.* (2003) *Leukemia* 17: 2474 - 2486
- H. Pfeifer *et al.* (2019) *Leukemia* 33: 1910–1922
- C. Biernaux *et al.* (1995) *Blood* 86: 3118 - 3122
- S. Bose *et al.* (1998) *Blood* 92: 3362 - 3367
- J. Song *et al.* (2011) *JMD* 13: 213 - 219
- E. A. Lukhtanov *et al.* (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30


 Biog. Ladrá Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biológico S.A.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilizar únicamente ARN extraído con este producto a partir de las siguientes muestras clínicas: suspensiones de linfomonocitos o de leucocitos de sangre periférica recogida en EDTA o en citrato y sangre de la médula ósea recogida en EDTA o en citrato.

No utilizar ARN extraído de muestras que contengan heparina, pues esta sustancia inhibe las reacciones de retrotranscriptasa y de amplificación de ácidos nucleicos y da lugar a resultados no válidos.

No utilizar ARN que esté contaminado con hemoglobina, dextrano, Ficoll®, etanol o 2-propanol, pues estas sustancias pueden inhibir las reacciones de retrotranscriptasa y de amplificación de ácidos nucleicos y dar lugar a resultados no válidos.

Una cantidad de ARN superior a 1,5 µg por reacción puede inhibir las reacciones de retrotranscriptasa y de amplificación de ácidos nucleicos.

No utilizar ARN con grandes cantidades de ADN genómico que puedan inhibir las reacciones de retrotranscriptasa y de amplificación de ácidos nucleicos y dar lugar a resultados no válidos.

No se dispone de datos sobre la inhibición provocada por antibióticos, antiviricos, antineoplásicos o inmunodepresores.

Los resultados obtenidos con este producto están sujetos a una correcta identificación, obtención, transporte, conservación y preparación de las muestras. Por lo tanto, con el fin de evitar resultados incorrectos, es necesario prestar especial atención durante estas fases y seguir estrictamente las instrucciones incluidas con los productos para la extracción de ácidos nucleicos.

Debido a su alta sensibilidad analítica, el ensayo de amplificación en tiempo real de ácidos nucleicos utilizado en este producto está sujeto a contaminación con las muestras clínicas que son positivas para P190, así como con los controles positivos y con los propios productos de la reacción de amplificación. La contaminación da lugar a resultados falsos positivos. El producto se ha diseñado para reducir la contaminación. No obstante, este fenómeno solo puede evitarse siguiendo las prácticas correctas de laboratorio y cumpliendo de forma estricta las instrucciones incluidas en este manual.

Con el fin de evitar accidentes con consecuencias potencialmente graves para el usuario y otras personas, para utilizar este producto, se requiere personal debidamente formado y cualificado para procesar muestras biológicas potencialmente infecciosas o productos químicos clasificados como peligrosos.

Con el fin de evitar accidentes con consecuencias potencialmente graves para el usuario y otras personas, este producto requiere el uso de ropa de trabajo y áreas que sean adecuadas para procesar muestras biológicas potencialmente infecciosas o productos químicos clasificados como peligrosos.

Con el fin de evitar resultados incorrectos, este producto debe ser manipulado por personal debidamente formado y cualificado en técnicas de biología molecular, como la extracción, la retrotranscriptasa, la amplificación y la detección de ácidos nucleicos.

Con el fin de evitar resultados falsos positivos, es necesario disponer de áreas independientes para la extracción/preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación/detección de los productos de amplificación.

Con el fin de evitar resultados falsos positivos, este producto requiere el uso de ropa de trabajo e instrumentos especiales para la extracción/preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación/detección de los productos de amplificación.

Debido a las diferencias inherentes que existen entre las distintas tecnologías, se recomienda a los usuarios realizar estudios de relación entre los diversos métodos para evaluar dichas diferencias antes de pasar a una nueva tecnología.

Un resultado negativo obtenido con este producto significa que no se ha detectado ARNm de P190 en la reacción de retrotranscriptasa del ARN extraído de la muestra, si bien no puede descartarse que el ARNm de P190 esté presente a un título inferior al límite de detección del producto (consultar la sección «Características de rendimiento»). En este caso, el resultado puede ser un falso negativo.

En ocasiones, los resultados obtenidos con este producto pueden ser «no válidos» debido a una detección incorrecta de ARNm de ABL, por lo que pueden necesitar un nuevo análisis a partir del paso de extracción y, en consecuencia, dar lugar a retrasos en la obtención de los resultados definitivos.

Los posibles polimorfismos en las regiones del genoma del paciente cubierto por los cebadores y las sondas del producto pueden afectar negativamente a la detección y la cuantificación del ARNm de P190 y del ARNm de ABL.

Como en cualquier producto sanitario para diagnóstico, los resultados obtenidos con este producto deben interpretarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

Como en cualquier producto sanitario para diagnóstico, existe un riesgo residual de obtener con él resultados no válidos, falsos positivos y falsos negativos. Este riesgo residual no puede eliminarse ni reducirse aún más. En determinadas situaciones, el riesgo residual puede hacer que se tomen decisiones incorrectas, con consecuencias potencialmente graves para el paciente.

PROBLEMAS Y SOLUCIONES

No se ha detectado la diana en las reacciones del calibrador «Q - PCR Standard» ni en el Positive Control o el coeficiente de determinación de la curva de calibración no es válido

Posibles causas	Soluciones
Preparación incorrecta de la mezcla completa de reacción.	Revisar los volúmenes de reactivos distribuidos durante la preparación de la mezcla completa de reacción.
Distribución incorrecta en los pocillos de la microplaca.	Prestar atención al distribuir los reactivos en los pocillos de la microplaca y seguir las instrucciones de la hoja de trabajo. Revisar los volúmenes de la mezcla de reacción distribuida. Revisar los volúmenes del calibrador distribuido.
Configuración incorrecta de la sesión en el ELITe InGenius	Comprobar la posición de la mezcla de reacción, la del control positivo o la de los calibradores. Comprobar el volumen de la mezcla de reacción, el del control positivo y el de los calibradores.
Degradación de la sonda.	Utilizar una nueva alícuota de PreMix.
Degradación de la mezcla «PCR MasterMix».	Utilizar una nueva alícuota de la mezcla «PCR MasterMix».
Degradación del Positive Control o del calibrador.	Utilizar una nueva alícuota de calibrador o de control positivo.
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la configuración de las posiciones para las reacciones del calibrador en el instrumento. Comprobar la configuración del ciclo térmico en el instrumento.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Se ha detectado la diana detectada en la reacción del Negative Control

Posibles causas	Soluciones
Distribución incorrecta en los pocillos de la microplaca.	Evitar derramar el contenido de la probeta de la muestra. Cambiar siempre las puntas entre una muestra y otra. Distribuir con cuidado las muestras, el control negativo y los calibradores en los pocillos de la microplaca y seguir las instrucciones de la hoja de trabajo.
Configuración incorrecta de la sesión en el ELITe InGenius	Comprobar la posición de la mezcla de reacción o la del control negativo. Comprobar el volumen de la mezcla de reacción o el del control negativo.
Error al configurar el instrumento.	Comprobar la configuración de las posiciones de las muestras, del control negativo y de los calibradores en el instrumento.
Sellado incorrecto de la microplaca.	Proceder con cuidado al sellar la microplaca.
Contaminación del agua de calidad para biología molecular.	Usar una nueva porción de agua.
Contaminación de la mezcla completa de reacción.	Utilizar una nueva alícuota de la mezcla completa de reacción.
Contaminación del área de extracción/preparación para las reacciones de amplificación.	Limpiar las superficies y los instrumentos con detergentes acuosos, lavar las batas de laboratorio y sustituir las probetas y las puntas utilizadas.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Se ha obtenido un perfil de amplificación inesperado de la diana o no se ha detectado la diana en la reacción de la muestra

