

Instructions for use

## BCR-ABL Dx ELITe MGB® Kit

---

Reactivos para retrotranscriptasa de ARN y PCR en tiempo real



**REF** RTSG07ING

**UDI** 08033891487485

**CE** **IVD**  
0123

**HISTORIAL DE CAMBIOS**

Revisión	Información del cambio	Fecha (dd/mm/aaaa)
01	Desarrollo de un nuevo producto	26/07/2024

---

# INDICE

---

<b>1 USO PREVISTO .....</b>	<b>4</b>
<b>2 PRINCIPIO DEL ENSAYO .....</b>	<b>4</b>
<b>3 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO.....</b>	<b>4</b>
<b>4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO.....</b>	<b>6</b>
<b>5 MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO .....</b>	<b>7</b>
<b>6 OTROS PRODUCTOS NECESARIOS .....</b>	<b>7</b>
<b>7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.....</b>	<b>8</b>
<b>8 MUESTRAS Y CONTROLES .....</b>	<b>9</b>
<b>9 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe InGenius.....</b>	<b>13</b>
<b>10 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius .....</b>	<b>22</b>
<b>11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO .....</b>	<b>28</b>
<b>12 BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>52</b>
<b>13 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.....</b>	<b>52</b>
<b>14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES .....</b>	<b>53</b>
<b>15 SÍMBOLOS.....</b>	<b>57</b>
<b>16 NOTA PARA LOS USUARIOS .....</b>	<b>57</b>
<b>17 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA.....</b>	<b>58</b>
<b>Appendix A QUICK START GUIDE.....</b>	<b>59</b>

## 1 USO PREVISTO

El producto **BCR-ABL Dx ELITE MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cualitativo múltiple de ácidos nucleicos mediante retrotranscriptasa y PCR en tiempo real para la detección de ARNm de reordenaciones del gen *BCR::ABL* (BCR-ABL), así como para la distinción de las principales variantes extraídas de muestras clínicas.

El ensayo puede detectar e identificar las isoformas **p190 e1a2**, **p195 e6a2**, **p200 e8a2**, **p210 e13a2** y **e14a2** (tipificación mediante análisis de fusión) y **p230 e19a2** en la primera reacción, así como las isoformas **p190 e1a3**, **p195 e6a3**, **p200 e8a3**, **p210 e13a3** y **e14a3** (tipificación mediante análisis de fusión) y **p230 e19a3** en la segunda reacción.

El ensayo se ha validado con los instrumentos **ELITE InGenius®** y **ELITE BeGenius®**, que son sistemas automatizados e integrados para la extracción, la retrotranscriptasa, la PCR en tiempo real y la interpretación de resultados utilizando muestras humanas de leucocitos de sangre periférica (LSP).

El producto está concebido para el uso como ayuda en el diagnóstico de leucemia positiva para BCR::ABL en pacientes en los que se sospecha de la existencia de una leucemia asociada a una reordenación del gen BCR::ABL.

Los resultados deben interpretarse teniendo en cuenta todas las observaciones clínicas y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

## 2 PRINCIPIO DEL ENSAYO

Este es un ensayo cualitativo múltiple de una sola etapa mediante retrotranscriptasa y PCR en tiempo real para la detección y la identificación de las principales isoformas de ARNm de BCR-ABL en el ARN total, en el que el ARN se aísla primero de muestras de leucocitos de sangre periférica (LSP) y, después, se somete a retrotranscriptasa y se amplifica en dos reacciones utilizando las mezclas completas de reacción **BCR-ABL a2** y **BCR-ABL a3**, que contienen cebadores y sondas con la tecnología ELITE MGB.

Tabla 1

Isoformas de ARNm de BCR-ABL detectadas		
	BCR-ABL a2 PCR Mix	BCR-ABL a3 PCR Mix
<b>p190</b>	<b>e1a2</b>	<b>e1a3</b>
<b>p195</b>	<b>e6a2</b>	<b>e6a3</b>
<b>p200</b>	<b>e8a2</b>	<b>e8a3</b>
<b>p210</b> (tipificación mediante análisis de fusión)	<b>e13a2</b>	<b>e13a3</b>
	<b>e14a2</b>	<b>e14a3</b>
<b>p230</b>	<b>e19a2</b>	<b>e19a3</b>

Las sondas ELITE MGB se activan cuando se hibridan con los productos de PCR relacionados. El **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** controlan el aumento de fluorescencia y calculan los ciclos umbral (Ct) y las temperaturas de fusión (Tm).

Las sondas ELITE MGB y los fluoróforos se inactivan en el estado de espiral aleatoria («random-coiled») y monocatenario de la sonda. Los fluoróforos están activos en el dúplex de sonda/amplión, pues el inhibidor se encuentra separado espacialmente del fluoróforo. Cabe reseñar además que el fluoróforo no se escinde durante la PCR y puede utilizarse para el análisis de la disociación y para calcular la temperatura de fusión.

## 3 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El producto **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** incluye los siguientes componentes:

- **BCR-ABL a2 PCR Mix**, una mezcla de PCR optimizada y estabilizada que contiene los cebadores y las sondas específicos para:
  - ARNm de p190 e1a2, detectado en el canal **p190a2**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher® y se marca con el colorante FAM.
  - ARNm de p195 e6a2, detectado en el canal **p195a2**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante AquaPhluor® 593 (AP593).
  - ARNm de p200 e8a2, detectado en el canal **p200a2**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante AquaPhluor 559 (AP559).
  - ARNm de p210 e13a2 y e14a2, detectado en el canal **p210a2**; las sondas se estabilizan mediante la tecnología MGB, se inactivan mediante el Eclipse Dark Quencher y se marcan con el colorante AquaPhluor 639 (AP639).
  - ARNm de p230 e19a2, detectado en el canal **p230a2**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante AquaPhluor 690 (AP690).
  - ARNm de ABL, como Internal Control endógeno, detectado en el canal **ICa2**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante AquaPhluor 525 (AP525).

La mezcla **BCR-ABL a2 PCR Mix** también contiene solución tampón, cloruro de magnesio, nucleótidos-trifosfatos y la enzima ADN polimerasa con activación térmica («hot-start»).

- **BCR-ABL a3 PCR Mix**, una mezcla de PCR optimizada y estabilizada que contiene los cebadores y las sondas específicos para:
  - ARNm de p190 e1a3, detectado en el canal **p190a3**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante FAM.
  - ARNm de p195 e6a3, detectado en el canal **p195a3**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante AquaPhluor 593 (AP593).
  - ARNm de p200 e8a3, detectado en el canal **p200a3**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante AquaPhluor 559 (AP559).
  - ARNm de p210 e13a3 y e14a3, detectado en el canal **p210a3**; las sondas se estabilizan mediante la tecnología MGB, se inactivan mediante el Eclipse Dark Quencher y se marcan con el colorante AquaPhluor 639 (AP639).
  - ARNm de p230 e19a3, detectado en el canal **p230a3**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher, se marca con el colorante AquaPhluor 690 (AP690) y, después, se estabiliza mediante la tecnología MGB y se inactiva mediante el EDQ.
  - ARNm de ABL, como Internal Control endógeno, detectado en el canal **ICa3**; la sonda se estabiliza mediante la tecnología MGB, se inactiva mediante el Eclipse Dark Quencher y se marca con el colorante AquaPhluor 525 (AP525).

La mezcla **BCR-ABL a3 PCR Mix** también contiene solución tampón, cloruro de magnesio, nucleótidos-trifosfatos y la enzima ADN polimerasa con activación térmica («hot-start»).

- **RT EnzymeMix**, una mezcla optimizada y estabilizada de enzimas para retrotranscriptasa.

El producto **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** contiene suficientes reactivos para **48 análisis** en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** cuando se utilizan 20 µL de PCR Mix y 0,3 µL de RT EnzymeMix en cada reacción.

El producto **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** también puede utilizarse con instrumentos equivalentes.

## 4 MATERIAL PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

Tabla 2

Componente	Descripción	Cantidad	Clasificación de peligros
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b> ref. RTSG07INGA2	Mezcla de reactivos para retrotranscriptasa y PCR en tiempo real en una probeta con <b>tapón blanco</b>	<b>2 × 600 µL</b>	-
<b>BCR-ABL a3 PCR Mix</b> ref. RTSG07INGA3	Mezcla de reactivos para retrotranscriptasa y PCR en tiempo real en una probeta con <b>tapón amarillo</b>	<b>2 × 600 µL</b>	-
<b>RT EnzymeMix</b> ref. RTS003-RT	Enzimas de retrotranscriptasa en una probeta con <b>tapón con inserto NEGRO</b>	<b>2 × 20 µL</b>	-

## 5 MATERIAL NECESARIO NO PROPORCIONADO CON EL PRODUCTO

- Campana de flujo laminar.
- Guantes sin talco desechables de nitrilo o de otro material similar.
- Agitador vórtex.
- Centrifugadora de sobremesa (aproximadamente 5000 rpm).
- Centrifugadora de sobremesa (aproximadamente 13.000 rpm).
- Micropipetas y puntas estériles con filtro para aerosoles o puntas estériles de desplazamiento positivo (0,5–10 µL, 2–20 µL, 5–50 µL, 50–200 µL, 200–1000 µL).
- Probeta de 50 mL con tapón roscado (Sarstedt, Alemania, ref. 62.547.254).
- Probeta de 15 mL con tapón roscado (Sarstedt, Alemania, ref. 62.554.502).
- Probeta de 2,0 mL con base de apoyo y tapón roscado (Sarstedt ref. 72.694.005).
- Agua para biología molecular.

## 6 OTROS PRODUCTOS NECESARIOS

Este producto **no** incluye los reactivos para la extracción de la muestra, ni tampoco el Positive Control y el Negative Control de amplificación ni los consumibles.

Para la extracción automática de ácidos nucleicos, la retrotranscriptasa, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados de las muestras, es necesario utilizar los siguientes productos:

Tabla 3

Instrumentos y software	Productos y reactivos
<p><b>ELITe InGenius</b> (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030).</p> <p><b>ELITe InGenius Software</b> versión 1.3.0.19 (o posterior).</p> <p><b>BCR-ABL a2 ELITe_PC</b> <b>BCR-ABL a3 ELITe_PC</b> Assay Protocols (protocolos de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control</p> <p><b>BCR-ABL a2 ELITe_NC</b> <b>BCR-ABL a3 ELITe_NC</b> Assay Protocols (protocolos de ensayo) con parámetros para el análisis del Negative Control</p> <p><b>BCR-ABL a2 ELITe_PBL_200_100</b> <b>BCR-ABL a3 ELITe_PBL_200_100</b> Assay Protocols (protocolos de ensayo) con parámetros para el análisis de las muestras de LSP.</p>	<p><b>ELITe InGenius SP RNA</b> (EG SpA, ref. INT034SPRNA).</p> <p><b>ELITe InGenius DNase I</b> (EG SpA, ref. INT034DNASE).</p> <p><b>ELITe InGenius SP 200 Consumable Set</b> (EG SpA, ref. INT032CS).</p> <p><b>Alternative Caps For Extraction Tubes</b> (EG SpA, ref. 925-CAP), solo con el ELITe InGenius (opcional).</p> <p><b>ELITe InGenius PCR Cassette</b> (EG SpA, ref. INT035PCR).</p> <p><b>ELITe InGenius DNase tube adapter Kit</b> (EG S.p.A. ref. G6431-000).</p> <p><b>ELITe InGenius Waste Box</b> (EG SpA, ref. F2102-000).</p> <p><b>300 µL Filter Tips Axygen</b> (Corning Life Sciences Inc., ref. TF-350-L-R-S), solo con el ELITe InGenius.</p> <p><b>1000 µL Filter Tips Tecan</b> (Tecan, Switzerland, ref. 30180118), solo con el ELITe BeGenius.</p> <p><b>BCR-ABL Dx - ELITe Positive Control</b> (EG SpA, ref. CTRG07ING).</p> <p><b>Cell Lysis Solution</b> (Promega, código A7933 o reactivo equivalente).</p> <p><b>RNA Lysis Buffer</b> (Promega, código Z3051 o reactivo equivalente).</p> <p><b>Thioglycerol</b> (Promega, código A208B-C o reactivo equivalente).</p>
<p><b>ELITe BeGenius</b> (EG SpA, ref. INT040).</p> <p><b>ELITe BeGenius Software</b> versión 2.2.1 (o posterior).</p> <p><b>BCR-ABL a2 ELITe_Be_PC</b> <b>BCR-ABL a3 ELITe_Be_PC</b> Assay Protocols (protocolos de ensayo) con parámetros para el análisis del Positive Control</p> <p><b>BCR-ABL a2 ELITe_Be_NC</b> <b>BCR-ABL a3 ELITe_Be_NC</b> Assay Protocols (Protocolos de ensayo) con parámetros para el análisis del Negative Control</p> <p><b>BCR-ABL a2 ELITe_Be_PBL_200_100</b> <b>BCR-ABL a3 ELITe_Be_PBL_200_100</b> Assay Protocols (Protocolos de ensayo) con parámetros para el análisis de las muestras de LSP.</p>	

## 7 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto está diseñado exclusivamente para uso in vitro.

### 7.1 Advertencias y precauciones generales

Manipular y eliminar todas las muestras biológicas como si fueran infecciosas. Evitar el contacto directo con las muestras biológicas. Evitar salpicaduras o pulverizaciones. Las probetas, las puntas y el resto de materiales que entran en contacto con las muestras biológicas deben tratarse con hipoclorito de sodio (lejía) al 3 % durante al menos 30 minutos, o bien 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 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 desechable combustible debe incinerarse. Los residuos líquidos que contienen ácidos o bases deben neutralizarse antes de eliminarlos. Evitar que los reactivos de extracción entren en contacto con hipoclorito de sodio (lejía).

Utilizar 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 incluidas antes de realizar el ensayo.

Durante la realización del ensayo, seguir las instrucciones proporcionadas con el producto.

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

Utilizar únicamente los reactivos incluidos en el producto y los recomendados por el fabricante.

No utilizar reactivos procedentes de lotes diferentes.

No utilizar reactivos de otros fabricantes.

## 7.2 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 la PCR, para los procedimientos de biología molecular se requiere personal debidamente formado y cualificado.

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.

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

Las muestras deben ser aptas y, en la medida de lo posible, estar destinadas exclusivamente a este tipo de análisis. Las muestras deben manipularse bajo una campana de flujo laminar. 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. 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 extracción deben manipularse de manera que se reduzca al mínimo la dispersión hacia el entorno.

Los cartuchos PCR Cassette deben manipularse con cuidado y no deben abrirse nunca para evitar la dispersión del producto de PCR hacia el entorno, así como la contaminación de muestras y reactivos.