Posibles causas	Soluciones
Preparación incorrecta de la mezcla completa de reacción.	Revisar los volúmenes de reactivos distribuidos durante la preparación de la mezcla completa de reacción; verificar que la mezcla «RT EnzymeMix» se haya añadido a la mezcla completa de reacción.
Distribución incorrecta en los pocillos de la microplaca.	Evitar derramar el contenido de la probeta de la muestra. Cambiar siempre las puntas entre una muestra y otra. Distribuir con cuidado las muestras en los pocillos de la microplaca y seguir las instrucciones de la hoja de trabajo.
Configuración incorrecta de la sesión en el ELITe InGenius	Comprobar la posición de la mezcla de reacción o la de las muestras. Revisar los volúmenes de la mezcla de reacción o de las muestras.
Inhibición debido a sustancias interferentes con las muestras.	Repetir la amplificación con una dilución de 1:2 en agua de calidad para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only». Repetir la extracción y la amplificación de la muestra, realizando un paso de lavado adicional del sedimento de leucocitos para eliminar todos los eritrocitos antes de la lisis.
Degradación de la mezcla «RT EnzymeMix».	Utilizar una nueva alícuota de la mezcla «RT EnzymeMix».
Problemas durante el almacenamiento de los reactivos.	Asegurarse de que la mezcla «RT EnzymeMix» no se haya expuesto a temperaturas superiores a -20°C durante más de 10 minutos. Asegurarse de que la mezcla completa de reacción no se haya expuesto a temperatura ambiente durante más de 30 minutos.
Problemas durante la extracción.	Verificar la calidad y la concentración del ARN extraído.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Fluorescencia de fondo irregular o alto en las reacciones












Posibles causas	Soluciones
Distribución incorrecta de la muestra.	Mezclar con cuidado las muestras, el control negativo y los calibradores en la mezcla completa de reacción, pipeteando tres veces. Evitar la formación de burbujas en el fondo del pocillo y en la superficie.
Error de configuración del punto de referencia.	Configurar el rango de cálculo del punto de referencia entre los ciclos en los que la fluorescencia de fondo ya se ha estabilizado (comprobar los datos de «Results» o «Component») y la fluorescencia de la señal no ha empezado aún a aumentar, p. ej., del ciclo 6 al ciclo 15. Utilizar el cálculo automático del punto de referencia configurando la opción «Auto Baseline».


 Bioq. Laura Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Bidiagnóstico S.A.

Error 30103 en el ELITe InGenius	
Posibles causas	Soluciones
Concentración demasiado alta de la diana en la muestra.	Si se observa una amplificación notable en el gráfico de PCR, proceder de la manera siguiente: - Repetir la amplificación con una dilución de 1:10 en agua de calidad para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only» o - Repetir la extracción con una dilución de 1:10 en agua de calidad para biología molecular de la muestra extraída en una sesión en el modo de procesamiento «Extract + PCR».


 Bioq. Ladrá Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

SÍMBOLOS

-  Número de catálogo
-  Límite superior de temperatura
-  Código de lote
-  Fecha de caducidad (último día del mes)
-  Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*
-  Cumple los requisitos de la Directiva 98/79/CE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*.
-  Contenido suficiente para «N» análisis.
-  Atención: Consúltense las instrucciones de uso.
-  Contenido.
-  Manténgase fuera de la luz del sol
-  Fabricante

AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

Este producto contiene reactivos fabricados por Life Technologies Corporation, que se venden conforme a acuerdos de licencia entre ELITechGroup S.p.A. y sus afiliadas y Life Technologies Corporation. La compra de este producto incluye derechos limitados y no transferibles para usar únicamente esta cantidad de producto exclusivamente para las actividades del comprador directamente relacionadas con el diagnóstico humano. Para obtener información sobre la compra de una licencia de este producto para fines distintos de los establecidos anteriormente, contactar con Licensing Department, Life Technologies Corporation, 5781 Van Allen Way, Carlsbad, CA 92008. Teléfono: +1 (760) 603-7200. Fax: +1 (760) 602-6500. Correo electrónico: outlicensing@thermofisher.com.

Los reactivos de detección ELITe® MGB están cubiertos por una o varias patentes de EE. UU, 6,127,121, 6,485,906, 6,660,845, 6,699,975, 6,727,356, 6,790,945, 6,949,367, 6,972,328, 7,045,610, 7,319,022, 7,368,549, 7,381,818, 7,662,942, 7,671,218, 7,715,989, 7,723,038, 7,759,126, 7,767,834, 7,897,736, 8,008,522, 8,067,177, 8,163,910, 8,389,745, 8,969,003, 8,980,855, 9,056,887, 9,085,800, 9,169,256, así como por patentes europeas 0819133, 1068358, 1144429, 1232157, 1261616, 1430147, 1781675, 1789587, 1975256, 2714939 y por solicitudes de patentes pendientes en la actualidad.

Esta licencia limitada permite a la persona, o a la entidad legal a la que se ha suministrado el producto, utilizar este producto y los datos generados con el uso de este exclusivamente para el diagnóstico humano. Ni ELITechGroup S.p.A. ni sus licenciatarios conceden ninguna otra licencia, expresa o implícita, para cualquier otro propósito.

«ELITe MGB®» y el logotipo de «ELITe MGB®» son marcas registradas en la Unión Europea.
 TRI Reagent® es una marca registrada de Molecular Research Center, Inc.
 Ficol® es una marca registrada de GE Healthcare Bio-Sciences AB.
 Maxwell® 16 es una marca registrada de Promega Corporation.



This document is a simplified version of the official instruction for use. Please refer to the complete document before use: www.elitechgroup.com
This document is available only in English.

A. Intended use

The «BCR-ABL P190 ELITE MGB® Kit» product is a qualitative and quantitative, reverse transcription and amplification of nucleic acids assay for the detection of the mRNA of the BCR-ABL rearrangement, t(9;22) translocation, Philadelphia chromosome, variant P190 (P190) and for the quantification of the mRNA of P190 compared with the mRNA of the gene codifying the kinase protein Abelson (ABL). The assay is CE-IVD validated in combination with the instrument **ELITE InGenius®**.

B. Amplified sequence





Target	Gene	Fluorophore
Control	BCR-ABL (variant P190 e1a2)	FAM
	ABL (exons a2a3)	FAM

C. Validated matrix

- › **PBL isolated by buffycoat***

*Lympho-monocyte and/or leukocyte suspensions must be extracted from buffy coat from Peripheral Blood matrix

D. Kit content

P190 PreMix	ABL PreMix	PCR Master Mix	RT Enzyme Mix*
			
1 tube of 270 µL 36 reactions 6 freeze-thaw cycles PURPLE CAP	1 tube of 270 µL 36 reactions 6 freeze-thaw cycles NEUTRAL CAP	2 tubes of 820 µL 36 reactions 6 freeze-thaw cycles per tube NEUTRAL CAP	2 tubes of 20 µL 36 reactions 6 freeze-thaw cycles per tube BLACK CAP

- › Maximum shelf-life: 24 months
- › 18 determinations in duplicate
- › Storage Temperature: -20°C

* The RT EnzymeMix must not be exposed to temperatures higher than -20 °C for more than 10 minutes

E. Material required not provided in the kit

- › **ELITE InGenius instrument:** INT030
- › **ELITE InGenius SP RNA:** INT034SPRNA
- › **ELITE InGenius DNase I:** INT034DNASE
- › **Dnase Tube Adapter Kit:** G6431-000
- › **Cell Lysis Solution Promega*:** A7933
- › **RNA Lysis Buffer Promega*:** Z3051
- › **Thioglycerol Promega*:** A208B-C
- › **ELITE InGenius PCR Cassette:** INT035PCR
- › **ELITE InGenius SP200 Consumable Set:** INT032CS
- › **BCR-ABL P190 - ELITE Positive Control:** CTRG07PLD190
- › **BCR-ABL P190 ELITE Standard:** STDG07PLD190
- › **ELITE InGenius Waste Box:** F2102-000
- › **300 µL Filter Tips Axygen:** TF-350-L-R-S
- › **2 mL Sarstedt tube :** 72.694.005

* or equivalent

F. ELITE InGenius protocol

- | | | | |
|----------------------------|------------------------|----------------------------|---------|
| › Sample volume | 200 µL | › Report unitage | %P190 |
| › Total eluate volume | 100 µL | › Frequency of controls | 15 days |
| › PCR eluate input volume | 10 µL for each PCR mix | › Frequency of calibration | 30 days |
| › BCR-ABL Q-PCR Mix volume | 20 µL for each PCR mix | | |

G. Sample pre-treatment

The sample need a blood pre-treatment to separate leukocyte by buffy-coat isolation, according to laboratory use or referring the indications shown in the “Samples and Controls” paragraph of the instruction for use.