## 7.3 Advertencias y precauciones específicas para los componentes:

Tabla 4

Componente	Temperatura de almacenamiento	Uso a partir de la primera apertura	Ciclos de congelación y descongelación
BCR-ABL a2 PCR Mix	-20 °C o menos (protegido de la luz)	un mes	máximo cinco
BCR-ABL a3 PCR Mix			
RT EnzymeMix	-20 °C o menos	un mes	máximo diez veces, durante un máximo de diez minutos a una temperatura comprendida entre +2 °C y +8 °C

# 8 MUESTRAS Y CONTROLES

## 8.1 Muestras

Este producto está concebido para utilizarlo en uno de los instrumentos **ELITE InGenius** o **ELITE BeGenius** con las siguientes muestras clínicas, identificadas y manipuladas conforme a las directrices para laboratorios y obtenidas, transportadas y conservadas en las condiciones siguientes:

Tabla 5

Muestra	Requisitos de obtención	Condiciones transporte/almacenamiento
		de +16 °C a +26 °C (temperatura ambiente)
Sangre periférica	recogida en EDTA o en citrato de sodio	en el transcurso de 24 horas, si bien no después de 48 horas

**NOTA!**

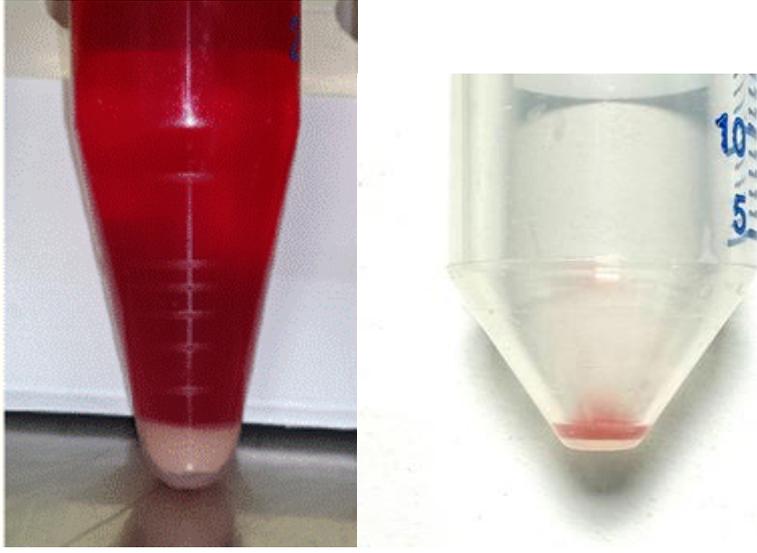
con el fin de evitar una degradación del ARN, no congelar la sangre periférica.

Si se comienza con sangre periférica, es obligatorio aislar leucocitos conforme a las siguientes indicaciones.

Tabla 6

	A. Pretratamiento para el aislamiento de leucocitos mediante la capa leucoplaquetaria	B. Pretratamiento para el aislamiento de leucocitos mediante lisis directa
1	Preparar las probetas de 15 mL y de 2 mL necesarias y etiquetarlas con un rotulador permanente.	Preparar las probetas de 50 mL y de 2 mL necesarias y etiquetarlas con un rotulador permanente.
2	No aplicable	Verter la <b>Cell Lysis Solution</b> (Promega, ref. A7933) en una probeta de 50 mL: utilizar <b>15 mL</b> si se comienza a partir de 5 mL de sangre, o bien <b>30 mL</b> si se comienza a partir de 10 mL de sangre (relación 3:1).
3	Mezclar por completo mediante inversión las muestras de sangre periférica recogida en EDTA o citrato de sodio.	
4	Verter <b>de 5 a 10 mL de sangre periférica roja</b> en la probeta de 15 mL.	Verter <b>de 5 a 10 mL de sangre periférica roja</b> en la probeta de 50 mL.
5	Centrifugar durante <b>10 minutos a 3000 RCF</b> (sin aplicar ningún freno).	No aplicable
6	Verter <b>5 mL de Cell Lysis Solution</b> (Promega, ref. A7933) en una nueva probeta de 15 mL.	No aplicable
7	Utilizar una pipeta de 1 mL para <b>extraer la capa leucoplaquetaria</b> obtenida después de la centrifugación y verterla en la probeta de 15 mL que contiene la Cell Lysis Solution (solución de lisis celular). Lavar la punta en la solución hasta que ya no contenga células.	No aplicable
8	Incubar a <b>temperatura ambiente durante 10 minutos</b> mezclando mediante inversión (sin agitar en vórtex) al menos 3 o 4 veces.	
9	Centrifugar durante <b>10 minutos a 3000 RCF</b> .	

Tabla 6 (continued)

	A. Pretratamiento para el aislamiento de leucocitos mediante la capa leucoplaquetaria	B. Pretratamiento para el aislamiento de leucocitos mediante lisis directa
10	<p style="text-align: center;"><b>NOTA!</b></p> <p>La cantidad ideal de leucocitos se muestra en una escala 1:1 en la imagen siguiente.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;">  </div> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Si queda un sedimento menor o igual que el mostrado en la imagen, retirar el sobrenadante, resuspender el sedimento en <b>1,5 mL de Cell Lysis Solution</b> y verterlo en una probeta de 2,0 mL.</li> <li>• Si queda un sedimento mayor que el mostrado en la imagen, retirar el sobrenadante, resuspender el sedimento en <b>3 mL de Cell Lysis Solution</b> y verter 1,5 mL en dos probetas distintas de 2,0 mL.</li> </ul>	
11	Volver a centrifugar durante aproximadamente <b>2 minutos a 3000 RCF</b> .	
12	<b>Retirar con cuidado el sobrenadante</b> (prestando atención a retirar las trazas de eritrocitos que se encuentran encima del sedimento de leucocitos).	
13	Lisar con cuidado el sedimento en <b>200 µL de Homogenization Solution</b> (solución de homogeneización) mediante pipeteado (utilizando 1 mL de RNA Lysis Buffer, Promega, ref. Z3051 + 20 µL de 1-Thioglycerol, Promega, ref. A208B-C).	

El lisado de LSP puede utilizarse de inmediato o conservarse en las condiciones siguientes:

Tabla 7

Tipo de muestra	Requisitos del tampón	Condiciones de conservación	
		-20 °C ±10 °C	-70 °C ±15 °C
Lisado de LSP	Homogenization Solution (solución de homogeneización)	Un mes como máximo	Un mes como máximo

Para realizar el análisis de las muestras en el **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius**, es necesario utilizar los siguientes Assay Protocols (protocolos de ensayo). Estos protocolos IVD se han validado específicamente con los productos ELITE MGB Kit y los instrumentos **ELITE InGenius** o **ELITE BeGenius** con las matrices indicadas.

Tabla 8

Assay Protocols (Protocolos de ensayo) para el producto BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit				
Muestra	Instrumento	Nombre del protocolo de ensayo	Informe	Características
LSP	ELITE InGenius	BCR-ABL a2 ELITE_PBL_200_100	Positivo/Negativo	Volumen inicial de extracción: 200 µL Volumen de elución extraído: 100 µL Ultrasonidos: NO Factor de dilución: 1 Volumen de la PCR Mix: 20 µL Volumen inicial de PCR de la muestra: 10 µL
		BCR-ABL a3 ELITE_PBL_200_100		
	ELITE BeGenius	BCR-ABL a2 ELITE_Be_PBL_200_100		
		BCR-ABL a3 ELITE_Be_PBL_200_100		

Para todos los protocolos, es necesario utilizar 200 µL de **muestra pretratada**:

- En el caso del **ELITE InGenius**, pasar el lisado de LSP desde la probeta de 2,0 mL hasta una **Extraction Tube** (tubo de extracción), evitando que se formen burbujas durante el pipeteado.
- En el caso del **ELITE BeGenius**, se utiliza directamente la probeta de 2,0 mL que contiene el lisado de LSP.

#### NOTA!

antes de cargar las muestras pretratadas en los instrumentos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Si se utiliza la **Extraction Tube** (tubo de extracción), se recomienda utilizar también el tapón previsto a tal efecto (EG SpA, ref. 925-CAP).

#### NOTA!

El pipeteado de muestras en la **Extraction Tube** (tubo de extracción) puede **desarrollar contaminación**. Así pues, utilizar pipetas apropiadas y seguir todas las recomendaciones indicadas en el apartado «Advertencias y precauciones».

Los ácidos nucleicos purificados pueden dejarse a temperatura ambiente durante 16 horas o conservarse a -20 °C o a una temperatura inferior durante un máximo de un mes.

Consultar «Sustancias potencialmente interferentes» en la sección «Características de rendimiento» para comprobar los datos relativos a tales sustancias.

## 8.2 Controles de PCR

Los resultados del control de la PCR deben generarse y aprobarse para cada lote de reactivo de reactivo de PCR.

- Para el Positive Control, utilizar el **BCR-ABL a2 Positive Control** y el **BCR-ABL a3 Positive Control**, que son componentes del producto **BCR-ABL Dx - ELITE Positive Control** (no incluidos con este kit) que incluyen respectivamente los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **BCR-ABL a2 ELITE\_PC** o **BCR-ABL a2 ELITE\_Be\_PC** y **BCR-ABL a3 ELITE\_PC** o **BCR-ABL a3 ELITE\_Be\_PC**.
- Para el Negative Control, utilizar agua para biología molecular (no incluida con este kit) con los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **BCR-ABL a2 ELITE\_NC** o **BCR-ABL a2 ELITE\_Be\_NC** y **BCR-ABL a3 ELITE\_NC** o **BCR-ABL a3 ELITE\_Be\_NC**.

**NOTA!**

- El **ELITe InGenius** y el **ELITe BeGenius** permiten generar y guardar la validación del control de PCR para cada lote de reactivos de PCR. Los resultados del control de PCR caducan a los 15 días, después de los cuales es necesario volver a procesar el Positive Control y el Negative Control. Los controles de PCR deben volver a procesarse si se produce alguna de las siguientes circunstancias:
- Se utiliza un nuevo lote de reactivos.
- Los resultados del análisis de control de calidad (consultar el apartado siguiente) están fuera de las especificaciones.
- Se realiza una operación importante de servicio o mantenimiento en el **ELITe InGenius** o el **ELITe BeGenius**.

**8.3 Controles de calidad**

Se recomienda verificar la extracción y el procedimiento de PCR. Se pueden utilizar muestras archivadas o material de referencia certificado. Deben realizarse controles externos de acuerdo con las disposiciones de los organismos de acreditación locales, estatales o federales, según proceda.

**9 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe InGenius**

El procedimiento para utilizar el producto **BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit** con el **ELITe InGenius** comprende tres pasos:

**Tabla 9**

PASO 1	Verificación de la disponibilidad del sistema	
PASO 2	Configuración de la sesión	A) Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
		B) Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
		C) Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
PASO 3	Evaluación y aprobación de los resultados	A) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
		B) Validación de los resultados de las muestras
		C) Elaboración del informe de resultados de las muestras

**9.1 PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema**

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

- Encender el **ELITe InGenius** e iniciar sesión en el modo «**CLOSED**».
- En el menú «Controls» (Controles) de la pantalla «Home» (Inicio), verificar que los controles de PCR (**BCR-ABL a2 Positive Control**, **BCR-ABL a2 Negative Control**, **BCR-ABL a3 Positive Control**, **BCR-ABL a3 Negative Control**) esté aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **PCR Mix** (**BCR-ABL a2 PCR Mix** y **BCR-ABL a3 PCR Mix**) que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **PCR Mix**, procesar los controles de la PCR tal como se describe en los apartados siguientes.
- Seleccionar el tipo de sesión siguiendo las instrucciones de la interfaz para configurar la sesión y utilizando los Assay Protocols (protocolos de ensayo) proporcionados por EG SpA (consultar la sección «Muestras y controles»).

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

## 9.2 PASO 2. Configuración de la sesión

El producto **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** puede utilizarse con el **ELITE InGenius** para realizar las siguientes tareas:

- Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)
- Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
- Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)

Todos los parámetros necesarios están incluidos en el protocolo de ensayo disponible en el instrumento y se cargan automáticamente al seleccionar el protocolo de ensayo.

### NOTA!

Con el producto **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit**, tanto en la configuración A como en la B, se recomienda llevar a cabo dos reacciones para cada muestra: una con la **BCR-ABL a2 PCR Mix** (para las isoformas a2 de BCR-ABL) y la otra, con la **BCR-ABL a3 PCR Mix** (para las isoformas a3 de BCR-ABL). En cada sesión realizada en el **ELITE InGenius** pueden analizarse 6 muestras como máximo.

### NOTA!

El **ELITE InGenius** puede conectarse al «Laboratory Information System» (sistema de información de laboratorios, LIS), que permite descargar la información de la sesión. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

Antes de configurar una sesión:

- Descongelar las probetas necesarias de **BCR-ABL a2 PCR Mix** (tapón blanco) y de **BCR-ABL a3 PCR Mix** (tapón amarillo) a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para **24 análisis** en condiciones óptimas de uso, es decir, realizando al menos 2 análisis por sesión. Mezclar en vórtex a baja velocidad durante 10 segundos tres veces y, a continuación, centrifugar el contenido durante 5 segundos y conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

### NOTA!

Conservar la **PCR Mix** en un lugar protegido de la luz mientras se descongela, pues este reactivo es fotosensible.

- Tomar las probetas de **RT EnzymeMix** que se necesiten. Cada probeta es suficiente para **48 análisis**. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

### NOTA!

La mezcla **RT EnzymeMix** no debe exponerse a temperaturas superiores a unos  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante más de 10 minutos.

- Preparar una probeta de 2 mL (Sarstedt, ref. 72.694.005, no incluida en el kit) para cada **mezcla completa de reacción** y etiquetarla con un rotulador permanente.
- Calcular los volúmenes necesarios de **BCR-ABL a2 PCR Mix**, **BCR-ABL a3 PCR Mix** y **RT EnzymeMix** para preparar las **mezclas completas de reacción** en función del número de muestras (N) que vayan a analizarse, tal como se describe en la tabla siguiente.

**Tabla 10**

Número de muestras (N)	BCR-ABL a2 PCR Mix y BCR-ABL a3 PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20\ \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3\ \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20\ \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3\ \mu\text{L}$
$N = 12$	290 $\mu\text{L}$	4,4 $\mu\text{L}$

5. Preparar las **mezclas completas de reacción** vertiendo los volúmenes calculados de los dos componentes en la probeta de 2 mL etiquetada. Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en el bloque refrigerado.

**NOTA!**

Las **mezclas completas de reacción** pueden utilizarse en el plazo de 7 horas si se mantienen refrigeradas (para 2 sesiones de 3,5 horas cada una). La mezcla completa de reacción **no puede** conservarse para reutilizarla.

**NOTA!**

las **mezclas completas de reacción** son fotosensibles, por lo que no deben exponerse a la luz directa.

6. Comenzando a partir de los lisados de LSP (**configuración A**), para cada muestra, llevar a cabo una sesión integrada en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR) con la **BCR-ABL a2 PCR Mix** y una sesión de amplificación en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR) con la **BCR-ABL a3 PCR Mix**.
7. Comenzando a partir de los productos de extracción (**configuración B**), para cada muestra, llevar a cabo dos sesiones de amplificación en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR), tanto con la **BCR-ABL a2 PCR Mix** como con la **BCR-ABL a3 PCR Mix**.

**NOTA!**

Se recomienda crear una plantilla en el instrumento para facilitar la configuración de la sesión (consultar las instrucciones de uso del ELITE InGenius).

Para configurar uno de los tres tipos de sesión, realizar los pasos siguientes conforme a las instrucciones de la interfaz:

**Tabla 11**

	<b>A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).</b>	<b>B. Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)</b>	<b>C. Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).</b>
<b>1</b>	<b>Identificar las muestras pretratadas</b> y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Para este ensayo, es necesario verter 200 µL de muestra en una «Extraction Tube» (tubo de extracción) previamente etiquetada.	<b>Descongelar los «Elution Tubes»</b> (Tubos de elución) que contienen los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	<b>Descongelar las probetas de Positive Control (a2 y a3)</b> a temperatura ambiente durante 30 minutos. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Cada probeta es suficiente para 4 reacciones.
<b>2</b>	No aplicable	No aplicable	<b>Preparar las probetas de Negative Control (a2 y a3)</b> vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en la «Elution Tube» (tubo de elución) que se incluye con el <b>ELITE InGenius SP 200 Consumable Set</b> .
<b>3</b>	Seleccionar <b>«Perform Run» (Realizar ejecución)</b> en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar <b>«Perform Run» (Realizar ejecución)</b> en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar <b>«Perform Run» (Realizar ejecución)</b> en la pantalla «Home» (Inicio).

Tabla 11 (continued)

	<b>A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).</b>	<b>B. Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)</b>	<b>C. Sesión para el Positivo Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).</b>
4	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.
5	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.	Para cada muestra, asignar un carril e introducir el «SampleID» o SID (ID de la muestra), ya sea rellenándolo directamente o escaneando su código de barras.	No aplicable
6	<b>Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo)</b> en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles». Para cada muestra, asignar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) a2 y el Assay Protocol (protocolo de ensayo) a3 en el siguiente carril (Track).	<b>Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo)</b> en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles». Para cada eluido, asignar el Assay Protocol (protocolo de ensayo) a2 y el Assay Protocol (protocolo de ensayo) a3 en el siguiente carril (Track).	<b>Seleccionar los Assay Protocols (protocolos de ensayo)</b> (a2 y a3, consultar la sección «Muestras y controles») en la columna «Assay» (Ensayo). Introducir el número de lote y la fecha de caducidad del Positivo Control y del Negative Control (agua para biología molecular).
7	Para el <b>Assay Protocol (protocolo de ensayo) a2</b> , asegurarse de que en «Protocol» (Protocolo) aparezca «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y, en Sample Position (Posición de la muestra), seleccionar «Extraction Tube» (Tubo de extracción).	Para el <b>Assay Protocol (protocolo de ensayo) a2</b> : seleccionar «PCR Only» (Solo PCR) en la columna Protocol (Protocolo), y la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» (Posición de la muestra) como «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior]).	En la columna «Protocol» (Protocolo), asegurarse de que esté seleccionado «PCR Only» (Solo PCR).
8	Para el <b>Assay Protocol (protocolo de ensayo) a3</b> , en «Protocol» (Protocolo) asignar «PCR Only» (Solo PCR) y, en «Sample Position» (Posición de la muestra), seleccionar el carril (Track) de la muestra.	Para el <b>Assay Protocol (protocolo de ensayo) a3</b> , seleccionar «PCR Only» (Solo PCR) en la columna «Protocol» (Protocolo), y la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» (Posición de la muestra) como el carril (Track) del eluido.	Asegurarse de que la posición de carga de la muestra en la columna «Sample Position» (Posición de la muestra) sea «Elution Tube (bottom row)» (Tubo de elución [fila inferior]).
9	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
10	<b>Cargar las mezclas completas de reacción</b> en el «Inventory Block» (administrador de inventarios), en función de la «Load List» (Cargar lista) y, después, introducir el número de lote de la mezcla de PCR, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	<b>Cargar las mezclas completas de reacción</b> en el «Inventory Block» (administrador de inventarios), en función de la «Load List» (Cargar lista) y, después, introducir el número de lote de la mezcla de PCR, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.	<b>Cargar las mezclas completas de reacción</b> en el «Inventory Block» (administrador de inventarios), en función de la «Load List» (Cargar lista) y, después, introducir el número de lote de la mezcla de PCR, la fecha de caducidad y el número de reacciones para cada probeta.
11	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
12	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.

Tabla 11 (continued)

	A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	B. Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)	C. Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
13	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
14	<b>Cargar</b> el PCR Cassette, así como los cartuchos de extracción ELITE InGenius SP RNA, las probetas de ELITE InGenius DNase I (sin tapón) y todos los consumibles necesarios y las muestras que deben extraerse.	<b>Cargar</b> el PCR Cassette y el «Elution Tube» (Tubo de elución) con las muestras extraídas.	<b>Cargar</b> el PCR Cassette y las probetas de Positive Control y de Negative Control.
15	En la pantalla DNase I, introducir «DNase I» en «Reagent Name» (Nombre del reactivo) e introducir también el número de lote y la fecha de caducidad.	No aplicable	No aplicable
16	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
17	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
18	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

**NOTA!**

Se recomienda esperar unos minutos después de iniciar la sesión para verificar la correcta aspiración de las muestras de la probeta de extracción. En ocasiones, puede que el instrumento muestre el error 20081 (consultar la sección «Problemas y soluciones»).

Una vez finalizada la sesión, el **ELITE InGenius** permite mostrar, aprobar y guardar los resultados, así como imprimir y guardar el informe.

**NOTA!**

Al finalizar la sesión, la parte que queda de la muestra extraída en la «**Elution Tube**» (Tubo de elución) debe extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a  $-20 \pm 10$  °C durante un máximo de un mes. Evitar derramar la muestra extraída.

**NOTA!**

Las **mezclas completas de reacción** pueden guardarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas (para dos sesiones de 3,5 horas cada una). Mezclar suavemente y, a continuación, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión. La mezcla completa de reacción no puede conservarse para reutilizarla.

**NOTA!**

Al finalizar la sesión, la parte que queda del **Positive Control** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a  $-20$  °C o a una temperatura inferior. Evitar derramar el Positive Control. La parte que queda del Negative Control debe eliminarse.

**NOTA!**

El **BCR-ABL a2 Positive Control** y el **BCR-ABL a3 Positive Control** pueden utilizarse para 4 sesiones independientes de 3,5 horas cada una.

**NOTA!**

Al finalizar la sesión, los cartuchos **PCR Cassette** y el resto de consumibles deben eliminarse siguiendo las normativas gubernamentales y medioambientales. Evitar derramar los productos de reacción.

**9.3 PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados**

El **ELITE InGenius** supervisa las señales de fluorescencia de la diana y del Internal Control para cada reacción y aplica automáticamente los parámetros del Assay Protocol (protocolo de ensayo) para generar curvas de PCR que, después, se convierten en resultados.

Al finalizar la sesión, aparece automáticamente la pantalla «Results Display» (Presentación de resultados). En esta pantalla se muestran los resultados y la información de la sesión. Desde esta pantalla, es posible aprobar dichos resultados, así como imprimir o guardar los informes («Sample Report» o «Track Report»). Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

**NOTA!**

Cuando se utiliza el producto **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit**, se llevan a cabo dos sesiones de amplificación para cada muestra utilizando la **BCR-ABL a2 PCR Mix** (para las isoformas a2 de BCR-ABL) y **BCR-ABL a3 PCR Mix** (para las isoformas a3 de BCR-ABL). El análisis de los resultados debe realizarse en las dos sesiones.

**NOTA!**

El **ELITE InGenius** puede conectarse al «Laboratory Information System» (sistema de información de laboratorios, LIS), que permite cargar los resultados de la sesión en el centro de datos del laboratorio. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

El instrumento **ELITE InGenius** genera los resultados con el producto **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

- A. Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
- B. Validación de los resultados de las muestras.
- C. Generación del informe de resultados de la muestra

**9.3.1 A. Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control de amplificación**

El **ELITE InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para las dianas de las reacciones del Positive Control y del Negative Control con los parámetros de los Assay Protocols (protocolos de ensayo) **BCR-ABL a2 ELITE\_PC**, **BCR-ABL a3 ELITE\_PC**, **BCR-ABL a2 ELITE\_NC** y **BCR-ABL a3 ELITE\_NC**. Los valores de Ct y Tm resultantes se utilizan para verificar el sistema (lote de reactivos e instrumento).

Los resultados del Positive Control y del Negative Control, específicos para el lote de reactivos de PCR, se guardan en la base de datos («Controls»), por lo que el personal cualificado como administrador («Administrator») o analista («Analyst») puede verlas siguiendo las instrucciones de la interfaz.

Los resultados del Positive Control y del Negative Control caducan **a los 15 días**.

El **ELITE InGenius Software** utiliza los resultados de la amplificación del Positive Control y del Negative Control para configurar los gráficos de control («Control Charts»), lo que permite controlar el rendimiento del paso de amplificación. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

**NOTA!**

Si el resultado del Positive Control y del Negative Control no cumple los criterios de aceptación, en la pantalla «Controls» (Controles) aparece el mensaje «Failed» (Error). En este caso, los resultados no pueden aprobarse y es necesario repetir el procesamiento del Positive Control y del Negative Control.

**NOTA!**

si el resultado del Positive Control o del Negative Control no es válido y se incluyeron muestras en la misma sesión, las muestras pueden aprobarse, pero los resultados no se validan. En este caso, es necesario repetir el procesamiento del control o los controles que han producido un error y el de todas las muestras.

**9.3.2 B. Validación de los resultados de las muestras**

El **ELITE InGenius Software** interpreta los resultados de la PCR para las dianas (canales **p190a2**, **p195a2**, **p200a2**, **p210a2** y **p230a2**) y el Internal Control (canal **ICa2**) con los parámetros del Assay Protocol (protocolo de ensayo) **BCR-ABL a2 ELITE\_PBL\_200\_100**, y para las dianas (canales **p190a3**, **p195a3**, **p200a3**, **p210a3** y **p230a3**) y el Internal Control (canal **ICa3**) con los parámetros del Assay Protocol (protocolo de ensayo) **BCR-ABL a3 ELITE\_PBL\_200\_100**.

Los resultados se muestran en la pantalla «Results Display» (Presentación de resultados).

Los resultados de la muestra pueden aprobarse cuando se cumplen las condiciones que se indican en las tablas siguientes.

**Tabla 12**

Ensayo con la BCR-ABL a2 PCR Mix	
<b>1) Positive Control</b>	<b>Estado</b>
BCR-ABL a2 Positive Control	APROBADO
<b>2) Negative Control</b>	<b>Estado</b>
Negative Control de a2 de BCR-ABL	APROBADO

**Tabla 13**

Ensayo con la BCR-ABL a3 PCR Mix	
<b>1) Positive Control</b>	<b>Estado</b>
BCR-ABL a3 Positive Control	APROBADO
<b>2) Negative Control</b>	<b>Estado</b>
Negative Control de a3 de BCR-ABL	APROBADO

El **ELITE InGenius Software** interpreta automáticamente los resultados de las muestras utilizando los parámetros del Assay Protocol (protocolo de ensayo). En la tabla siguiente se muestran los posibles mensajes de los resultados.

Para cada muestra, el sistema muestra una combinación de los siguientes mensajes y especifica si los ARN se han detectado o no.

**Tabla 14**

Ensayo con la BCR-ABL a2 PCR Mix	
Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
p190a2: RNA Detected e1a2 (ARN Detectado e1a2)	<b>Se ha detectado ARNm de p190</b> en la muestra. La isoforma es <b>e1a2</b> .
p190a2: RNA Detected Typing not determined (ARN Detectado Typing not determined)	<b>Se ha detectado ARNm de p190</b> , pero no ha sido posible realizar un análisis de la Tm.

Tabla 14 (continued)

Ensayo con la BCR-ABL a2 PCR Mix	
Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
p190a2: RNA Not detected or below the LoD (ARN No detectado o por debajo del límite de detección)	<b>No se ha detectado ARNm de p190</b> en la muestra. La muestra es negativa para ARNm de p190 o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
p200a2: RNA Detected e8a2 (ARN Detectado e8a2)	<b>Se ha detectado ARNm de p200</b> en la muestra. La isoforma es <b>e8a2</b> .
p200a2: RNA Detected Typing not determined (ARN Detectado Typing not determined)	<b>Se ha detectado ARNm de p200</b> , pero no ha sido posible realizar un análisis de la Tm.
p200a2: RNA Not detected or below the LoD (ARN No detectado o por debajo del límite de detección)	<b>No se ha detectado ARNm de p200</b> en la muestra. La muestra es negativa para ARNm de p200 o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
p195a2: RNA Detected e6a2 (ARN Detectado e6a2)	<b>Se ha detectado ARNm de p195</b> en la muestra. La isoforma es <b>e6a2</b> .
p195a2: RNA Detected Typing not determined (ARN Detectado Typing not determined)	<b>Se ha detectado ARNm de p195</b> , pero no ha sido posible realizar un análisis de la Tm.
p195a2: RNA Not detected or below the LoD (ARN No detectado o por debajo del límite de detección)	<b>No se ha detectado ARNm de p195</b> en la muestra. La muestra es negativa para ARNm de p195 o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
p210a2: RNA Detected e13a2 (ARN Detectado e13a2)	<b>Se ha detectado ARNm de p210</b> en la muestra. La isoforma es <b>e13a2</b> .
p210a2: RNA Detected e14a2 (ARN Detectado e14a2)	<b>Se ha detectado ARNm de p210</b> en la muestra. La isoforma es <b>e14a2</b> .
p210a2: RNA Detected e13a2 e14a2 (ARN Detectado e13a2 e 14a2)	<b>Se ha detectado ARNm de p210</b> en la muestra. Las dos isoformas, <b>e13a2</b> y <b>e14a2</b> , están presentes.
p210a2: RNA Detected Typing not determined (ARN Detectado Typing not determined)	<b>Se ha detectado ARNm de p210</b> , pero no ha sido posible realizar un análisis de la Tm.
p210a2: RNA Not detected or below the LoD (ARN No detectado o por debajo del límite de detección)	<b>No se ha detectado ARNm de p210</b> en la muestra. La muestra es negativa para ARNm de p210 o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
p230a2: RNA Detected e19a2 (ARN Detectado e19a2)	<b>Se ha detectado ARNm de p230</b> en la muestra. La isoforma es <b>e19a2</b> .
p230a2: RNA Detected Typing not determined (ARN Detectado Typing not determined)	<b>Se ha detectado ARNm de p230</b> , pero no ha sido posible realizar un análisis de la Tm.
p230a2: RNA Not detected or below the LoD (ARN Detectado Typing not determined)	<b>No se ha detectado ARNm de p230</b> en la muestra. La muestra es negativa para ARNm de p230 o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
Invalid - Retest Sample. (No válido-Volver a probar muestra)	<b>Resultado no válido del ensayo</b> debido a un fallo del Internal Control. Es necesario repetir la prueba.

Tabla 15

Ensayo con la BCR-ABL a3 PCR Mix	
Resultado de la sesión de la muestra	Interpretación
p190a3: RNA Detected e1a3 (ARN Detectado e1a3)	<b>Se ha detectado ARNm de p190</b> en la muestra. La isoforma es <b>e1a3</b> .
p190a3: RNA Detected Typing not determined (ARN Detectado Typing not determined)	<b>Se ha detectado ARNm de p190</b> , pero no ha sido posible realizar un análisis de la Tm.
p190a3: RNA Not detected or below the LoD (ARN No detectado o por debajo del límite de detección)	<b>No se ha detectado ARNm de p190</b> en la muestra. La muestra es negativa para ARNm de p190 o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
p200a3: RNA Detected e8a3 (ARN Detectado e8a3)	<b>Se ha detectado ARNm de p200</b> en la muestra. La isoforma es <b>e8a3</b> .
p200a3: RNA Detected Typing not determined (ARN Detectado Typing not determined)	<b>Se ha detectado ARN de p200</b> , pero no ha sido posible realizar un análisis de la Tm.
p200a3: RNA Not detected or below the LoD (ARN No detectado o por debajo del límite de detección)	<b>No se ha detectado ARNm de p200</b> en la muestra. La muestra es negativa para ARNm de p200 o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
p195a3: RNA Detected e6a3 (ARN Detectado e6a3)	<b>Se ha detectado ARNm de p195</b> en la muestra. La isoforma es <b>e6a3</b> .
p195a3: RNA Detected Typing not determined (ARN Detectado Typing not determined)	<b>Se ha detectado ARNm de p195</b> , pero no ha sido posible realizar un análisis de la Tm.
p195a3: RNA Not detected or below the LoD (ARN No detectado o por debajo del límite de detección)	<b>No se ha detectado ARNm de p195</b> en la muestra. La muestra es negativa para ARNm de p195 o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
p210a3: RNA Detected e13a3 (ARN Detectado e13a3)	<b>Se ha detectado ARNm de p210</b> en la muestra. La isoforma es <b>e13a3</b> .
p210a3: RNA Detected e14a3 (ARN Detectado e14a3)	<b>Se ha detectado ARNm de p210</b> en la muestra. La isoforma es <b>e14a3</b> .
p210a3: RNA Detected e13a3 e14a3 (ARN Detectado e13a3 e 14 <sup>a</sup> 3)	<b>Se ha detectado ARNm de p210</b> en la muestra. Las dos isoformas, <b>e13a3</b> y <b>e14a3</b> , están presentes.
p210a3: RNA Detected Typing not determined (ARN Detectado Typing not determined)	<b>Se ha detectado ARNm de p210</b> , pero no ha sido posible realizar un análisis de la Tm.
p210a3: RNA Not detected or below the LoD (ARN No detectado o por debajo del límite de detección)	<b>No se ha detectado ARNm de p210</b> en la muestra. La muestra es negativa para ARNm de p210 o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
p230a3: RNA Detected e19a3 (ARN Detectado e19a3)	<b>Se ha detectado ARNm de p230</b> en la muestra. La isoforma es <b>e19a3</b> .
p230a3: RNA Detected Typing not determined (ARN Detectado Typing not determined)	<b>Se ha detectado ARNm de p230</b> , pero no ha sido posible realizar un análisis de la Tm.
p230a3: RNA Not detected or below the LoD (ARN Detectado Typing not determined)	<b>No se ha detectado ARNm de p230</b> en la muestra. La muestra es negativa para ARNm de p230 o su concentración es inferior al límite de detección del ensayo.
Invalid-Retest Sample.	<b>Resultado no válido del ensayo</b> debido a un fallo del Internal Control. Es necesario repetir la prueba.