H. Procedure

For the Calibration follow the table below:

Target	Number of Samples	PreMix	PCR MasterMix	RT EnzymeMix
P190	5	30 µL	90 µL	0.9 µL
ABL	3	20 µL	60 µL	0.6 µL

For Controls and samples follow the table below:

Number of Samples	P190 or ABL PreMix	PCR MasterMix	RT Enzyme Mix
1	15 µL	45 µL	0.5 µL
2	25 µL	75 µL	0.8 µL
3	40 µL	120 µL	1.2 µL

The complete reaction mixtures should be used within 5 hours when kept on board in the refrigerated block. This time allows to carry out 1 working session of 3.5 hours and to start a second working session. It's important to mix them between the runs. The complete reaction mixtures **cannot be stored**.

I. Performance

Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity	Diagnostic Specificity
(PBL) Peripheral Blood Leukocyte	0.0032%	100% 24/24*	96.7% 29/30*

*confirmed samples/ tested samples

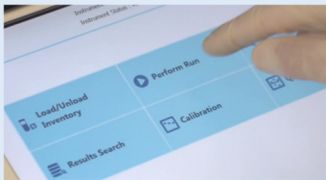
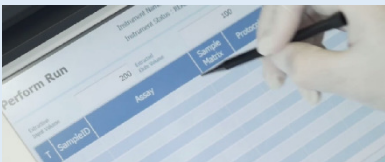

J. Procedures

The user is guided step-by-step by the ELITE InGenius software to prepare the run. All the steps: extraction, reverse-transcription, amplification and result interpretation are automatically performed. Three operational modes are available: complete run, or extraction only, or PCR only.

Before analysis

<p>1. Switch on ELITE InGenius Identification with username and password Select the mode "Closed" or "Open"</p>	<p>Verify calibrators: BCR-ABL P190 Q-PCR Standard in the "Calibration menu". Verify controls: BCR-ABL P190 pos. and neg. controls in the "Control menu" NB: Both have been run, approved and not expired</p>	<p>2. Thaw all the reagents and prepare 2 complete reaction mixture (P190 and ABL Mix) by adding into the dedicated 2 mL tube the calculated volumes of the three components for each Mix. Mix by vortexing at low speed for 10 seconds three times, centrifuge the tube for 5 seconds The complete reaction mixture should be used within 5 hours when kept on board in the refrigerated block</p>
--	---	--

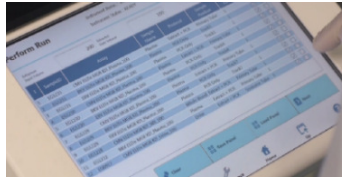
Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

<p>1. Select "Perform Run" on the touch screen</p> 	<p>2. Verify the extraction volumes. Input: "200 µL", eluate: "100 µL"</p> 	<p>3. Scan the sample barcodes with handheld barcode reader or type the sample ID</p> 
---	---	--

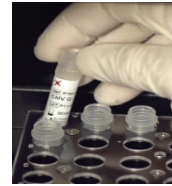
4. Select the "Assay protocol BCR-ABL P190 ELITE_PBL_200_100"



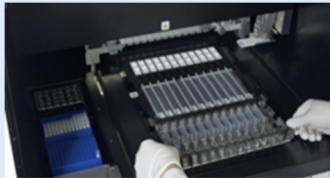
5. Select the sample position: sonication tube



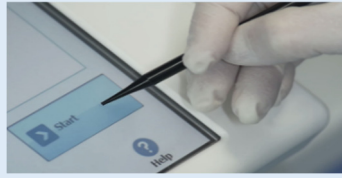
6. Load the complete reaction mixture on the "Inventory Block"



7. Load: PCR cassette, the ELITE InGenius SP RNA extraction cartridges, the ELITE InGenius DNase I and all the required consumables



8. Close the door Start the run



9. View, approve and store the results



Procedure 2 - PCR only

- 1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above

5. Select the protocol "PCR only" and set the sample position "Elution tube"

6. Load the extracted nucleic acid tubes in the rack n°4

7. Load the PCR cassette rack Load the complete reaction mixture in the inventory block

8. Close the door Start the run

9. View, approve and store the results

Procedure 3 - Extraction only

- 1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above

5. Select the protocol "Extraction Only" and set the sample position: sonication tube

6. Load: the ELITE InGenius SP RNA extraction cartridges, the ELITE InGenius DNase I and all the required consumables

7. Close the door Start the run

8. Archive the eluate sample


 Bioq. Lúcia Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

BCR-ABL P190 ELITE MGB® Kit used with ABI PCR instrument

Code: RTSG07PLD190



This document is a simplified version of the official instruction for use. Please refer to the complete document before use: www.elitechgroup.com
This document is available only in English.

A. Intended use

The **BCR-ABL P190 ELITE MGB Kit** is a qualitative and quantitative, reverse transcription and amplification of nucleic acids assay for the detection of the mRNA of the BCR-ABL rearrangement, t(9;22) translocation, *Philadelphia* chromosome, variant P190 (P190) and for the quantification of the mRNA of P190 compared with the mRNA of the gene codifying the kinase protein Abelson (ABL). The assay is CE-IVD validated in combination with ABI PCR thermal cyclers (Thermo-Fisher) and laboratory validated extraction system such as the «Maxwell® CSC» (Promega) automatic extraction system or other equivalent products.





Amplified sequence

Target	Gene	Fluorophore
Internal Control	BCR-ABL rearrangement (variant P190 e1a2)	FAM
	ABL (exons a2a3)	FAM

B. Validated matrix

- › Peripheral blood collected in EDTA or sodium citrate or bone marrow *
- › *Lympho-monocyte and/or leukocyte suspensions must be extracted from matrices mentioned above.

C. Kit content

P190 PreMix	ABL PreMix	PCR Master Mix	RT Enzyme Mix*
			
1 tube of 270 µL 50 reactions 6 freeze-thaw cycles PURPLE CAP	1 tube of 270 µL 50 reactions 6 freeze-thaw cycles NEUTRAL CAP	2 tubes of 820 µL 50 reactions 6 freeze-thaw cycles per tube NEUTRAL CAP	2 tubes of 20 µL 50 reactions 6 freeze-thaw cycles per tube CAP with BLACK INSERT

- › Maximum shelf-life: 24 months
25 reactions in duplicate
- › Storage Temperature: -20°C

* The RT Enzyme Mix must not be exposed to temperatures higher than -20 °C for more than 10 minutes

D. Material required not provided in the kit

- › Maxwell® CSC: AS6000
- › 7500 Fast Dx, 7300 and 7900 PCR Instrument
- › BCR-ABL P190 ELITE Standard: STDG07PLD190
- › BCR-ABL P190 - ELITE Positive Control: CTRG07PLD190
- › Molecular biology grade water

E. Performance

System	Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity	Diagnostic Specificity
Maxwell - ABI	Peripheral blood or bone marrow	0,0015% P190% 10 ^{-4.5} Dilution	91.1% (41/45)*	100% (40/40)*

*confirmed samples/ tested samples

Bioq. Laura Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

F. Procedure

The procedure below summarizes the main steps of the sample analysis with conventional PCR workflow: validated extraction systems, PCR instrument settings, PCR set-up and result interpretation.