Las muestras notificadas como «Invalid: Retest Sample» (No válido-Volver a probar muestra) indican que el ARN del Internal Control no ha podido detectarse correctamente, probablemente debido a problemas en los pasos de recogida, pretratamiento, extracción, retrotranscriptasa o PCR de la muestra (p. ej., obtención incorrecta de la muestra, degradación o pérdida de ARN durante la extracción o presencia de inhibidores en el eluido), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos.

Si queda un volumen de eluido suficiente, dicho eluido puede volver a analizarse (tal cual o diluido) con una sesión de amplificación en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). Si se produce un segundo resultado no válido, la muestra debe volver a analizarse a partir del paso de la extracción de una nueva muestra utilizando el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR); consultar la sección «Problemas y soluciones».

Las muestras que se notifican como «**pXXXxx:RNA Detected Typing not determined**» no son aptas para el análisis de fusión. En este caso, se ha detectado un Ct, pero no se ha detectado la Tm, o esta se encuentra fuera del rango establecido, lo que puede deberse a problemas en la obtención, el pretratamiento, la extracción, la retrotranscriptasa o los pasos de la PCR de la muestra (p. ej., obtención incorrecta de la muestra, degradación o pérdida de ARN durante la extracción, arrastre de inhibidores en el eluido o fondo alto), lo que puede dar lugar a resultados incorrectos.

Si queda un volumen de eluido suficiente, se recomienda volver a analizar la muestra (tal cual o diluida) con una sesión de amplificación en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR). Si el segundo resultado es el mismo, se recomienda volver a realizar el análisis a partir del paso de extracción de una nueva muestra utilizando el modo de procesamiento Extract + PCR (Extracción + PCR); consultar la sección «Problemas y soluciones».

Las muestras que se notifican como «**pXXXxx:RNA:Not detected or below the LoD**» son aptas para el análisis, pero no se ha detectado ARN de BCR-ABL. En este caso, puede que la muestra sea negativa para ARN de BCR-AB, o que el ARN de BCR-ABL presente una concentración inferior al límite de detección del ensayo (consultar la sección «Características de rendimiento»).

#### NOTA!

Si se obtiene un resultado positivo en un análisis con varias isoformas, verificar el valor de Ct de cada variante. La expresión conjunta de las isoformas adicionales de BCR-ABL solo debe diagnosticarse cuando sus valores de Ct son similares a la isoforma principal detectada al valor de Ct más bajo (consultar N.P.C. Cross *et al.* 2023). De lo contrario, solo debe notificarse la isoforma principal al valor de Ct más bajo.

#### NOTA!

Los resultados obtenidos con este ensayo deben interpretarse teniendo en cuenta todas las observaciones clínicas y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

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

### 9.3.3 C. Generación del informe de resultados de la muestra

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

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

El «Track Report» muestra los detalles de los resultados ordenados por el carril seleccionado.

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

## 10 PROCEDIMIENTO CON EL ELITe BeGenius

El procedimiento para utilizar el producto **BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit** con el **ELITe BeGenius** comprende tres pasos:

Tabla 16

PASO 1	Verificación de la disponibilidad del sistema	
PASO 2	Configuración de la sesión	A) Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).
		B) Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
		C) Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).
PASO 3	Evaluación y aprobación de los resultados	A) Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
		B) Validación de los resultados de las muestras
		C) Elaboración del informe de resultados de las muestras

### 10.1 PASO 1. Verificación de la disponibilidad del sistema

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

- Encender el **ELITE BeGenius** e iniciar sesión en el modo «**CLOSED**».
- En el menú «Controls» (Controles) de la pantalla «Home» (Inicio), verificar que los controles de PCR (**BCR-ABL a2 Positive Control**, **BCR-ABL a2 Negative Control**, **BCR-ABL a3 Positive Control**, **BCR-ABL a3 Negative Control**) esté aprobados y sean válidos («Status») para el lote de **PCR Mix** (**BCR-ABL a2 PCR Mix** y **BCR-ABL a3 PCR Mix**) que va a utilizarse. Si no se dispone de controles de PCR válidos para el lote de **PCR Mix**, procesar los controles de la PCR tal como se describe en los apartados siguientes.
- Seleccionar el tipo de sesión siguiendo las instrucciones de la interfaz para configurar la sesión y utilizando los Assay Protocols (protocolos de ensayo) proporcionados por EG SpA (consultar la sección «Muestras y controles»).

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

### 10.2 PASO 2. Configuración de la sesión

El producto **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** puede utilizarse con el **ELITE BeGenius** para realizar las siguientes tareas:

- Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR)
- Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)
- Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)

Todos los parámetros necesarios están incluidos en los Assay Protocols (protocolos de ensayo) disponibles en el instrumento y se cargan automáticamente al seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo).

#### NOTA!

Con el producto **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit**, tanto en la configuración A como en la B, es preciso llevar a cabo dos PCR para cada muestra extraída: una con la **BCR-ABL a2 PCR Mix** (para las isoformas a2 de BCR-ABL) y la otra, con la **BCR-ABL a3 PCR Mix** (para las isoformas a3 de BCR-ABL). En cada sesión realizada en el **ELITE BeGenius** pueden analizarse 12 muestras como máximo.

#### NOTA!

el **ELITE BeGenius** puede conectarse al «Laboratory Information System» (sistema de información de laboratorios, LIS), que permite descargar la información de la sesión. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

#### Antes de configurar una sesión:

1. Descongelar las probetas necesarias de **BCR-ABL a2 PCR Mix** (tapón BLANCO) y de **BCR-ABL a3 PCR Mix** (tapón amarillo) a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para

**24 análisis** en condiciones óptimas de uso (es decir, realizando al menos 2 análisis por sesión). Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en el bloque refrigerado.

**NOTA!**

conservar la **PCR Mix** en un lugar protegido de la luz mientras se descongela, pues este reactivo es fotosensible.

- Tomar las probetas de **RT EnzymeMix** que se necesiten. Cada probeta es suficiente para **48 análisis**. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.

**NOTA!**

La mezcla **RT EnzymeMix** no debe exponerse a temperaturas superiores a unos  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante más de 10 minutos.

- Preparar una probeta de 2 mL (Sarstedt, ref. 72.694.005, no incluida en el kit) para cada **mezcla completa de reacción** y etiquetarla con un rotulador permanente.
- Calcular los volúmenes necesarios de **BCR-ABL a2 PCR Mix**, **BCR-ABL a3 PCR Mix** y **RT EnzymeMix** para preparar la **mezcla completa de reacción** en función del número de muestras (N) que vayan a analizarse, tal como se describe en la tabla siguiente.

**Tabla 17**

Número de muestra (N)	BCR-ABL a2 PCR Mix y BCR-ABL a3 PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20\ \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3\ \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20\ \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3\ \mu\text{L}$
N = 12	290 $\mu\text{L}$	4,4 $\mu\text{L}$
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20\ \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3\ \mu\text{L}$
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20\ \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3\ \mu\text{L}$
N = 24	580 $\mu\text{L}$	8,7 $\mu\text{L}$

- Preparar la **mezcla completa de reacción** vertiendo los volúmenes calculados de los dos componentes en la probeta de 2 mL etiquetada. Mezclar mediante vórtex a baja velocidad tres veces durante 10 segundos, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservar en hielo o en el bloque refrigerado.

**NOTA!**

La **mezcla completa de reacción** puede utilizarse en el plazo de **7 horas** si se mantiene refrigerada (para 2 sesiones de 3,5 horas cada una). La mezcla completa de reacción **no puede** conservarse para reutilizarla.

**NOTA!**

la **mezcla completa de reacción** es fotosensible, por lo que no debe exponerse a la luz directa.

- Comenzando a partir de los lisados de LSP (**configuración A**), para cada muestra, llevar a cabo una sesión integrada en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR) con la **BCR-ABL a2 PCR Mix** y una sesión de amplificación en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR) con la **BCR-ABL a3 PCR Mix**.
- Comenzando a partir de los productos de extracción (**configuración B**), para cada muestra, llevar a cabo dos sesiones de amplificación en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR), tanto con la **BCR-ABL a2 PCR Mix** como con la **BCR-ABL a3 PCR Mix**.

**NOTA!**

se recomienda crear una plantilla en el instrumento para facilitar la configuración de la sesión (consultar las instrucciones de uso del ELITe BeGenius).

Para configurar uno de los tres tipos de sesión, realizar los pasos siguientes conforme a las instrucciones de la interfaz:

**Tabla 18**

	<b>A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).</b>	<b>B. Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)</b>	<b>C. Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).</b>
<b>1</b>	<b>Identificar las muestras pretratadas</b> y, en caso necesario, descongelar a temperatura ambiente, mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado. Para este ensayo, es preciso verter <b>200 µL de muestra</b> en una probeta Sarstedt de 2 mL.	<b>Descongelar los «Elution Tubes»</b> (Tubos de elución) que contienen los ácidos nucleicos extraídos a temperatura ambiente. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.	<b>Descongelar las probetas de Positive Control</b> (a2 y a3) a temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada probeta es suficiente para 4 reacciones. Mezclar con cuidado, centrifugar el contenido durante 5 segundos y, después, conservarlo en hielo o en el bloque refrigerado.
<b>2</b>	No aplicable	No aplicable	<b>Preparar</b> las probetas de <b>Negative Control</b> (a2 y a3) vertiendo al menos 50 µL de agua para biología molecular en la «Elution Tube» (Tubo de elución) que se incluye con el <b>ELITe InGenius SP 200 Consumable Set</b> .
<b>3</b>	Seleccionar <b>«Perform Run» (Realizar ejecución)</b> en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar <b>«Perform Run» (Realizar ejecución)</b> en la pantalla «Home» (Inicio).	Seleccionar <b>«Perform Run» (Realizar ejecución)</b> en la pantalla «Home» (Inicio).
<b>4</b>	Extraer todas las gradillas de la «Cooler Unit» y colocarlas en la mesa de preparación.	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la mesa de preparación.	Extraer las racks de los «Lanes» 1, 2 y 3 (L1, L2, L3) de la «Cooler Unit» y colocarlas en la mesa de preparación.
<b>5</b>	Seleccionar el «Run Mode»: <b>«Extract + PCR» (Extracción + PCR).</b>	Seleccionar el «Run Mode»: <b>«PCR Only» (Solo PCR).</b>	Seleccionar el «Run Mode»: <b>«PCR Only» (Solo PCR).</b>
<b>6</b>	<b>Cargar las muestras</b> en la «Sample Rack» (rack de muestras). Cuando se cargan probetas secundarias «2 mL Tubes», utilizar los adaptadores azules para la «Sample Rack» (rack de muestras).	<b>Cargar las muestras</b> en la «Elution Rack» (rejilla de elución).	<b>Cargar las probetas de Positive Control y de Negative Control</b> en la «Elution Rack» (rejilla de elución).
<b>7</b>	<b>Insertar la «Sample Rack»</b> (rack de muestras) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 5 (L5). Insertar el «SID» (ID de la muestra) para cada posición utilizada (si las probetas secundarias están cargadas, marcar la probeta de 2 mL («2 mL Tube»). Si las probetas secundarias no tienen códigos de barras, introducir manualmente el ID de las muestras.	<b>Insertar la «Elution Rack»</b> (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). Para cada «Position» (posición), introducir el «SID» (ID de la muestra), la «Sample matrix» (matriz de la muestra), el «Extraction kit» (kit de extracción) y el «Extracted Eluate Volume» (volumen de eluido)	<b>Insertar la «Elution Rack»</b> (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3). En caso necesario, para cada «Position» introducir el «Reagent name» (nombre del reactivo), el «S/N» (número de serie) el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
<b>8</b>	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.

Tabla 18 (continued)

	<b>A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).</b>	<b>B. Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)</b>	<b>C. Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).</b>
9	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.	Asegurarse de que «Extraction Input Volume» (Volumen inicial de extracción) esté configurado a 200 µL y «Extracted Elute Volume» (Volumen de elución extraído), a 100 µL.
10	<b>Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo)</b> en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles»: para muestra que vaya a extraerse, asignar los Assay Protocols (protocolos de ensayo) a2, en el modo «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y a3, en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).	<b>Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo)</b> en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles»; para cada eluido, asignar los dos Assay Protocols (protocolos de ensayo) a2 y a3.	<b>Seleccionar el Assay Protocol (protocolo de ensayo)</b> a2 y a3 en la columna «Assay» (Ensayo); consultar la sección «Muestras y controles».
11	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
12	Cargar los «Elution Tubes» (Tubos de elución) en la «Elution Rack» (rejilla de elución); las probetas de elución pueden etiquetarse con un código de barras para mejorar la rastreabilidad.	No aplicable	No aplicable
13	Insertar la «Elution Rack» (rejilla de elución) en la «Cooler Unit», comenzando por el Lane 3 (L3).	No aplicable	No aplicable
14	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	No aplicable	No aplicable
15	<b>Cargar la mezcla completa de reacción</b> en la «Reagent/Elution Rack». (rejilla de reactivos/elución).	<b>Cargar la mezcla completa de reacción</b> en la «Reagent/Elution Rack». (rejilla de reactivos/elución).	<b>Cargar la mezcla completa de reacción</b> en la «Reagent/Elution Rack». (rejilla de reactivos/elución).
16	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). Para cada reactivo de la PCR Mix, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). Para cada reactivo de la PCR Mix, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).	Insertar la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) en el Lane 2 (L2) de la «Cooler Unit» o, si está disponible, en el Lane 1 (L1). Para cada reactivo de la PCR Mix, rellenar el «S/N» (número de serie), el «Lot No.» (número de lote), la «Exp. Date» (fecha de caducidad) y el «T/R» (número de reacciones).
17	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
18	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.	Verificar las puntas en el área de «Tip Racks» (rack de puntas) del «Inventory Area» (área del inventario) y, en caso necesario, sustituir la gradilla o las gradillas de puntas que corresponda.
19	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.

Tabla 18 (continued)

	<b>A. Sesión de la muestra; modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).</b>	<b>B. Sesión con la muestra eluida; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR)</b>	<b>C. Sesión para el Positive Control y el Negative Control; modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).</b>
20	Cargar la «PCR Rack» con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «PCR Rack» con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).	Cargar la «PCR Rack» con el PCR Cassette en la «Inventory Area» (área del inventario).
21	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.	Hacer clic en «Next» (Siguiente) para continuar.
22	Cargar la «Extraction Rack» (contenedores de extracción) con los cartuchos de extracción «ELITE InGenius SP RNA», las probetas de «ELITE InGenius DNase I» (sin tapón) y los consumibles de extracción necesarios.	No aplicable	No aplicable
23	En la pantalla DNase I, introducir «DNase I» en «Reagent Name» (Nombre del reactivo) e introducir también el número de lote y la fecha de caducidad.	No aplicable	No aplicable
24	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.	Cerrar la puerta del instrumento.
25	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).	Pulsar «Start» (Inicio).

**NOTA!**

se recomienda esperar unos minutos después de iniciar la sesión para verificar la correcta aspiración de las muestras a partir de la probeta de 2 mL. En ocasiones, puede que el instrumento muestre el error 20081 (consultar la sección «Problemas y soluciones»).

Una vez finalizada la sesión, el **ELITE BeGenius** permite mostrar, aprobar y guardar los resultados, así como imprimir y guardar el informe.

**NOTA!**

al finalizar la sesión, la parte que queda de la muestra extraída en la «**Elution Tube**» (Tubo de elución) debe extraerse del instrumento, taparse, identificarse y conservarse a  $-20 \pm 10$  °C durante un máximo de un mes. Evitar derramar la muestra extraída.

**NOTA!**

La **mezcla completa de reacción** puede guardarse en el bloque refrigerado durante un máximo de 7 horas (para dos sesiones de 3,5 horas cada una y durante el tiempo necesario para iniciar una tercera sesión). Mezclar con cuidado y, después, centrifugar el contenido durante 5 segundos antes de iniciar la siguiente sesión. La mezcla completa de reacción no puede conservarse para reutilizarla.

**NOTA!**

Al finalizar la sesión, la parte que queda del **Positive Control** puede extraerse del instrumento, taparse y conservarse a  $-20$  °C o a una temperatura inferior. Evitar derramar el Positive Control. La parte que queda del **Negative Control** debe eliminarse.

**NOTA!**

El **BCR-ABL a2 Positive Control** y el **BCR-ABL a3 Positive Control** pueden utilizarse para 4 sesiones independientes de 3,5 horas cada una.

**NOTA!**

Al finalizar la sesión, los cartuchos **PCR Cassette** y el resto de consumibles deben eliminarse siguiendo las normativas gubernamentales y medioambientales. Evitar derramar los productos de reacción.

**10.3 PASO 3. Evaluación y aprobación de los resultados**

El **ELITe BeGenius** supervisa las señales de fluorescencia de la diana y del Internal Control para cada reacción y aplica automáticamente los parámetros del Assay Protocol (Protocolo de ensayo) para generar curvas de PCR que, después, se convierten en resultados.

Al finalizar la sesión, aparece automáticamente la pantalla «Results Display» (Presentación de resultados). En esta pantalla se muestran los resultados y la información de la sesión. Desde esta pantalla, es posible aprobar dichos resultados, así como imprimir o guardar los informes («Sample Report» o «Track Report»). Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

**NOTA!**

Cuando se utiliza el producto **BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit**, se llevan a cabo dos sesiones de amplificación para cada muestra utilizando la **BCR-ABL a2 PCR Mix** (para las isoformas a2 de BCR-ABL) y **BCR-ABL a3 PCR Mix** (para las isoformas a3 de BCR-ABL). El análisis de los resultados debe realizarse en las dos sesiones.

**NOTA!**

el **ELITe BeGenius** puede conectarse al «Laboratory Information System» (sistema de información de laboratorios, LIS), que permite cargar los resultados de la sesión en el centro de datos del laboratorio. Para obtener más información, consultar las instrucciones de uso del instrumento.

El instrumento **ELITe BeGenius** genera los resultados con el producto **BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit** mediante el siguiente procedimiento:

- Validación de los resultados del Positive Control y del Negative Control
- Validación de los resultados de las muestras.
- Generación del informe de resultados de la muestra

**NOTA!**

consultar el mismo apartado del **procedimiento con el ELITe InGenius** para obtener más información.

**11 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO****11.1 Límite de detección (LoD)**

El límite de detección (LoD) del ensayo se determinó para la isoforma p210 e14a2 de BCR-ABL en el instrumento ELITe BeGenius analizando material de referencia negativo para ARN de BCR-ABL, que se enriqueció a baja concentración con material de referencia positivo para ARN de p210 e14a2 (Invivoscribe).

Se realizó un análisis de regresión Probit en los resultados y el LoD se calculó como la concentración correspondiente al 95 % de probabilidad de un resultado positivo. Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

**Tabla 19**

Diana	Límite de detección		Límites del intervalo de confianza del 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
p210 e14a2	Dilución	0,0000259	0,0000148	0,0000694
	Dilución log	-4,6	-4,8	-4,2

El ARNm de p210 e14a2 de las muestras enriquecidas a la concentración del LoD se cuantificó a continuación y dio un resultado de 8 copias/reacción (p210% = 0,0066 %). El valor del LoD calculado se verificó para las dianas analizando ARNm negativos extraídos de muestras de LSP enriquecidas con ADN plasmídicos de p190 e1a2, p195 e6a2, p210 e13a2, p210 e14a2, p200 e8a2, p230 e19a2, p190 e1a3, p195 e6a3, p210 e13a3, p210 e14a3, p200 e8a3, p230 e19a3 (GenScript) a la concentración declarada, tanto en el ELITE BeGenius como en el ELITE InGenius. Cuando fue necesario, también se aumentó la concentración de la diana. Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

**Tabla 20**

BCR-ABL a2 PCR Mix	
Diana	Límite de detección (copias/reacción)
p190 e1a2	8
p195 e6a2	8
p200 e8a2	50
p210 e13a2	8
p210 e14a2	8
p230 e19a2	20
BCR-ABL a3 PCR Mix	
Diana	Límite de detección (copias/reacción)
p190 e1a3	8
p195 e6a3	20
p200 e8a3	50
p210 e13a3	8
p210 e14a3	20
p230 e19a3	50

Los valores del LoD indicados en la tabla se confirmaron tanto en el ELITE BeGenius como en el ELITE InGenius.

## 11.2 Inclusividad: eficacia de la detección en diferentes isoformas de BCR-ABL

La inclusividad del ensayo, expresado como la eficacia de la detección para las principales isoformas de BCR-ABL, se evaluó mediante un análisis informático. El análisis demostró un alto nivel de conservación de la secuencia y la ausencia de mutaciones reseñables. Así pues, cabe esperar una amplificación y una detección eficaces de las isoformas de BCR-ABL.

La inclusividad también se verificó analizando material de referencia de ARN negativo para BCR-ABL, que se enriqueció a baja concentración con ARN sintético (GenScript) para cada diana. Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

**Tabla 21**

BCR-ABL a2 PCR Mix			
Diana	Isoforma	Pos./Dup.	Resultado
p190	e1a2	4/4	p190: RNA Detected e1a2
p195	e6a2	4/4	p195: RNA Detected e6a2

**Tabla 21 (continued)**

p200	e8a2	4/4	p200: RNA Detected e8a2
p210	e13a2	4/4	p210: RNA Detected e13a2
	e14a2	4/4	p210: RNA Detected e14a2
p230	e19a2	8/8	p230: RNA Detected e19a2
<b>BCR-ABL a3 PCR Mix</b>			
<b>Diana</b>	<b>Isoforma</b>	<b>Pos./Dup.</b>	<b>Resultado</b>
p190	e1a3	4/4	p190: RNA Detected e1a3
p195	e6a3	4/4	p195: RNA Detected e6a3
p200	e8a3	4/4	p200: RNA Detected e8a3
p210	e13a3	4/4	p210: RNA Detected e13a3
	e14a3	4/4	p210: RNA Detected e14a3
p230	e19a3	8/8	p230: RNA Detected e19a3

Todas las muestras se detectaron correctamente con el producto BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit.

### 11.3 Interferencia entre dianas

La interferencia potencial entre las dianas del ensayo se evaluó analizando una amplificación simultánea en material de referencia negativo para ARN de BCR-ABL, que se enriqueció con ADN plasmídicos (GenScript) de las isoformas más frecuentes.

Para cada diana, la concentración más baja detectable en todos los duplicados se indica en la tabla siguiente.

**Tabla 22**

<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b>	
<b>Diana principal a 100.000 copias/reacción</b>	<b>Segunda diana a baja concentración</b>
p190 e1a2	p210 e13a2, 100 copias/reacción
	p210 e14a2, 100 copias/reacción
p210 e13a2	p190 e1a2, 100 copias/reacción
	p210 e14a2, 10.000 copias/reacción
p210 e14a2	p190 e1a2, 100 copias/reacción
	p210 e13a2, 1.000 copias/reacción
<b>BCR-ABL a3 PCR Mix</b>	
<b>Diana principal a 100.000 copias/reacción</b>	<b>Segunda diana a baja concentración</b>
p190 e1a3	p210 e13a3, 100 copias/reacción
	p210 e14a3, 100 copias/reacción
p210 e13a3	p190 e1a3, 100 copias/reacción
	p210 e14a3, 20.000 copias/reacción

**Tabla 22 (continued)**

p210 e14a3	p190 e1a3, 100 copias/reacción
	p210 e13a3, 5.000 copias/reacción

El producto BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit muestra una interferencia mínima en los casos en los que se produce una expresión simultánea de dos de las isoformas más frecuentes de BCR-ABL. Cuando se encuentra en canales diferentes, la segunda diana puede detectarse incluso cuando su concentración es aproximadamente 1000 veces inferior a la de la diana principal.

#### 11.4 Marcadores potencialmente interferentes: reactividad cruzada

La reactividad cruzada potencial con otros marcadores que pueden encontrarse en las muestras de sangre se evaluó para el ensayo mediante un análisis *informático*. El análisis no presentó ninguna homología reseñable con otros marcadores imprevistos (reordenaciones imprevistas de genes humanos, virus, bacterias, protozoos y hongos) y, por lo tanto, no cabe esperar reactividad cruzada.

La ausencia de reactividad cruzada con los marcadores potencialmente interferentes también se verificó analizando un panel de marcadores imprevistos (Sigma-Aldrich, Invivoscribe, ATCC, ZeptoMetrix), que se enriquecieron con material de referencia de ARN negativo para BCR-ABL.

Los resultados que se muestran en la tabla siguiente se obtuvieron tanto con la BCR-ABL a2 PCR Mix como con la BCR-ABL a3 PCR Mix.

**Tabla 23**

Marcador	Muestras positivas/Duplicados						Resultado
	p190	p200	p195	p210	p230	p190	
ADN genómico humano	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
PML-RAR $\alpha$	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
Inv(16)	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
VEB	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
CMV	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
HHV-6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
HHV-7	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
HHV-8	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
VIH-1	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada

Ninguno de los marcadores potencialmente interferentes analizados mostró reactividad cruzada cuando se utilizó el producto BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit.

#### 11.5 Marcadores potencialmente interferentes: inhibición

La inhibición potencial causada por marcadores imprevistos que pueden encontrarse en las muestras de sangre se evaluó para el ensayo analizando un panel de marcadores imprevistos (Sigma-Aldrich, Invivoscribe, ATCC, ZeptoMetrix), que se enriquecieron con ADN plasmídicos (GenScript) de todas las dianas en material de referencia negativo para ARN de BCR-ABL.

Los resultados que se muestran en la tabla siguiente se obtuvieron tanto con la BCR-ABL a2 PCR Mix como con la BCR-ABL a3 PCR Mix.

Tabla 24

Marcador	Muestras positivas/Duplicados						Resultado
	p190	p200	p195	p210 e13	p210 e14	p230	
ADNgh	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
PML-RAR $\alpha$	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
Inv(16)	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
VEB	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
CMV	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
HHV-6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
HHV-7	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
HHV-8	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
VIH-1	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia

Ninguno de los marcadores potencialmente interferentes analizados presentó inhibición de la amplificación de las dianas cuando se utilizó el producto BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit.

### 11.6 Sustancias potencialmente interferentes: reactividad cruzada

La reactividad cruzada provocada por las sustancias potencialmente interferentes (endógenas y exógenas) que pueden encontrarse en las muestras de sangre se evaluó para el ensayo analizando un panel de sustancias (Sigma-Aldrich) a la concentración pertinente, que se enriquecieron en muestras simuladas negativas para BCR-ABL.

Los resultados que se muestran en la tabla siguiente se obtuvieron tanto con la BCR-ABL a2 PCR Mix como con la BCR-ABL a3 PCR Mix.

Tabla 25

Sustancia	Muestras positivas/Duplicados					Resultado
	p190	p200	p195	p210	p230	
Hemoglobina	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
Bilirrubina	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
Triglicéridos	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
EDTA	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
Heparina	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
Ganciclovir	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
Sulfato de abacavir	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
Cidofovir	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada

**Tabla 25 (continued)**

Sustancia	Muestras positivas/Duplicados					Resultado
	p190	p200	p195	p210	p230	
Ribavirina	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
Amoxicilina + clavulanato	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
Cefpodoxima	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
Azitromicina	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada
Ciprofloxacino	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Sin reactividad cruzada

El análisis demostró que ninguna de las sustancias analizadas presentan una reacción cruzada con las dianas cuando se utiliza el producto BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit

### 11.7 Sustancias potencialmente interferentes: inhibición

La inhibición potencial de las sustancias potencialmente interferentes (endógenas y exógenas) que pueden encontrarse en las muestras de sangre se evaluó para el ensayo analizando un panel de sustancias a la concentración pertinente, que se enriquecieron con ADN plasmídicos (GenScript) de todas las dianas en muestras simuladas negativas para BCR-ABL.

Los resultados que se muestran en la tabla siguiente se obtuvieron tanto con la BCR-ABL a2 PCR Mix como con la BCR-ABL a3 PCR Mix.

**Tabla 26**

Sustancia	Muestras positivas/Duplicados						Resultado
	p190	p200	p195	p210 e13	p210 e14	p230	
Hemoglobina	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
Bilirrubina	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
Triglicéridos	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
EDTA	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
Heparina	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
Ganciclovir	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
Sulfato de abacavir	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
Cidofovir	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
Ribavirina	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
Amoxicilina + clavulanato	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
Cefpodoxima	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
Azitromicina	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia
Ciprofloxacino	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Sin interferencia

El análisis demostró que las sustancias analizadas no inhiben la detección de las dianas cuando se utiliza el producto BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit.

### 11.8 Contaminación cruzada

La posible contaminación cruzada durante el análisis se evaluó para el ensayo analizando 60 muestras simuladas negativas para BCR-ABL y 60 duplicados de muestras simuladas positivas para BCR-ABL, que se enriquecieron con ARN sintético de p210 e14a2 (GenScript) a una concentración de aproximadamente  $1 \times 10^{10}$  copias/mL en 5 sesiones.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

**Tabla 27**

Muestras	N	Positivas	Negativas	% de concordancia
Positivas	60	60	0	100 %
Negativas	60	0	60	100 %

En este análisis con el producto BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit, no se detectó contaminación cruzada dentro de las propias sesiones ni entre las sesiones.

### 11.9 Tasa total de fallos del sistema

La tasa total de fallos del sistema para el ensayo se evaluó analizando 50 muestras de LSP negativas para BCR-ABL, que se enriquecieron con material de referencia de ARN de p190 e1a2 (Invivoscribe) a baja concentración.

Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

**Tabla 28**

Muestras	N	Positivas	Negativas	Tasa total de fallos del sistema
LSP enriquecidos a baja concentración	50	50	0	0 %

En este análisis con el producto BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit, todas las muestras de LSP se confirmaron como positivas y la tasa total de fallos del sistema fue del 0 %.

### 11.10 Repetibilidad

La repetibilidad del ensayo se evaluó en el ELITE BeGenius y en el ELITE InGenius analizando un panel de muestras simuladas negativas para BCR-ABL y muestras simuladas positivas para BCR-ABL, que se enriquecieron con ARN sintéticos de BCR-ABL (GenScript) tal como se indica a continuación:

- NEG: muestra simulada, negativa.
- GRUPO A: muestra simulada, positiva para p190 e1a2, p210 e14a2, p190 e1a3 y p210 e14a3.
- GRUPO B: muestra simulada, positiva para p195 e6a2, p210 e13a2, p195 e6a3 y p210 e13a3.
- GRUPO C: muestra simulada, positiva para p200 e8a2, p230 e19a2, p200 e8a3 y p230 e19a3.

En la tabla siguiente se incluye un ejemplo de los resultados de repetibilidad dentro de las sesiones (en un día) obtenidos con el ELITE BeGenius.