Complete reaction mixtures reconstitution

- › Thaw P190 PreMix and ABL PreMix, PCR MasterMix, vortex 10 sec three times, spin down 5 sec
- › RT Enzyme Mix should not be exposed to T° > -20°C more than 10min. Gently shake, spin down 5 sec
- › Prepare two 1.5 ml tube, one for the complete reaction mixture of P190 and the other for complete reaction mixture ABL
- › Calculate the required volume of the 3 components for each complete reaction mixture

Note: the volumes indicated in the table are sufficient for the set up of the reactions for reverse transcription and real time amplification required for the number of samples to be tested, negative control and four Q-PCR Standards, in duplicate plus an adequate safety margin.

Samples	PreMix	PCR MasterMix	RT Enzyme Mix
1	65 µL	195 µL	3.9 µL
2	75 µL	225 µL	4.5 µL
3	85 µL	255 µL	5.1 µL
4	95 µL	285 µL	5.7 µL
5	110 µL	330 µL	6.6 µL
6	120 µL	360 µL	7.2 µL
7	130 µL	390 µL	7.8 µL
8	140 µL	420 µL	8.4 µL
9	150 µL	450 µL	9.0 µL
10	160 µL	480 µL	9.6 µL
11	170 µL	510 µL	10.2 µL
12	180 µL	540 µL	10.8 µL
13	190 µL	570 µL	11.4 µL
14	205 µL	615 µL	12.3 µL
15	215 µL	645 µL	12.9 µL
16	225 µL	675 µL	13.5 µL
17	235 µL	705 µL	14.1 µL
18	245 µL	735 µL	14.7 µL
19	255 µL	765 µL	15.3 µL

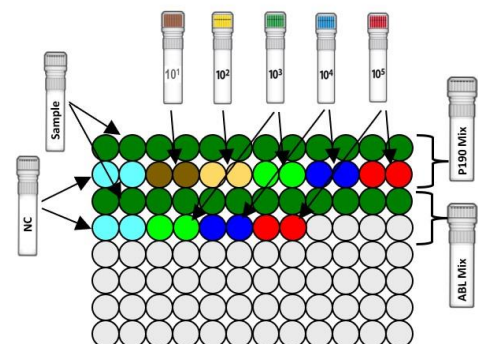
Amplification - Settings of 7500 Fast Dx and 7300, 7900 PCR instruments

1. Switch on the thermal-cycler
2. Set "P190" detector with "FAM" and quencher "none"
3. Set "ABL" detector with "FAM" and quencher "none"
4. Set passive reference as "Cy5" with 7500 Fast Dx and as "ROX" with 7300, 7900 instruments
5. Set up the thermal profile as indicated. Fluorescence acquisition must be set during hybridization step at 56°C

Stage	Temperature	Timing
Reverse Transcription	50°C	20 min
Initial Denaturation	94°C	5 min
Amplification and detection	94°C	10 sec
	56°C	30 sec
45 cycles	72°C	15 sec

Amplification - PCR Set-up

1. Thaw BCR-ABL P190 Q-PCR standard tubes
2. Mix gently and spin-down
3. Prepare the "P190" and "ABL" complete reaction mixtures by adding the required volume of three components as reported in table above. The complete reaction mixture should be used within 30 min and cannot be stored
4. Pipet **20 µL** of "P190" complete reaction mixture after reconstitution in the microplate wells in use
5. Pipet **20 µL** of "ABL" complete reaction mixture after reconstitution in the microplate wells in use
6. Add, **10 µL** of extracted RNA in sample wells, **10 µL** of molecular grade water in Negative Control well, and **10 µL** of the 5 Q-PCR Standards in standard curve wells
7. Extracted RNA samples, Q-PCR Standards and Negative Control must be pipetted in duplicate
8. Seal the microplate with the amplification sealing sheet
9. Transfer the microplate in the thermocycler and start




 Bioq. Ladrá Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

Amplification - Threshold for quantitative analysis

Instrument	P190 FAM	ABL FAM
7500 Fast Dx Real Time PCR	0.1	0.1
7300 and 7900 Real Time PCR	0.1	0.1

Interpretation - quantitative results

Detector FAM	mRNA	Quantity of mRNA
Ct determinated	Detected	Quantity
Ct Undetermined	Not detected	0

Sample	mRNA of P190	mRNA of ABL	Calculated Quantity of mRNA of P190	Calculated Quantity of mRNA of ABL
1 st replicate	DETECTED	Quantity \geq 10,000	Sum Quantity	Sum Quantity
2 nd replicate	DETECTED	Quantity \geq 10,000		
1 st replicate	NOT DETECTED	Quantity \geq 10,000	0	Sum Quantity
2 nd replicate	NOT DETECTED	Quantity \geq 10,000		
1 st replicate	Quantity < 10 copies	Quantity \geq 10,000	Quantity	Sum Quantity
2 nd replicate	NOT DETECTED	Quantity \geq 10,000		
1 st replicate	Quantity > 10 copies	Quantity \geq 10,000	Retest the sample	
2 nd replicate	NOT DETECTED	Quantity \geq 10,000		
1 st replicate	DETECTED or NOT DETECTED	Quantity < 10,000	Retest the sample	
2 nd replicate	DETECTED or NOT DETECTED	Quantity \geq 10,000		
1 st replicate	DETECTED or NOT DETECTED	Quantity < 10,000	Retest the sample	
2 nd replicate	DETECTED or NOT DETECTED	Quantity < 10,000		

Percentage of copies of P190 mRNA normalized to ABL mRNA copies (P190 %)

Detector FAM	mRNA	P190 %
P190 Ct determinated	Detected	$\frac{\text{Calculated Quantity of mRNA of P190}}{\text{Calculated Quantity of mRNA of ABL}} \times 100$
ABL Ct determinated	Detected (Quantity \geq 10,000)	


 Bioq. Laura Mercapide
 Directora Técnica/ Apoderada
 MP 6.108 - DNI 14.629.531
 Biodiagnóstico S.A.

HOJA DE TRABAJO

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												



ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALY

Offices: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E. mail: emd.support@elitechgroup.com
WEB site: www.elitechgroup.com

NOTICE of CHANGE dated 25/05/2022

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«BCR-ABL P190 ELITE Standard» Ref. STDG07PLD190

This new revision of the Instruction for Use (IFU) contains the following changes:

- *Extension of the use of the product in association with «ELITE InGenius®» instrument (REF INT030).*

Please contact the ELITechGroup staff at the following email address: emd.ifu@elitechgroup.com, to request the manual for a previous version of the Software.

PLEASE NOTE



LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT



THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT



CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT



LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT



A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT



DIESE FASSUNG DER GEBRAUCHSANLEITUNG IST KOMPATIBEL MIT DER VORHERIGEN VERSION DES TESTKITS

Bioq. Ladrá Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.



BCR-ABL P190 ELITe Standard
control de ADN plásmidico por análisis cuantitativo

REF STDG07PLD190

El producto permite **4 sesiones de análisis separadas** (cada sesión implica una reacción "P190" y una reacción "ABL" con cada **Q - PCR Standard**) en asociación con el sistema «**ELITE InGenius**», y **6 sesiones de análisis separadas** (cada sesión implica dos reacciones "P190" y dos reacciones "ABL" con cada **Q - PCR Standard**) en asociación con otros sistemas utilizando 10 µL para la reacción..