Tabla 29

Muestra	Diana	N	Ct medio	DE de Ct	%CV del Ct	Tm media	DE de Tm	%CV de la Tm	% de concordancia
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b>									
NEG	p190 e1a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	29,19	0,38	1,31	69,2	0,23	0,33	100 %
GRUPO B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		6	-	-	-	70,0	0,34	0,48	100 %
GRUPO C		6	28,73	0,46	1,58	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		6	29,99	0,25	0,85	-	-	-	100 %
GRUPO C		6	-	-	-	67,5	0,42	0,63	100 %
NEG	P210 e13a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	29,51	0,62	2,12	66,2	0,16	0,25	100 %
GRUPO B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		6	32,11	0,44	1,38	56,5	0,18	0,31	100 %
GRUPO C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		6	30,57	0,70	2,29	71,3	0,50	0,70	100 %
<b>BCR-ABL a3 PCR Mix</b>									
NEG	p190 e1a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	29,83	0,14	0,46	64,0	0,08	0,12	100 %
GRUPO B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		6	-	-	-	-	-	-	100 %

Tabla 29 (continued)

Muestra	Diana	N	Ct medio	DE de Ct	%CV del Ct	Tm media	DE de Tm	%CV de la Tm	% de concordancia
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b>									
NEG	P195 e6a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		6	29,85	0,32	1,06	-	-	-	100 %
GRUPO C		6	-	-	-	67,9	0,17	0,25	100 %
NEG	P200 e8a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		6	-	-	-	67,5	0,30	0,44	100 %
GRUPO C		6	28,41	0,27	0,95	-	-	-	100 %
NEG	P210 e13a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	29,36	0,64	2,19	65,0	0,21	0,32	100 %
GRUPO B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		6	29,81	0,53	1,79	57,0	0,20	0,35	100 %
GRUPO C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		6	28,94	0,41	1,43	64,9	0,13	0,19	100 %

En la tabla siguiente se incluye un ejemplo de los resultados de repetibilidad dentro de las sesiones (en un día) obtenidos con el ELITE InGenius.

Tabla 30

Muestra	Diana	N	Ct medio	DE de Ct	%CV del Ct	Tm media	DE de Tm	%CV de la Tm	% de concordancia
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b>									
NEG	p190 e1a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	28,30	0,37	1,31	69,8	0,08	0,12	100 %
GRUPO B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		6	29,13	0,13	0,43	70,8	0,00	0,00	100 %
GRUPO C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		6	28,16	0,26	0,92	68,1	0,11	0,16	100 %
NEG	P210 e13a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	29,35	0,34	1,15	67,2	0,14	0,21	100 %
GRUPO B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		6	31,74	0,26	0,81	57,8	0,41	0,71	100 %
GRUPO C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		6	24,09	0,22	0,77	72,0	0,05	0,07	100 %
<b>BCR-ABL a3 PCR Mix</b>									
NEG	p190 e1a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	28,58	0,53	1,85	64,5	0,06	0,10	100 %
GRUPO B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		6	-	-	-	-	-	-	100 %

Tabla 30 (continued)

Muestra	Diana	N	Ct medio	DE de Ct	%CV del Ct	Tm media	DE de Tm	%CV de la Tm	% de concordancia
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b>									
NEG	P195 e6a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		6	28,25	0,10	0,36	68,3	0,10	0,15	100 %
GRUPO C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		6	27,07	0,23	0,86	68,3	0,16	0,24	100 %
NEG	P210 e13a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	29,19	0,48	1,64	65,1	0,08	0,13	100 %
GRUPO B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		6	29,33	0,18	0,60	57,6	0,04	0,07	100 %
GRUPO C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		6	25,97	0,27	1,04	65,4	0,05	0,08	100 %

En las tablas siguientes se incluye un ejemplo de los resultados de repetibilidad entre sesiones (en dos días) obtenidos con el ELITe BeGenius.

Tabla 31

Muestra	Diana	N	Ct medio	DE de Ct	%CV del Ct	Tm media	DE de Tm	%CV de la Tm	% de concordancia
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b>									
NEG	p190 e1a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	29,38	0,47	1,81	69,2	0,19	0,27	100 %
GRUPO B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		12	30,13	0,31	1,03	70,1	0,62	0,89	100 %
GRUPO C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		12	28,89	0,39	1,36	67,7	0,37	0,55	100 %
NEG	P210 e13a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	29,52	0,58	1,98	66,1	0,29	0,43	100 %
GRUPO B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		12	32,23	0,37	1,16	56,9	0,63	1,10	100 %
GRUPO C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		12	30,44	0,53	1,74	71,5	0,44	0,62	100 %
<b>BCR-ABL a3 PCR Mix</b>									
NEG	p190 e1a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	29,90	0,38	1,27	64,0	0,06	0,10	100 %
GRUPO B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		12	-	-	-	-	-	-	100 %

Tabla 31 (continued)

Muestra	Diana	N	Ct medio	DE de Ct	%CV del Ct	Tm media	DE de Tm	%CV de la Tm	% de concordancia
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b>									
NEG	P195 e6a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		12	29,57	0,43	1,44	67,8	0,39	0,58	100 %
GRUPO C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		12	28,22	0,33	1,18	68,0	0,15	0,22	100 %
NEG	P210 e13a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	29,27	0,65	2,22	65,0	0,20	0,31	100 %
GRUPO B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		12	29,68	0,48	1,63	57,1	0,21	0,37	100 %
GRUPO C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		12	28,53	0,55	1,92	65,0	0,15	0,23	100 %

En la tabla siguiente se incluye un ejemplo de los resultados de repetibilidad entre sesiones (en dos días) obtenidos con el ELITE InGenius.

Tabla 32

Muestra	Diana	N	Ct medio	DE de Ct	%CV del Ct	Tm media	DE de Tm	%CV de la Tm	% de concordancia
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b>									
NEG	p190 e1a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	28,29	0,43	1,51	69,8	0,07	0,11	100 %
GRUPO B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		12	29,19	0,17	0,59	70,8	0,08	0,11	100 %
GRUPO C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		12	27,86	0,47	1,69	68,2	0,12	0,18	100 %
NEG	P210 e13a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	29,36	0,35	1,20	67,1	0,07	0,10	100 %
GRUPO B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		12	31,78	0,25	0,78	58,5	0,11	0,19	100 %
GRUPO C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		12	27,85	0,31	1,11	72,0	0,08	0,11	100 %
<b>BCR-ABL a3 PCR Mix</b>									
NEG	p190 e1a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	28,56	0,48	1,68	64,5	0,06	0,09	100 %
GRUPO B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		12	-	-	-	-	-	-	100 %

Tabla 32 (continued)

Muestra	Diana	N	Ct medio	DE de Ct	%CV del Ct	Tm media	DE de Tm	%CV de la Tm	% de concordancia
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b>									
NEG	P195 e6a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		12	28,56	0,37	1,30	68,3	0,07	0,11	100 %
GRUPO C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		12	26,78	0,36	1,34	68,3	0,14	0,21	100 %
NEG	P210 e13a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	29,12	0,42	1,45	65,1	0,08	0,13	100 %
GRUPO B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		12	29,64	0,38	1,28	57,5	0,05	0,09	100 %
GRUPO C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		12	25,85	0,26	1,02	65,4	0,06	0,10	100 %

En el ensayo de repetibilidad, el producto BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit detectó todas las muestras tal como se esperaba y presentó una variabilidad máxima de los valores Ct de la diana como un %CV del 3,19 %.

### 11.11 Reproducibilidad

La reproducibilidad del ensayo se evaluó en el ELITE BeGenius y el ELITE InGenius analizando un panel de muestras simuladas de LSP negativos o enriquecidos con un panel de ARN sintéticos de BCR-ABL (GenScript) tal como se ha descrito en el análisis anterior.

Los resultados de reproducibilidad entre lotes (en seis días y tres lotes) obtenidos con el ELITE BeGenius se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 33

Muestra	Diana	N	Ct medio	DE de Ct	%CV del Ct	Tm media	DE de Tm	%CV de la Tm	% de concordancia
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b>									
NEG	p190 e1a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	29,08	0,42	1,44	69,2	0,21	0,30	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	29,62	0,57	1,91	69,9	0,59	0,84	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	28,77	0,49	1,69	67,6	0,28	0,42	100 %
NEG	P210 e13a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	29,25	0,50	1,72	66,1	0,70	1,06	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	31,99	0,49	1,52	56,7	0,44	0,78	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	29,67	0,76	2,55	71,4	0,36	0,51	100 %
<b>BCR-ABL a3 PCR Mix</b>									
NEG	p190 e1a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	29,24	0,59	2,00	63,9	0,11	0,17	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %

Tabla 33 (continued)

Muestra	Diana	N	Ct medio	DE de Ct	%CV del Ct	Tm media	DE de Tm	%CV de la Tm	% de concordancia
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b>									
NEG	P195 e6a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	29,21	0,48	1,63	67,7	0,26	0,39	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	28,20	0,50	1,79	67,8	0,20	0,29	100 %
NEG	P210 e13a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	28,85	0,66	2,29	65,0	0,19	0,29	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	29,66	1,07	3,61	57,1	0,17	0,29	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	28,02	0,70	2,51	64,8	0,31	0,47	100 %

Los resultados de reproducibilidad entre lotes (en doce días y tres lotes) obtenidos con el ELITE InGenius se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 34

Muestra	Diana	N	Ct medio	DE de Ct	%CV del Ct	Tm media	DE de Tm	%CV de la Tm	% de concordancia
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b>									
NEG	p190 e1a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	27,85	0,53	1,91	69,7	0,09	0,13	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	28,73	0,41	1,42	70,8	0,07	0,10	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	27,58	0,49	1,77	68,2	0,12	0,18	100 %
NEG	P210 e13a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	28,66	0,72	2,50	67,1	0,37	0,55	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	31,36	0,37	1,18	58,2	0,38	0,65	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	27,28	0,53	1,94	64,8	0,31	0,47	100 %
<b>BCR-ABL a3 PCR Mix</b>									
NEG	p190 e1a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	27,99	0,65	2,32	64,4	0,12	0,19	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %

Tabla 34 (continued)

Muestra	Diana	N	Ct medio	DE de Ct	%CV del Ct	Tm media	DE de Tm	%CV de la Tm	% de concordancia
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b>									
NEG	P195 e6a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	28,22	0,40	1,43	68,4	0,08	0,12	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	26,76	0,47	1,74	68,3	0,15	0,21	100 %
NEG	P210 e13a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	28,24	1,07	3,80	65,2	0,13	0,19	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	29,10	0,63	2,18	57,6	0,10	0,17	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	25,67	0,57	2,21	65,3	0,28	0,42	100 %

Los resultados de reproducibilidad entre instrumentos (en seis días, tres lotes y tres instrumentos) obtenidos con el ELITe BeGenius se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 35

Muestra	Diana	N	Ct medio	DE de Ct	%CV del Ct	Tm media	DE de Tm	%CV de la Tm	% de concordancia
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b>									
NEG	p190 e1a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	29,19	0,39	1,35	69,3	0,22	0,32	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	29,56	0,47	1,58	70,1	0,49	0,70	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	28,71	0,44	1,55	67,7	0,15	0,23	100 %
NEG	P210 e13a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	29,09	0,46	1,58	66,2	0,69	1,04	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	31,80	0,46	1,44	56,7	0,58	1,02	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	29,03	0,43	1,50	71,5	0,21	0,30	100 %
<b>BCR-ABL a3 PCR Mix</b>									
NEG	p190 e1a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	29,35	0,66	2,24	63,9	0,14	0,22	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %

Tabla 35 (continued)

Muestra	Diana	N	Ct medio	DE de Ct	%CV del Ct	Tm media	DE de Tm	%CV de la Tm	% de concordancia
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b>									
NEG	P195 e6a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	29,08	0,48	1,66	67,7	0,30	0,44	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	28,10	0,36	1,29	67,7	0,21	0,31	100 %
NEG	P210 e13a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	28,36	1,25	4,42	64,9	0,23	0,35	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	26,69	1,05	3,54	57,1	0,20	0,36	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	27,65	0,60	2,18	64,8	0,31	0,48	100 %

Los resultados de reproducibilidad entre instrumentos (en doce días, tres lotes y tres instrumentos) obtenidos con el ELITE InGenius se muestran en la tabla siguiente.

Tabla 36

Muestra	Diana	N	Ct medio	DE de Ct	%CV del Ct	Tm media	DE de Tm	%CV de la Tm	% de concordancia
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b>									
NEG	p190 e1a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	28,02	0,39	1,40	69,8	0,13	0,19	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	28,85	0,50	1,75	70,8	0,28	0,39	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P195 e6a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	27,67	0,44	1,59	68,3	0,16	0,24	100 %
NEG	P210 e13a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	28,71	0,29	1,01	67,1	0,11	0,17	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	31,52	0,41	1,30	58,1	0,40	0,68	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	27,20	0,49	1,80	72,0	0,12	0,17	100 %
<b>BCR-ABL a3 PCR Mix</b>									
NEG	p190 e1a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	28,24	0,28	0,98	64,4	0,16	0,24	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %

Tabla 36 (continued)

Muestra	Diana	N	Ct medio	DE de Ct	%CV del Ct	Tm media	DE de Tm	%CV de la Tm	% de concordancia
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b>									
NEG	P195 e6a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	28,29	0,43	1,52	68,4	0,13	0,19	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P200 e8a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	26,79	0,50	1,86	68,3	0,25	0,36	100 %
NEG	P210 e13a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	28,78	0,54	1,88	65,2	0,18	0,28	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P210 e14a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	29,32	0,54	1,85	57,6	0,08	0,14	100 %
GRUPO C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NEG	P230 e19a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GRUPO C		36	25,65	0,69	2,68	65,3	0,30	0,46	100 %

En el ensayo de reproducibilidad, el producto BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit detectó todas las muestras tal como se esperaba y presentó una variabilidad máxima de los valores de Ct de la diana como un %CV del 4,42 %.

### 11.12 Especificidad diagnóstica: Confirmación de las muestras negativas

La especificidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras clínicas negativas, se evaluó en el ELITE InGenius analizando muestras clínicas de LSP, que se certificaron como negativos o supuestamente negativos para cada diana.

Como el ELITE BeGenius presenta un rendimiento analítico equivalente al del ELITE InGenius, el rendimiento diagnóstico del ensayo observado en los dos instrumentos también se considera equivalente. Así pues, la especificidad diagnóstica del ensayo obtenida con el ELITE InGenius también es aplicable al ELITE BeGenius.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Tabla 37

Muestras de LSP negativas	N	Positivas	Negativas	% de especificidad diagnóstica
p190	60	0	60	100 %
p195	60	0	60	100 %
p200	60	0	60	100 %
p210	60	0	60	100 %
p230	60	0	60	100 %

Todas las muestras de LSP fueron válidas y negativas para el análisis.

El valor de corte para el Ct del IC se ha establecido a 31.

### 11.13 Sensibilidad diagnóstica: confirmación de muestras positivas

La sensibilidad diagnóstica del ensayo, expresada como confirmación de las muestras clínicas positivas, se evaluó en el ELITE InGenius analizando muestras clínicas de LSP, que se certificaron como positivas para cada diana o se enriquecieron con materiales de referencia.

Como el ELITE BeGenius presenta un rendimiento analítico equivalente al del ELITE InGenius, el rendimiento diagnóstico del ensayo observado en los dos instrumentos también se considera equivalente. Por lo tanto, la sensibilidad diagnóstica del ensayo obtenida con el ELITE InGenius también es aplicable al ELITE BeGenius.

Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Tabla 38

Muestras de LSP positivas o enriquecidas	N	Positivas	Negativas	% de sensibilidad diagnóstica
p190	Positivas para e1a2	1	1	100 %
	Enriquecidas con e1a2	25	25	
	Enriquecidas con e1a3	25	25	
p195	Enriquecidas con e6a2	25	25	100 %
	Enriquecidas con e6a3	25	25	
p200	Positivas para e8a2	1	1	98 %
	Enriquecidas con e8a2	25	25	
	Enriquecidas con e8a3	25	24	
p210	Positivas para e13a2	2	2	100 %
	Enriquecidas con e13a2	25	25	
	Enriquecidas con e13a3	25	25	
	Positivas para e14a2	3	3	
	Enriquecidas con e14a2	25	25	
	Enriquecidas con e14a3	25	25	

**Tabla 38 (continued)**

Muestras de LSP positivas o enriquecidas		N	Positivas	Negativas	% de sensibilidad diagnóstica
p230	Enriquecidas con e19a2	25	25	0	100 %
	Enriquecidas con e19a3	25	25	0	

Una muestra enriquecida con p200 e8a2 mostró un resultado negativo diferente del resto.

### NOTA!

Los datos y resultados completos de las pruebas realizadas para la evaluación de las características de rendimiento del producto con las matrices y el instrumento se recogen en la documentación técnica del producto BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit, FTP G07ING.

## 12 BIBLIOGRAFÍA

- N. C. P. Cross *et al.* (2023) *Leukemia* 37: 2150 - 2167
- M. Baccharani *et al.* (2019) *Leukemia* 33: 1173-1183.
- J. Gabert *et al.* (2003) *Leukemia*. 17: 2318–2357
- J. J. M. van Dongen *et al.* (1999) *Leukemia*. 13: 1901–1928
- E. A. Lukhtanov *et al.* (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30

## 13 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilizar este producto únicamente con las siguientes muestras clínicas: muestras de leucocitos de sangre periférica recogida en EDTA o citrato de sodio.

En la actualidad, no se dispone de datos acerca del rendimiento de este producto con otras muestras clínicas.

No utilizar este producto con muestras de sangre periférica recogida en heparina, pues esta inhibe la reacción de retrotranscriptasa y de PCR de los ácidos nucleicos y da lugar a resultados no válidos.

No utilizar con este producto ARN extraído que contenga altas cantidades de ADN genómico humano que pueda inhibir la reacción de retrotranscriptasa y de amplificación de ácidos nucleicos.

Los resultados obtenidos con este producto dependen de que las muestras se identifiquen, recojan, transporten, conserven y procesen de forma apropiada. Por lo tanto, con el fin de evitar resultados incorrectos, es necesario prestar especial atención durante estos pasos y seguir estrictamente las instrucciones incluidas con los productos.

Debido a su alta sensibilidad analítica, el método de PCR en tiempo real utilizado en este producto puede desarrollar contaminación con las muestras clínicas positivas, los controles positivos y los propios productos de la PCR. Una contaminación cruzada puede dar lugar a resultados falsos positivos. El formato del producto está diseñado para limitar la posibilidad de una contaminación cruzada. No obstante, esta solo puede evitarse procediendo conforme a las prácticas correctas de laboratorio y siguiendo estas instrucciones de uso.

Para utilizar este producto y con el fin de evitar accidentes con consecuencias potencialmente graves para el usuario y otras personas, se requiere personal cualificado y con la formación necesaria 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 un equipo de protección individual y áreas que sean adecuadas para procesar muestras biológicas potencialmente infecciosas o productos químicos clasificados como peligrosos.

Con el fin de evitar resultados falsos positivos, este producto requiere el uso de un equipo de protección individual e instrumentos especiales expresamente destinados a la configuración de la sesión de trabajo de que se trate.

Con el fin de evitar resultados incorrectos, este producto debe ser manipulado por profesionales debidamente formados y cualificados en técnicas de biología molecular, como la extracción, la retrotranscriptasa, la PCR y la detección de ácidos nucleicos.

Es necesario tener áreas separadas para la preparación de la mezcla de reacción completa y la extracción/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 indica que el ARN de la diana no se ha detectado en el ARN extraído de la muestra, si bien no puede descartarse que el ARN de la diana presente 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 el caso de producirse una expresión simultánea de más de una isoforma, la sensibilidad de una diana puede verse afectada por la amplificación de una segunda diana (consultar la sección «Características de rendimiento»).

Si se obtiene un resultado positivo en un análisis con varias isoformas, verificar el valor de Ct de cada variante. La expresión conjunta de las isoformas adicionales de BCR-ABL solo debe diagnosticarse cuando sus valores de Ct son similares a la isoforma principal detectada al valor de Ct más bajo (consultar N.P.C. Cross *et al.* 2023). De lo contrario, solo debe notificarse la isoforma principal al valor de Ct más bajo.

En el caso de la expresión de p210 e14a2 a un título bajo, en ocasiones se ha detectado una segunda Tm no específica, lo que da lugar a un doble resultado positivo para p210 e13a2 y p210 e14a2.

En ocasiones, los resultados obtenidos con este producto pueden ser no válidos debido a un error del Internal Control. En este caso, la muestra debe volver a analizarse, comenzando por la extracción, lo que puede implicar retrasos en la obtención de los resultados finales.

Asimismo, los posibles polimorfismos, así como las inserciones o eliminaciones existentes en la región del ARN diana al que se dirigen los cebadores y las sondas del producto, pueden afectar negativamente a la detección del ARN diana.

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

Como en cualquier otro producto sanitario para diagnóstico, este producto presenta un riesgo residual de obtener resultados no válidos o **erróneos**. Este riesgo residual no se puede eliminar ni reducir aún más. En determinadas situaciones, el riesgo residual puede hacer que se tomen decisiones incorrectas, con consecuencias potencialmente graves para el paciente. No obstante, este riesgo residual asociado al uso previsto del producto se ha ponderado con los beneficios potenciales para el paciente y se ha evaluado como aceptable.

## 14 PROBLEMAS Y SOLUCIONES

Tabla 39

Reacción no válida del Positive Control	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como la del Positive Control. Comprobar el volumen de la mezcla completa de reacción, así como el del Positive Control.
Error en la preparación de la mezcla completa de reacción.	Comprobar los volúmenes de los reactivos utilizados durante la preparación de la mezcla completa de reacción.

Tabla 39 (continued)

Degradación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	<p>No utilizar la mezcla completa de reacción durante más de 2 sesiones consecutivas: 7 horas en el bloque refrigerado de la «Inventory Area» (área del inventario) o en la «Cooler Unit».</p> <p>No dejar la mezcla completa de reacción a temperatura ambiente durante más de 30 minutos.</p> <p>No exponer la mezcla <b>RT EnzymeMix</b> a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos.</p> <p>Volver a preparar la mezcla completa de reacción.</p> <p>Utilizar una nueva alícuota de los componentes.</p>
Degradación del Positive Control.	<p>No utilizar el Positive Control para más de 4 sesiones independientes: 3,5 horas cada una en el área de extracción o en la «Cooler Unit».</p> <p>Utilizar una nueva alícuota de Positive Control.</p>
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 40

Reacción no válida del Negative Control	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	<p>Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como del Negative Control.</p> <p>Comprobar el volumen de la mezcla completa de reacción, así como el del Negative Control.</p>
Contaminación del Negative Control.	<p>No utilizar el Negative Control para más de 1 sesión.</p> <p>Utilizar una nueva alícuota de agua para biología molecular.</p>
Contaminación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	<p>Volver a preparar la mezcla completa de reacción.</p> <p>Utilizar una nueva alícuota de los componentes.</p>
Contaminación del área de extracción, de las gradillas, del «Inventory Block» (administrador de inventarios) o de la «Cooler Unit».	Limpiar las superficies con detergentes acuosos, lavar las batas y sustituir los probetas y las puntas que se hayan utilizado.
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 41

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
Error de configuración del instrumento.	<p>Comprobar la posición de la mezcla completa de reacción, así como de la muestra.</p> <p>Comprobar los volúmenes de la mezcla completa de reacción, así como de la muestra.</p>
Error en la preparación de la mezcla completa de reacción.	Comprobar los volúmenes de los reactivos utilizados durante la preparación de la mezcla completa de reacción.
Degradación de la mezcla completa de reacción o de sus componentes.	<p>No utilizar la mezcla completa de reacción durante más de 2 sesiones consecutivas (7 horas en el área de inventario).</p> <p>No dejar la mezcla completa de reacción a temperatura ambiente durante más de 30 minutos.</p> <p>No exponer la mezcla <b>RT EnzymeMix</b> a temperaturas superiores a -20 °C durante más de 10 minutos.</p> <p>Volver a preparar la mezcla completa de reacción.</p> <p>Utilizar una nueva alícuota de los componentes.</p>

Tabla 41 (continued)

Reacción no válida de la muestra	
Posibles causas	Soluciones
Inhibición debida a la presencia de sustancias interferentes en la muestra.	<p>Repetir la amplificación con una dilución de 1:2 en agua para biología molecular de la muestra eluida en una sesión en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).</p> <p>Repetir la extracción con una dilución de 1:2 en la muestra pretratada en la «Homogenization Solution» (solución de homogeneización), dentro de una sesión con el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).</p>
Error del instrumento.	Contactar con el servicio técnico de ELITechGroup.

Tabla 42

Curva de disociación anómala	
Posibles causas	Soluciones
<p>Ausencia de un pico definido.</p> <p>Pico definido, pero Tm diferente de la de otras muestras y de la presentada por el Positive Control.</p>	<p>Verificar que el Ct de la diana sea inferior a 30.</p> <p>Una alta cantidad de producto de amplificación al final de la reacción puede interferir con el análisis de la curva de fusión.</p> <p>Repetir la amplificación de la muestra para confirmar la presencia de la diana con una posible mutación.</p> <p>La diana de la muestra debe secuenciarse para confirmar la mutación.</p>

Tabla 43

Error en el cálculo del Ct	
Posibles causas	Soluciones
Concentración demasiado alta de la diana en la muestra o muestra con una señal de fluorescencia anómala.	<p>Si se observa una amplificación importante en el gráfico de la PCR, seleccionar el carril relativo a la muestra y aprobar manualmente el resultado como positivo.</p> <p>Si no se observa ninguna amplificación en el gráfico de la PCR, seleccionar el carril relativo a la muestra y aprobar manualmente el resultado como negativo, o bien dejarlo como no válido.</p> <p>Si se requiere un valor Ct:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Repetir la amplificación de la muestra eluida con una dilución de 1:10 en agua para biología molecular de la muestra en una sesión realizada en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).</li> <li>- Repetir la extracción con una dilución de 1:2 en la muestra pretratada en la «Homogenization Solution» (solución de homogeneización), dentro de una sesión con el modo de procesamiento Extract + PCR (Extracción + PCR).</li> </ul>

Tabla 44

<b>Error 20081 (Es posible que no haya líquido en la probeta de ultrasonidos/extracción).</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Presencia de burbujas o alta viscosidad de la muestra.	<p>- Comprobar la muestra en la «Extraction Tube» (tubo de extracción) para los carriles necesarios. Si no hay ninguna muestra, cargar la muestra en la «Extraction Tube» (Tubo de extracción) para el carril necesario. Si la muestra está presente, hacer clic en el botón «OK» (Aceptar) en el cuadro de diálogo para llevar a cabo la extracción.</p> <p>- Si se agota el tiempo de espera sin que se realice ninguna acción, la sesión se anulará. En este caso, si la muestra está presente y la sesión puede reiniciarse de inmediato una vez anulada, la muestra puede utilizarse para la nueva sesión. Otra posibilidad es repetir la extracción con una nueva alícuota de la muestra pretratada.</p>

Tabla 45

<b>Tasa anormalmente alta de resultados positivos dentro de la misma sesión (reacciones con valores de Ct tardíos similares)</b>	
<b>Posibles causas</b>	<b>Soluciones</b>
Contaminación entre muestras durante los pasos preanalíticos.	<p>Limpiar la micropipeta con una solución reciente de hipoclorito de sodio (lejía) al 3 % o un limpiador de ADN/ARN después de pipetear cada muestra.</p> <p>No utilizar pipetas de Pasteur. Las pipetas deben ser del tipo de desplazamiento positivo o utilizarse con puntas con filtro para aerosoles.</p> <p>Introducir las muestras en las últimas posiciones de los instrumentos, tal como se indica en la interfaz. Seguir la secuencia de carga indicada por el software.</p>
Contaminación medioambiental en el laboratorio	<p>Limpiar todas las superficies que están en contacto con el operador y las muestras (inclusive las pipetas) con solución de hipoclorito de sodio (lejía) al 3 % reciente o limpiador de ADN/ARN.</p> <p>Realizar un ciclo de descontaminación con radiación UV.</p> <p>Volver a preparar la mezcla completa de reacción.</p>

## 15 SÍMBOLOS

REF

Número de catálogo.



Límite superior de temperatura.

LOT

Código de lote.



Fecha de caducidad (último día del mes).

IVD

Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*.

Cumple los requisitos del Reglamento (UE) 2017/746 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre los productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*. Certificación emitida por la TÜV SÜD Product Service GmbH, Alemania.

UDI

Identificador único del producto



Contenido suficiente para «N» análisis.



Atención: Consultar las instrucciones de uso.

CONT

Contenido.



Manténgase fuera de la luz del sol



Fabricante.

## 16 NOTA PARA LOS USUARIOS

Cualquier incidente grave que se produzca en relación con el producto deberá comunicarse al fabricante y a las autoridades competentes del Estado miembro en el que resida el usuario o el paciente. En el momento de la revisión actual de las instrucciones de uso, no se había producido ningún incidente grave ni ninguna retirada relacionada con el rendimiento del producto o la seguridad del dispositivo.

No obstante, cuando este sistema informático se encuentre en funcionamiento, se proporcionará un «Resumen de seguridad y rendimiento» a través de la base de datos europea sobre productos sanitarios (Eudamed). Antes de que se publique la declaración de plena funcionalidad de Eudamed, el «Resumen de seguridad y rendimiento» se pondrá a disposición del público sin retrasos indebidos cuando se solicite escribiendo un correo electrónico a la dirección [emd.support@elitechgroup.com](mailto:emd.support@elitechgroup.com).

## 17 AVISO PARA EL COMPRADOR: LICENCIA LIMITADA

Este producto contiene reactivos fabricados por Thermo Fisher Scientific, que se venden conforme a acuerdos de licencia entre ELITechGroup S.p.A. y sus afiliadas y Thermo Fisher Scientific. El precio de compra de este producto incluye derechos limitados y no transferibles para utilizar únicamente esta cantidad de producto exclusivamente para las actividades del comprador directamente relacionadas con el diagnóstico humano. Para obtener información sobre cómo adquirir una licencia para este producto con fines distintos de los indicados anteriormente, contactar con del departamento de licencias de Thermo Fisher Scientific. Correo electrónico: [outlicensing@thermofisher.com](mailto:outlicensing@thermofisher.com).

Los reactivos de detección ELITe MGB Kit® están cubiertos por una o varias patentes de EE. UU., 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529, así como por las patentes europeas 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 y por solicitudes de patentes pendientes en la actualidad.

ELITe InGenius® y las tecnologías ELITe BeGenius® están cubiertos por patentes y solicitudes de patentes.

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

## Appendix A BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit utilizado junto con las plataformas de la serie Genius®



### ATENCIÓN

Este documento es una versión simplificada de las instrucciones de uso oficiales. Este documento solo está disponible en inglés. Consulte el documento completo antes de utilizar el producto visitando el enlace [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com).

### Uso previsto

El producto **BCR-ABL Dx ELITE MGB® Kit** es un producto sanitario para diagnóstico *in vitro* concebido para uso por parte de profesionales sanitarios como ensayo cualitativo múltiple de ácidos nucleicos mediante retrotranscriptasa y PCR en tiempo real para la detección de ARNm de reordenaciones del gen *BCR::ABL* (BCR-ABL), así como para la distinción de las principales variantes extraídas de muestras clínicas.

El ensayo puede detectar e identificar las isoformas **p190 e1a2**, **p195 e6a2**, **p200 e8a2**, **p210 e13a2** y **e14a2** (tipificación mediante análisis de fusión) y **p230 e19a2** en la primera reacción, así como las isoformas **p190 e1a3**, **p195 e6a3**, **p200 e8a3**, **p210 e13a3** y **e14a3** (tipificación mediante análisis de fusión) y **p230 e19a3** en la segunda reacción.