La concentración del estándar ha sido determinada espectrofotométricamente a través de la medición de la absorbancia de la preparación de ADN del plásmido y verificada con el material de referencia europeo "BCR-ABL pDNA Calibrant" (ERM® - AD623, IRMM, Bélgica).

BCR-ABL P190 ELITe Standard
control de ADN plásmidico por análisis cuantitativo

REF STDG07PLD190



ÍNDICE

USO PREVISTO

PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO
MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO
MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO
OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES
PROCEDIMIENTO
BIBLIOGRAFÍA
SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS

pág. 1
pág. 1
pág. 2
pág. 2
pág. 2
pág. 3
pág. 4
pág. 4
pág. 4

USO PREVISTO

El producto «**BCR-ABL P190 ELITe Standard**» se utiliza como control positivo y como ADN estándar de cantidad conocida para obtener la curva estándar en ensayos cuantitativos de transcripción inversa y amplificación en tiempo real de ácidos nucleicos para la **detección del cDNA del reordenamiento BCR-ABL, translocación t(9;22), cromosoma Philadelphia, variante P190 (P190)** y para la **cuantificación del cDNA de P190 en comparación con el ADNc del gen que codifica la proteína quinasa de Abelson (ABL)**. El producto debe utilizarse con el producto « **BCR-ABL P190 ELITe MGB® Kit**», fabricado por ELITechGroup S.p.A.

PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO

El producto suministra los **Q - PCR Standard**, cinco soluciones estabilizadas de plásmido de **título conocido**, dosificadas en **dos probetas cada una y listas para su uso**. Cada probeta contiene 160 µL de solución, suficiente para 4 sesiones en asociación con el sistema «**ELITE InGenius®**» y 3 sesiones en asociación con los otros sistemas validados..

El plásmido contiene una región del ADNc que se origina en el **reordenamiento BCR-ABL (variante P190 e1a2)** que está amplificada por la reacción **P190** y por la reacción de control **ABL**. La detección del ADN blanco durante la reacción de amplificación real time confirma su capacidad para identificar la presencia de ADNc de P190 y de ABL y permite calcular las curvas estándar.

MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de los riesgos
P190-ABL Q - PCR Standard 10 ⁵	solución de plásmido en probeta con tapón ROJO	2 x 160 µL	-
P190-ABL Q - PCR Standard 10 ⁴	solución de plásmido en probeta con tapón AZUL	2 x 160 µL	-
P190-ABL Q - PCR Standard 10 ³	solución de plásmido en probeta con tapón VERDE	2 x 160 µL	-
P190-ABL Q - PCR Standard 10 ²	solución de plásmido en probeta con tapón AMARILLO	2 x 160 µL	-
P190-ABL Q - PCR Standard 10 ¹	solución de plásmido en probeta con tapón MARRON	2 x 160 µL	-

MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin polvo descartables de látex o similares.
- Mezclador vortex.
- Microcentrifuga de mesa (12.000 - 14.000 RPM).
- Micropipetas y tips estériles con filtro para aerosol o de dispensación positiva (2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL).
- Agua bidestilada estéril.
- Termostato programable con sistema óptico de detección de la fluorescencia 7300 Real Time PCR System, 7900 Real-Time PCR System o 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument calibrado según las indicaciones del fabricante.

OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS

Los reactivos para la amplificación y las microplacas **no** están incluidos en este producto.

Para realizar estas fases analíticas se aconseja la utilización de producto principal «**BCR-ABL P190 ELITe MGB® Kit**» (ELITechGroup S.p.A., código RTSG07PLD190), que provee los componentes necesarios para la preparación de las mezclas de reacción "P190" y "ABL" para la transcripción inversa y para la amplificación real time.

En asociación con «**ELITE InGenius®**» (ELITechGroup S.p.A, ref. INT030) se requiere el uso del producto genérico «**ELITE InGenius® PCR Cassette**» (ELITechGroup S.p.A, ref. INT035PCR). Se trata de consumibles específicos para reacciones de PCR en tiempo real.

Si estuviera previsto el uso de un equipo 7300 Real-Time PCR System, se aconseja utilizar el producto genérico «**Q - PCR Microplates**» (ELITechGroup S.p.A., código RTSACC01) microplacas con pocillos de 0,2 mL y láminas adhesivas para la amplificación real time.

Si estuviera previsto el uso de un equipo 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument, se aconseja utilizar el producto genérico «**Q - PCR Microplates Fast**» (ELITechGroup S.p.A., código RTSACC02) microplacas con pocillos de 0,1 mL y láminas adhesivas para la amplificación real time.

Biq. Lidia Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto es para uso exclusivo *in vitro*.

Advertencias y precauciones generales

Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si pudiesen transmitir agentes infecciosos. Evitar el contacto directo con las muestras biológicas. No producir salpicaduras ni aerosol. El material que está en contacto con las muestras biológicas debe ser tratado con hipoclorito de sodio al 3% por al menos 30 minutos o bien tratado en autoclave a 121C° durante una hora antes de ser eliminado.

Manipular y eliminar todos los reactivos y todos los materiales utilizados para realizar la prueba como si fuesen potencialmente infecciosos. Evitar el contacto directo con los reactivos. No producir salpicaduras ni aerosol. Los residuos deben ser tratados y eliminados según normas de seguridad adecuadas. El material combustible monouso debe ser incinerado. Los residuos líquidos que contienen ácidos o bases deben ser neutralizados antes de la eliminación.

Usar indumentaria de protección y guantes adecuados, protegerse los ojos / la cara.

No pipetear con la boca ninguna solución.

No comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en el área de trabajo.

Lavarse bien las manos después del manejo de muestras y reactivos.

Eliminar los reactivos sobrantes y los residuos según las normas vigentes.

Leer atentamente todas las instrucciones provistas en el producto antes de realizar la prueba.

Respetar las instrucciones provistas en el producto durante la ejecución de la prueba.

Respetar la fecha de caducidad del producto.

Utilizar sólo los reactivos presentes en el producto y los aconsejados por el fabricante.

No usar reactivos que provengan de lotes diferentes.

No utilizar reactivos que provengan de productos de otros fabricantes.

Advertencias y precauciones en los procedimientos de biología molecular

Los procedimientos de biología molecular, como la extracción, la transcripción inversa, la amplificación y la detección de ácidos nucleicos, requieren personal competente e instruido para evitar el riesgo de resultados incorrectos, en particular a causa de la degradación de los ácidos nucleicos de las muestras o de la contaminación de las mismas por parte de productos de amplificación.

Es necesario disponer de áreas separadas para la extracción / preparación de las reacciones de amplificación o para la amplificación / detección de los productos de amplificación. Nunca introducir un producto de amplificación en el área de extracción / preparación de las reacciones de amplificación.

Es necesario disponer de batas, guantes e instrumentos destinados para la extracción / preparación de las reacciones de amplificación y para la amplificación / detección de productos de amplificación. Nunca transferir batas, guantes e instrumentos del área de amplificación / detección de productos de amplificación al área de extracción / preparación de las reacciones de amplificación.

Las muestras deben ser destinadas exclusivamente a este tipo de análisis. Las muestras deben ser manipuladas bajo una campana de flujo laminar. Las probetas que contengan muestras diferentes nunca deben ser abiertas al mismo tiempo. Las pipetas utilizadas para manipular las muestras deben ser destinadas sólo a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o usar tips con filtro para aerosol. Los tips utilizados deben ser estériles, sin la presencia de ADNasa y ARNasa, sin la presencia de ADN y ARN.

Los reactivos deben ser manipulados bajo campana de flujo laminar. Los reactivos necesarios para la amplificación deben ser preparados de manera tal que sean utilizados en una sola sesión. Las pipetas utilizadas para manipular los reactivos deben ser destinadas sólo a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o usar tips con filtro para aerosoles. Los tips utilizados deben ser estériles, sin la presencia de ADNasa y ARNasa, sin la presencia de ADN y ARN.