El ensayo se ha validado con los instrumentos **ELITE InGenius®** y **ELITE BeGenius®**, que son sistemas automatizados e integrados para la extracción, la retrotranscriptasa, la PCR en tiempo real y la interpretación de resultados utilizando muestras humanas de leucocitos de sangre periférica (LSP).

El producto está concebido para el uso como ayuda en el diagnóstico de leucemia positiva para *BCR::ABL* en pacientes en los que se sospecha de la existencia de una leucemia asociada a una reordenación del gen *BCR::ABL*.

Los resultados deben interpretarse teniendo en cuenta todas las observaciones clínicas y los resultados de otras pruebas analíticas del paciente.

### Secuencia amplificada

BCR-ABL a2 PCR Mix			
Secuencia	Gen	Fluoróforo	Canal
Diana 1	p190 e1a2	FAM	p190a2
Diana 2	P210 e13a2 y e14a2	AP639	P210a2
Diana 3	P230 e19a2	AP690	P230a2
Diana 4	P200 e8a2	AP559	p200a2
Diana 5	p195 e6a2	AP593	p195a2
Internal Control	ABL	AP525	ICa2
BCR-ABL a3 PCR Mix			
Secuencia	Gen	Fluoróforo	Canal
Diana 1	p190 e1a3	FAM	p190a3
Diana 2	p210 e13a3 y e14a3	AP639	P210a3
Diana 3	p230 e19a3	AP690	P230a3
Diana 4	P200 e8a3	AP559	p200a3

Diana 5	p195 e6a3	AP593	p195a3
Internal Control	ABL	AP525	ICa3

## Matriz validada

Sangre periférica recogida en EDTA o citrato de sodio, sometida a un tratamiento previo para aislar los leucocitos presentes en la sangre periférica.

## Contenido del kit y productos relacionados

BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit (RTSG07ING)			BCR-ABL Dx - ELITe Positive Control (CTRG07ING)	
 x 2	 x 2	 x 2	 x 3	 x 3
<b>BCR-ABL a2 PCR Mix</b> 2 probetas de 600 µL 24 reacciones por probeta 48 reacciones por kit 5 ciclos de congelación/ descongelación por cada probeta	<b>BCR-ABL a3 PCR Mix</b> 2 probetas de 600 µL 24 reacciones por probeta 48 reacciones por kit 5 ciclos de congelación/ descongelación por cada probeta	<b>RT Enzyme Mix</b> 2 probetas de 20 µL 48 reacciones por probeta 96 reacciones por kit 10 ciclos de congelación/ descongelación	<b>BCR-ABL a2 Positive Control</b> 3 probetas de 160 µL 4 reacciones por probeta 12 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/ descongelación	<b>BCR-ABL a3 Positive Control</b> 3 probetas de 160 µL 4 reacciones por probeta 12 reacciones por kit 4 ciclos de congelación/ descongelación
Período de estabilidad máximo:	<b>18 meses</b>		Período de estabilidad máximo:	<b>24 meses</b>
Temperatura de almacenamiento	<b>≤-20 °C</b>		Temperatura de almacenamiento	<b>≤-20 °C</b>

## Otros productos necesarios no proporcionados con el kit

<ul style="list-style-type: none"> <li>› Instrumento ELITe InGenius: INT030.</li> <li>› Instrumento ELITe BeGenius: INT040.</li> <li>› ELITe InGenius SP RNA: INT034SPRNA.</li> <li>› ELITe InGenius DNase I: INT034DNASE.</li> <li>› ELITe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS.</li> <li>› ELITe InGenius PCR Cassette: INT035PCR.</li> <li>› ELITe InGenius Waste Box: F2102-000.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>› ELITe InGenius DNase tube adapter kit: G6431-000.</li> <li>› 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S.</li> <li>› 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118.</li> <li>› Alternative Caps For Extraction Tubes: 925-CAP (opcional).</li> <li>› Cell Lysis Solution (Promega, código A7933 o reactivo equivalente).</li> <li>› RNA Lysis Buffer (Promega, código Z3051 o reactivo equivalente).</li> <li>› Thioglycerol (Promega, código A208B-C o reactivo equivalente).</li> </ul>
--	--

## Protocolo para el ELITe InGenius y el ELITe BeGenius

<ul style="list-style-type: none"> <li>› Volumen de la muestra</li> <li>› Volumen total de elución:</li> </ul>	<p>200 µL 100 µL</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>› Volumen inicial de PCR del eluido</li> <li>› Volumen de la PCR Mix</li> <li>› Frecuencia de los controles</li> </ul>	<p>10 µL 20 µL 15 días</p>
--	--------------------------	---	------------------------------------

## Rendimiento del ELITE InGenius y del ELITE BeGenius

Matriz	Diana		Límite de detección	Sensibilidad	Especificidad
Sangre periférica recogida en EDTA o en citrato de sodio	p190	e1a2	8 copias/reacción	100 % (26/26)	100 % (60/60)
		e1a3	8 copias/reacción	100 % (25/25)	100 % (60/60)
	p195	e6a2	8 copias/reacción	100 % (25/25)	100 % (60/60)
		e6a3	20 copias/reacción	100 % (25/25)	100 % (60/60)
	p200	e8a2	50 copias/reacción	100 % (26/26)	100 % (60/60)
		e8a3	50 copias/reacción	98 % (24/25)	100 % (60/60)
	p210	e13a2	8 copias/reacción	100 % (27/27)	100 % (60/60)
		e13a3	8 copias/reacción	100 % (25/25)	100 % (60/60)
		e14a2	8 copias/reacción	100 % (28/28)	100 % (60/60)
		e14a3	20 copias/reacción	100 % (25/25)	100 % (60/60)
	p230	e19a2	20 copias/reacción	100 % (25/25)	100 % (60/60)
		e19a3	50 copias/reacción	100 % (25/25)	100 % (60/60)

## Preparación de la muestra

Este producto está concebido para utilizarlo en el instrumento **ELITE InGenius** y el **ELITE BeGenius** con las siguientes muestras clínicas, identificadas conforme a las directrices para laboratorios y obtenidas, transportadas y conservadas en las condiciones siguientes.

Tipo de muestra	Condiciones transporte/almacenamiento
	<b>+16 / +26 °C</b> (temperatura ambiente)
Sangre periférica recogida en EDTA o en citrato de sodio	en el transcurso de 24 horas, si bien no después de 48 horas
<b>Nota:</b> las muestras deben someterse a un tratamiento previo para aislar los leucocitos presentes en la sangre periférica (LSP).	

## Procedimientos con el ELITE InGenius

La interfaz del ELITE InGenius Software guía al usuario paso a paso durante la configuración de la sesión. Todos los pasos, a saber, la extracción, la retrotranscriptasa, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados, se realizan automáticamente. Existen dos modos operativos, a saber, sesión completa «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y «PCR only» (Solo PCR).

### NOTA!

Con el producto **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit**, se recomienda llevar a cabo dos reacciones para cada muestra: una con la BCR-ABL a2 PCR Mix (para las isoformas a2 de BCR-ABL) y la otra, con la BCR-ABL a3 PCR Mix (para las isoformas a3 de BCR-ABL).

### Antes del análisis

<b>1.</b> Encender el ELITE InGenius. Iniciar sesión con el nombre de usuario y la contraseña correspondientes. Seleccionar el modo « <b>CLOSED</b> »			<b>2.</b> Verificar los controles <b>BCR-ABL a2 Positive Control/BCR-ABL a3 Positive Control</b> y <b>BCR-ABL a2 Negative Control / BCR-ABL a3 Negative Control</b> en el menú «Controls» (Controles).  Nota: todos los componentes tienen que haberse procesado y aprobado y no deben estar caducados.			<b>3.</b> Descongelar las probetas de <b>BCR-ABL a2 PCR Mix / BCR-ABL a3 PCR Mix</b> . Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos.					
<b>4.</b> Preparar la mezcla completa de reacción.						<b>5.</b> Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos. Mantener la mezcla de reacción completa en hielo. No exponer el producto a la luz directa.					
<b>Número de muestras (N)</b>		<b>BCR-ABL a2 PCR Mix y BCR-ABL a3 PCR Mix</b>		<b>RT EnzymeMix</b>							
1 ≤ N ≤ 5		(N + 1) × 20 µL		(N + 1) × 0,3 µL							
6 ≤ N ≤ 11		(N + 2) × 20 µL		(N + 2) × 0,3 µL							
N = 12		290 µL		4,4 µL							

### Procedimiento 1. Serie completa: «Extract + PCR» (Extracción + PCR); p. ej., muestras

<b>1.</b> Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.			<b>2.</b> Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL»; «Elution» (Elución): «100 µL»			<b>3.</b> Escanear los códigos de barras de las muestras con el lector de códigos de barras manual, o bien introducir directamente el ID de la muestra.		
<b>4.</b> Seleccionar el protocolo deseado en «Assay protocol»: BCR-ABL a2 ELITE_PBL_200_100 y BCR-ABL a3 ELITE_PBL_200_100			<b>5.</b> Para el Assay Protocol (protocolo de ensayo) a2, seleccionar el método «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y la posición de la muestra «Extraction Tube» (Tubo de extracción). Para el Assay Protocol (protocolo de ensayo) a3, seleccionar el método «PCR Only» (Solo PCR) y, en «Sample Position» (Posición de la muestra), seleccionar el carril (Track) de la muestra.			<b>6.</b> Cargar las mezclas completas de reacción en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).		
<b>7.</b> Cargar el PCR Cassette, el cartucho de extracción Sp RNA, las probetas de DNase I, la «Elution Tube» (Tubo de elución), el cartucho de puntas y las gradillas de la «Extraction Tube» (Tubo de extracción).			<b>8.</b> Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.			<b>9.</b> Consultar, aprobar y almacenar los resultados.		

**NOTA!**

si necesita utilizar el modo de procesamiento «Extract Only» (Solo extracción) consulte las instrucciones de uso del instrumento para saber cómo realizar el procedimiento.

**Procedimiento 2. «PCR Only» (Solo PCR); p. ej., eluidos, controles**

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil.	2. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL»; «Elution» (Elución): «100 µL»	3. Escanear los códigos de barras de las muestras con el lector de códigos de barras manual, o bien introducir directamente el ID de la muestra.
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay protocol»: BCR-ABL a2 ELITE_PBL_200_100 y BCR-ABL a3 ELITE_PBL_200_100 o BCR-ABL a2 ELITE_PC o BCR-ABL a3 ELITE_PC o BCR-ABL a2 ELITE_NC o BCR-ABL a3 ELITE_NC	5. Seleccionar el método «PCR Only» (Solo PCR). Para los controles y el Assay Protocol (protocolo de ensayo) a2, seleccionar como posición de la muestra «Elution Tube» (Tubo de elución). Para el Assay Protocol (protocolo de ensayo) a3, seleccionar como posición de la muestra el carril (Track) del eluido.	6. Cargar las mezclas completas de reacción en el «Inventory Block» (administrador de inventarios).
7. Cargar el PCR Cassette y la gradilla de las «Elution Tube» (Tubo de elución) con el ácido nucleico extraído.	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

**Procedimientos con el ELITE BeGenius**

La interfaz del ELITE BeGenius Software guía al usuario paso a paso durante la configuración de la sesión. Todos los pasos, a saber, la extracción, la retrotranscriptasa, la PCR en tiempo real y la interpretación de los resultados, se realizan automáticamente. Existen dos modos operativos, a saber, «Extract + PCR» (Extracción + PCR) y «PCR Only» (Solo PCR).

**NOTA!**

Con el producto **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit**, se recomienda llevar a cabo dos reacciones para cada muestra: una con la **BCR-ABL a2 PCR Mix** (para las isoformas a2 de BCR-ABL) y la otra, con la **BCR-ABL a3 PCR Mix** (para las isoformas a3 de BCR-ABL).

**Antes del análisis**

1. Encender el ELITE BeGenius. Iniciar sesión con el nombre de usuario y la contraseña correspondientes. Seleccionar el modo «CLOSED»	2. Verificar los controles <b>BCR-ABL a2 Positive Control/BCR-ABL a3 Positive Control</b> y <b>BCR-ABL a2 Negative Control / BCR-ABL a3 Negative Control</b> en el menú «Controls» (Controles). Nota: todos los componentes tienen que haberse procesado y aprobado y no deben estar caducados.	3. Descongelar las probetas de <b>BCR-ABL a2 PCR Mix / BCR-ABL a3 PCR Mix</b> . Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos.
---	--	---

4. Preparar la mezcla completa de reacción.			5. Agitar suavemente en un vórtex. Centrifugar durante 5 segundos. Mantener la mezcla de reacción completa en hielo. No exponer el producto a la luz directa.
Número de muestras (N)	BCR-ABL a2 PCR Mix y BCR-ABL a3 PCR Mix	RT EnzymeMix	
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) × 20 µL	(N + 1) × 0,3 µL	
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) × 20 µL	(N + 2) × 0,3 µL	
N = 12	290 µL	4,4 µL	
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) × 20 µL	(N + 3) × 0,3 µL	
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) × 20 µL	(N + 4) × 0,3 µL	
N = 24	580 µL	8,7 µL	

### Procedimiento 1. Serie completa: «Extract + PCR» (Extracción + PCR); p. ej., muestras

1. Seleccionar «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «Extract + PCR» (Extracción + PCR).	2. Insertar la «Sample Rack» (rack de muestras) con las muestras en la «Cooler Unit». Escanear los códigos de barras de las muestras, o bien introducir directamente el ID de la muestra.	3. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL», «Eluate» (Eluido): «100 µL»
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay protocol»: BCR-ABL a2 ELITE_PBL_200_100 y BCR-ABL a3 ELITE_PBL_200_100	5. Imprima las etiquetas para incluir el código de barras correspondiente en las probetas de elución vacías. Cargar las probetas en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	6. Cargar la mezcla completa de reacción en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit».
7. Cargar la «PCR Rack» con el PCR Cassette y el «Extraction Rack» (contenedor de extracción) con los cartuchos de extracción «ELITE InGenius SP RNA», las probetas de «ELITE InGenius DNase I» y los consumibles de extracción necesarios.	8. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	9. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.

### NOTA!

si necesita utilizar el modo de procesamiento «Extract Only» (Solo extracción) consulte las instrucciones de uso del instrumento para saber cómo realizar el procedimiento.

### Procedimiento 2. «PCR Only» (Solo PCR); p. ej., eluidos, controles

1. Seleccione «Perform Run» (Realizar ejecución) en la pantalla táctil y, a continuación, hacer clic en el modo de procesamiento «PCR Only» (Solo PCR).	2. Cargar el ácido nucleico extraído o las probetas con códigos de barras de los controles en la «Elution Rack» (rejilla de elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	3. Verificar los volúmenes de extracción. «Input»: «200 µL», «Eluate» (Eluido): «100 µL»
4. Seleccionar el protocolo deseado en «Assay protocol»: BCR-ABL a2 ELITE_PBL_200_100 y BCR-ABL a3 ELITE_PBL_200_100 o BCR-ABL a2 ELITE_PC o BCR-ABL a3 ELITE_PC o BCR-ABL a2 ELITE_NC o BCR-ABL a3 ELITE_NC	5. Cargar la mezcla completa de reacción en la «Reagent/Elution Rack» (rejilla de reactivos/elución) e insertarla en la «Cooler Unit».	6. Cargar la «PCR Rack» con el «PCR Cassette».
7. Cerrar la puerta. Iniciar la sesión de procesamiento.	8. Consultar, aprobar y almacenar los resultados.	



ELITechGroup S.p.A.  
C.so Svizzera, 185, 10149 Turín, Italia  
Teléfono: +39-011 976 191

Fax: +39-011 936 76 11

Correo electrónico: [emd.support@elitechgroup.com](mailto:emd.support@elitechgroup.com)

Página web: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)