Los productos de amplificación deben ser manipulados en modo de limitar al máximo su dispersión en el ambiente para evitar contaminaciones. Las pipetas utilizadas para manipular los productos de amplificación deben ser destinadas sólo a este uso.

Advertencias y precauciones específicas para los componentes

El **Q - PCR Standard** puede ser congelado y descongelado como máximo **ocho veces**. Más ciclos de congelación y descongelación podrían causar una reducción del título.

El **Q - PCR Standard** puede mantenerse a bordo en «ELITE InGenius» hasta **cuatro sesiones de trabajo de dos horas cada una** (modo de ejecución "PCR Only").

PROCEDIMIENTO

El producto «BCR-ABL P190 ELITE Standard» debe ser usado con las mezclas de reacción "P190" y "ABL" obtenidos con el producto «BCR-ABL P190 ELITE MGB® Kit».

Antes de uso, extraer y descongelar por 30 minutos a temperatura ambiente (+18/25C°) las probetas de **P190-ABL Q - PCR Standard**. Agitar las probetas con vortex 10 segundos, centrifugarlas durante 5 segundos para obtener en el fondo el contenido y mantenerlas en hielo;

El **P190-ABL Q - PCR Standard** está listo para su uso, por lo tanto debe utilizarse agregándole **10 µL** directamente a la mezcla de reacción "P190" y **10 µL** directamente a la mezcla de reacción "ABL".







El procedimiento completo, las características de las prestaciones y las limitaciones del procedimiento del ensayo completo para la detección y cuantificación del ADNc de P190 y ABL se describen de manera detallada en el manual de instrucciones para el uso que se adjunta al producto «BCR-ABL P190 ELITE MGB® Kit».

Nota: El **P190-ABL Q - PCR Standard** puede ser congelado y descongelado un máximo de **ocho veces**. El **P190-ABL Q - PCR Standard** puede mantenerse a bordo en «ELITE InGenius» hasta **cuatro sesiones de trabajo de dos horas cada una** (modo de ejecución "PCR Only").

BIBLIOGRAFÍA

J. Gabert et al. (2003) *Leukemia* 17: 2318 - 2357
E. Beillard et al. (2003) *Leukemia* 17: 2474 - 2486

SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS

REF	Número de catálogo.
	Límite superior de temperatura.
LOT	Código de lote.
	Utilizar antes del último día del mes.
IVD	Dispositivo médico diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Conforme a los requisitos de la Directiva Europea 98/79/CE correspondiente a los dispositivos médicos diagnósticos <i>in vitro</i> .
	Contenido suficiente para "N" test.
	Atención, consultar las instrucciones de uso.
CONT	Contenido.
	Fabricante.


Blaž Ladrja Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

“ELITE MGB®”, el logotipo “ELITE MGB®” y “ELITE InGenius®” están registrados como marcas comerciales en la Unión Europea.



BCR-ABL P190 - ELITe Positive Control
control de ADN plásmidico por análisis cualitativo

REF CTRG07PLD190

MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación y etiquetado
P190-ABL - Positive Control	solución de plásmido tapa NEGRA	3 x 160 µL	-

BCR-ABL P190 - ELITe Positive Control
control positivo de ADN plásmidico para análisis cualitativo

REF CTRG07PLD190



ÍNDICE

USO PREVISTO	pág. 1
PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO	pág. 1
MATERIAL PROVISTO EN EL PRODUCTO	pág. 2
MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO	pág. 2
OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS	pág. 2
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	pág. 2
PROCEDIMIENTO	pág. 3
BIBLIOGRAFÍA	pág. 4
SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS	pág. 4

USO PREVISTO

El producto «**BCR-ABL P190 - ELITe Positive Control**» está destinado a utilizarse como control positivo en ensayos cualitativos de amplificación de ácidos nucleicos para la **detección del ADNc del reordenamiento BCR-ABL, translocación t(9;22), cromosoma Filadelfia, variante P190 (P190) y del ADNc del gen que codifica la proteína quinasa de Abelson (ABL)** mediante el producto «**BCR-ABL P190 ELITe MGB® Kit**» en asociación con el instrumento «**ELITe InGenius®**» (ELITechGroup S.p.A.).

PRESENTACIÓN DEL PRODUCTO

El producto suministra el **Positive Control**, una solución estabilizada de ADN plasmídico, alícuotada en **tres tubos de ensayo listos para usar**. Cada tubo de ensayo contiene 160 µl de solución, suficiente para 2 sesiones.

El ADN plasmídico una región del ADNc que se origina en el **reordenamiento BCR-ABL (variante P190 e1a2)**, que es amplificado por la reacción **P190** y por la reacción de control **ABL**. La detección del ADN diana como resultado del análisis con el producto «**BCR-ABL P190 ELITe MGB® Kit**» en asociación con el instrumento «**ELITe InGenius®**», atestigua la capacidad del sistema para detectar el ADNc de P190 y ABL.

El producto es suficiente para **6 sesiones analíticas separadas**, utilizando 10 µl para la reacción.

MATERIAL REQUERIDO NO PROVISTO EN EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin polvo descartables de nitrilo o similares.
- Mezclador vortex.
- Microcentrífuga de mesa (12.000 - 14.000 RPM).
- Micropipetas y tips estériles con filtro para aerosol o de dispensación positiva (2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL).
- Agua Grado Biología Molecular.

OTROS PRODUCTOS REQUERIDOS

Los reactivos para la amplificación y las microplacas **no** están incluidas en este producto.

Para realizar estas fases analíticas el uso del producto «**BCR-ABL P190 ELITe MGB® Kit**» (ELITechGroup S.p.A., código RTSG07PLD190) es requerido. El producto proporciona los componentes necesarios para la preparación de las mezclas de reacción "P190" y "ABL" para la transcripción inversa y la amplificación en tiempo real del ADNc por el método de un solo paso.

Para el análisis automático de la muestra, se requiere el instrumento «**ELITe InGenius®**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT030) junto con el protocolo de ensayo específico «**BCR-ABL P190 ELITe_PC**» (ELITechGroup S.p.A.), parámetros para la amplificación del control positivo.

El análisis automático de la muestra con el instrumento «**ELITe InGenius®**» también requiere los siguientes productos genéricos:

- cartuchos de amplificación «**ELITe InGenius® PCR Cassette**» (ELITechGroup S.p.A., ref. INT035PCR)
- puntas «**300 µL Filter Tips Axygen**» (Axygen BioScience Inc., CA, USA, ref. TF-350-L-R-S),
- cajas «**ELITe InGenius® Waste Box**» (ELITechGroup S.p.A., ref. F2102-000).

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto es para uso exclusivo *in vitro*.

Advertencias y precauciones generales

Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si pudiesen transmitir agentes infecciosos. Evitar el contacto directo con las muestras biológicas. No producir salpicaduras ni aerosol. El material que está en contacto con las muestras biológicas debe ser tratado con hipoclorito de sodio al 3% por al menos 30 minutos o bien tratado en autoclave a 121°C durante una hora antes de ser eliminado.

Manipular y eliminar todos los reactivos y todos los materiales utilizados para realizar la prueba como si fuesen potencialmente infecciosos. Evitar el contacto directo con los reactivos. No producir salpicaduras ni aerosol. Los residuos deben ser tratados y eliminados según normas de seguridad adecuadas. El material combustible monouso debe ser incinerado. Los residuos líquidos que contienen ácidos o bases deben ser neutralizados antes de la eliminación.

Bióq. Laura Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

Usar indumentaria de protección y guantes adecuados, protegerse los ojos / la cara.
No pipetear con la boca ninguna solución.
No comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en el área de trabajo.
Lavarse bien las manos después del manejo de muestras y reactivos.
Eliminar los reactivos sobrantes y los residuos según las normas vigentes.
Leer atentamente todas las instrucciones provistas en el producto antes de realizar la prueba.
Respetar las instrucciones provistas en el producto durante la ejecución de la prueba.
Respetar la fecha de caducidad del producto.
Utilizar sólo los reactivos presentes en el producto y los aconsejados por el fabricante.
No usar reactivos que provengan de lotes diferentes.
No utilizar reactivos que provengan de productos de otros fabricantes.

Advertencias y precauciones en los procedimientos de biología molecular

Para los procedimientos de biología molecular se requiere personal cualificado para evitar el riesgo de resultados incorrectos, especialmente debido a la degradación de los ácidos nucleicos de las muestras o la contaminación de las mismas con productos de amplificación.

Es necesario disponer de batas, guantes e instrumentos específicos para las sesiones de trabajo.

Las muestras deben ser adecuadas y destinadas exclusivamente a este tipo de análisis. Las muestras deben ser manipuladas bajo una campana de flujo laminar. Las pipetas utilizadas para manipular las muestras deben destinarse exclusivamente a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o utilizar puntas con filtro para aerosol. Las puntas utilizadas deben ser estériles, libres de ADNasa y ARNasa, ADN y ARN.

Los reactivos deben ser manipulados bajo campana de flujo laminar. Los reactivos necesarios para la amplificación deben ser preparados de manera tal que sean utilizados en una sola sesión. Las pipetas utilizadas para manipular los reactivos deben ser destinadas sólo a este uso. Las pipetas deben ser del tipo de dispensación positiva o usar tips con filtro para aerosoles. Los tips utilizados deben ser estériles, sin la presencia de ADNasa y ARNasa, sin la presencia de ADN y ARN.

Los cartuchos de PCR deben manipularse evitando la dispersión del producto de amplificación en el entorno para que no se produzcan contaminaciones de muestras y reactivos.

Advertencias y precauciones específicas para los componentes

El **Positive Control** debe almacenarse a -20 °C.

El **Positive Control** puede ser congelado y descongelado hasta un máximo de **cuatro veces**. Otros ciclos de congelación / descongelación podrían causar una pérdida de título.

El **Positive Control** puede dejarse a bordo en el instrumento «**ELITe InGenius**» hasta **dos sesiones de trabajo de tres horas cada una** (Extract + PCR" mode).

PROCEDIMIENTO

El producto «**BCR-ABL P190 - ELITe Positive Control**» debe ser usado con la mezcla completa de reactivo del producto «**BCR-ABL P190 ELITe MGB® Kit**».

Antes de usar, extraer y descongelar las probetas de **P190-ABL Positive Control**. Agitar delicadamente las probetas, centrifugarlas durante 5 segundos para obtener en el fondo el contenido y mantenerlas en hielo.

El **P190-ABL Positive Control** está listo para su uso: un volumen de **10 µL** se añade directamente a la mezcla de reacción completa "P190" por el instrumento dos veces y un volumen de **10 µL** se añade directamente a la mezcla de reacción completa "ABL" por el instrumento dos veces.

El procedimiento completo implica la preparación y ejecución de dos reacciones de transcripción inversa y amplificación en tiempo real por duplicado (2 reacciones para "P190" y 2 reacciones para "ABL") se describe detalladamente en las instrucciones de uso del producto «**BCR-ABL P190 ELITe MGB® Kit**».

Las características de rendimiento y las limitaciones del procedimiento del ensayo completo para la detección del ADNc de P190 y ABL se describen detalladamente en las instrucciones de uso del producto «**BCR-ABL P190 ELITe MGB® Kit**».






Nota: en asociación con el instrumento «**ELITe InGenius**», el resultado de la amplificación del control positivo será memorizado por el instrumento y utilizado para crear una tarjeta de control. Para cada lote de producto «**BCR-ABL P190 ELITe MGB® Kit**», se requiere una amplificación del control positivo, que expira después de **15 días**.

Nota: El **P190-ABL Positive Control** puede ser congelado y descongelado no más de **cuatro veces**. El **P190-ABL Positive Control** puede dejarse hasta **dos sesiones de trabajo de tres horas cada una** ("Extract + PCR" mode)..

BIBLIOGRAFÍA

J. Gabert et al. (2003) *Leukemia* 17: 2318 - 2357
E. Beillard et al. (2003) *Leukemia* 17: 2474 - 2486

SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS

REF	Número de catálogo.
	Límite superior de temperatura.
LOT	Código de lote.
	Utilizar antes del último día del mes.
IVD	Dispositivo médico diagnóstico <i>in vitro</i> .
CE	Conforme a los requisitos de la Directiva Europea 98/79/CE correspondiente a los dispositivos médicos diagnósticos <i>in vitro</i> .
	Contenido suficiente para "N" test.
	Atención, consultar las instrucciones de uso.
CONT	Contenido.
	Fabricante.


Biolq. Ladrá Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

ELITe MGB®, el logotipo ELITe MGB® y ELITe InGenius® están registrados como marcas registradas en la Unión Europea.

PROYECTO DE RÓTULO EXTERNO

RÓTULO ORIGINAL DEL PRODUCTO

REF RTSG07PLD190
BCR-ABL P190 ELITe MGB® Kit

LOT U0316AJ 2017/08

CE IVD -20°C ⚠ Σ 50+50

CONT

RTSG07PLD190	P190 PreMix	1 x 270 µL
RTS003-PCR	PCR MasterMix	2 x 820 µL
RTS003-RT	RT EnzymeMix	2 x 20 µL
RTSG07PLDABL	ABL PreMix	1 x 270 µL

RTSG07PLD190-Et.1, Rev.01

ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185 - 10149 Torino - ITALY
Tel. +39 011 976191 - Fax +39 011 9367511

ELITE
MGB

Bioq. Laura Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

SOBRERÓTULO

Biodiagnóstico SA.
Dirección completa: Av Ingeniero Huergo 1437 - PB I, CABA
Director Técnico: Laura Mercapide
USO PROFESIONAL EXCLUSIVO - VENTA EXCLUSIVA A LABORATORIOS DE ANÁLISIS CLÍNICOS”
Autorizado por ANMAT- PM 1201- 378

PROYECTO DE RÓTULO INTERNO




Biq. Ldra Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

»

PROYECTO DE RÓTULO EXTERNO

RÓTULO ORIGINAL DEL PRODUCTO

REF STDG07PLD190
BCR-ABL P190 ELITe Standard

LOT U0416AA 2018/02

CE IVD -20°C ⚠ Σ

CONT 16

STDG07PLD190-2	P190-ABL Q-PCR Standard 10 ²	2 x 120 µL
STDG07PLD190-3	P190-ABL Q - PCR Standard 10 ³	2 x 120 µL
STDG07PLD190-4	P190-ABL Q - PCR Standard 10 ⁴	2 x 120 µL
STDG07PLD190-5	P190-ABL Q - PCR Standard 10 ⁵	2 x 120 µL

STDG07PLD190-El.1, Rev.01

ELITechGroup S.p.A.
Via Svizzera, 185 - 10149 Torino - ITALIA
Tel: +39 011 9367611 - Fax +39 011 9367611

ELITe
M G B

LM
Biol. Laura Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

SOBRERÓTULO

Biodiagnóstico SA.
Dirección completa: Av Ingeniero Huergo 1437 - PB I, CABA
Director Técnico: Laura Mercapide
Fabricante: Sede legal: 22 - 20122- Milán (MI), Italia C.F./P.I. 05239350969
Planta: Svizzera, 185- 10149 Turín, Italia, C.F.J P.I. 05239350969
"USO PROFESIONAL EXCLUSIVO - VENTA EXCLUSIVA A LABORATORIOS DE ANÁLISIS CLÍNICOS"
Autorizado por ANMAT- PM 1201- 378

PROYECTO DE RÓTULO INTERNO

 REF STDG07PLD190-2 P190-ABL Q-PCR Standard 10 ⁻² LOT U0416AA 2018/02 ELITechGroup S.p.A. C.so Sallustiana 163, 10140 Torino, ITALY	 REF STDG07PLD190-3 P190-ABL Q - PCR Standard 10 ⁻³ LOT U0416AA 2018/02 ELITechGroup S.p.A. C.so Sallustiana 163, 10140 Torino, ITALY
 REF STDG07PLD190-4 P190-ABL Q - PCR Standard 10 ⁻⁴ LOT U0416AA 2018/02 ELITechGroup S.p.A. C.so Sallustiana 163, 10140 Torino, ITALY	 REF STDG07PLD190-5 P190-ABL Q - PCR Standard 10 ⁻⁵ LOT U0416AA 2018/02 ELITechGroup S.p.A. C.so Sallustiana 163, 10140 Torino, ITALY


Biol. Laura Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

PROYECTO DE RÓTULO EXTERNO

RÓTULO ORIGINAL DEL PRODUCTO

8 0 3 3 8 9 1 4 8 6 7 7

<https://www.elitechgroup.com/instructions-for-use>

00 800 135 79 135
(Teléfono: 0080016122057799)

Hilf mir Download
Para ajuda no download
Obtenir ayuda para la descarga
Aide au téléchargement
Per assistenza per il download

ELITechGroup

P190 ELITE CTR IFU REV.00

ELITechGroup

REF CTRG07PLD190
BCR-ABL P190 - ELITE Positive Control

LOT U1219-001 2020-01

CE IVD -20°C 24

CONT

CTRG07PLD190	P190 -ABL - Positive Control	3 x 160 µL
--------------	------------------------------	------------

CTRG07PLD190-ET.1, REV. 00

ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185 - 10149 Torino - ITALY
Tel. +39 011 976191 - Fax +39 011 9267611

ELITE
M G B

Bioq. Laura Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.

»

SOBRERÓTULO

Biodiagnóstico SA.
Dirección completa: Av Ingeniero Huergo 1437 - PB I, CABA
Director Técnico: Laura Mercapide
Fabricante: Sede legal: 22 - 20122- Milán (MI), Italia C.F./P.I. 05239350969
Planta: Svizzera, 185- 10149 Turín, Italia, C.FJ P.I. 05239350969
"USO PROFESIONAL EXCLUSIVO - VENTA EXCLUSIVA A LABORATORIOS DE ANÁLISIS CLÍNICOS"
Autorizado por ANMAT- PM 1201- 378

PROYECTO DE RÓTULO INTERNO




Bioq. Ladrá Mercapide
Directora Técnica/ Apoderada
MP 6.108 - DNI 14.629.531
Biodiagnóstico S.A.



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

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: BIODIAGNOSTICO S.A. rótulos e instrucciones de uso

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 37 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2023.06.29 09:08:45 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.06.29 09:08:46 -03:00



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

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-002162-23-2

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

Expediente N° 1-0047-3110-002162-23-2

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por Biodiagnostico SA ; 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: PCR de BCR-ABL P190

Marca comercial: 1) BCR-ABL P190 ELITe MGB Kit 2) BCR-ABL P190 ELITe Standard 3) BCR-ABL P190 - ELITe Positive Control

Modelos:

- 1) BCR-ABL P190 ELITe MGB Kit
- 2) BCR-ABL P190 ELITe Standard
- 3) BCR-ABL P190 - ELITe Positive Control

Indicación/es de uso:

1) El producto BCR-ABL P190 ELITE MGB® Kit es un ensayo cualitativo y cuantitativo de retrotranscriptasa y amplificación de ácidos nucleicos para la detección de ARNm de la reordenación del gen BCR-ABL, a saber, la translocación t(9;22), que da lugar al cromosoma Filadelfia en la variante P190 (en adelante, P190), así como para la cuantificación del ARNm de P190 comparado con el ARNm del gen que codifica la proteína cinasa Abelson (ABL), en muestras de ARN total extraído de suspensiones de linfomonocitos y suspensiones de leucocitos de muestras clínicas de sangre periférica o de médula ósea.

El producto se utiliza, junto con los datos clínicos y otras pruebas analíticas, como ayuda en el diagnóstico y el seguimiento de casos de leucemia mielógena crónica (LMC), leucemia mielógena aguda (LMA) y leucemia linfocítica aguda (LLA) positivas para el marcador P190.

2) El producto BCR-ABL P190 ELITE Standard se utiliza como control positivo y como ADN estándar de cantidad conocida para obtener la curva estándar en ensayos cuantitativos de transcripción inversa y amplificación en tiempo real de ácidos nucleicos para la detección del ADNc del reordenamiento BCR-ABL, translocación t(9;22), cromosoma Philadelphia, variante P190 (P190) y para la cuantificación del ADNc de P190 en comparación con el ADNc del gen que codifica la proteína quinasa de Abelson (ABL). El producto debe utilizarse con el producto « BCR-ABL P190 ELITE MGB Kit, fabricado por ELITechGroup S.p.A.

3) El producto BCR-ABL P190 - ELITE Positive Control está destinado a utilizarse como control positivo en ensayos cualitativos de amplificación de ácidos nucleicos para la detección del ADNc del reordenamiento BCR-ABL, translocación t(9;22), cromosoma Filadelfia, variante P190 (P190) y del ADNc del gen que codifica la proteína quinasa de Abelson (ABL) mediante el producto BCR-ABL P190 ELITE MGB Kit en asociación con el instrumento ELITE InGenius PM-1201-258 (ELITechGroup S.p.A.).

Forma de presentación: 1) BCR-ABL P190 ELITE MGB Kit

18 determinaciones por duplicado para ARNm de P190, 18 determinaciones por duplicado para ARNm de ABL cuando se utiliza el ELITE InGenius, inclusive los calibradores y los controles.

25 determinaciones por duplicado para ARNm de P190 y 25 determinaciones por duplicado para ARNm de ABL cuando se utiliza el instrumento 7300 Real Time PCR System, 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument o 7900 Real-Time PCR System, inclusive los calibradores y los controles, con un máximo de 19 muestras clínicas en una sesión (en óptimas condiciones de uso).

Contiene:

P190 PreMix 1 × 270 µL

ABL PreMix 1 x 270 µL

PCR MasterMix 2 × 820 µL

RT EnzymeMix 2 × 20 µL

2) Contiene soluciones estabilizadas de ADN plasmídico de título conocido:

P190-ABL Q - PCR Standard 105 2 x 160 µL

P190-ABL Q - PCR Standard 104 2 x 160 µL

P190-ABL Q - PCR Standard 103 2 x 160 µL

P190-ABL Q - PCR Standard 102 2 x 160 µL

P190-ABL Q - PCR Standard 101 2 x 160 µL

3) Contiene solución estabilizada de ADN plasmídico:

P190-ABL - Positive Control 3 x 160 μ L

Período de vida útil: 1) 24 meses a una temperatura inferior a -20°C

2) 30 meses a una temperatura inferior a -20°C

3) 30 meses a una temperatura inferior a -20°C

Nombre del fabricante:

ELITechGroup S.p.A.

Lugar de elaboración:

Sede legal: Corso Italia 22, 20122 Milán, Italia - C.F.-P. I 05239350969

Planta de fabricación: Corso Svizzera 185, 10149 Turín, Italia, C.F.-P.I 05239350969

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 1201-378 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-002162-23-2

N° Identificadorio Trámite: 47294

AM

Digitally signed by GARAY Valéria Teresa
Date: 2023.07.12 22:31:26 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.07.12 22:31:29 -03:00