



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

Offices: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11  
E. mail: [emd.support@elitechgroup.com](mailto:emd.support@elitechgroup.com)  
WEB site: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)

## INFORMATIVE NOTICE dated 11/10/2024

### IMPORTANT FOR PRODUCT USERS

#### «PHILADELPHIA P210 RNA Reference» code number SPG07-210 lot number U0724-145

This informative notice is necessary for the final data interpretation, for data check and eventually for the calculation of the Conversion Factor (CF) specific for each single laboratory.

The Conversion Factor (CF) is required to obtain a value aligned to the International Scale (IS) for the quantitative dosing of BCR-ABL P210 cDNA using Real Time PCR amplification assay.

#### IMPORTANT

This informative notice is valid for the lot number U0724-145 of «**PHILADELPHIA P210 RNA Reference**» product, code n° SPG07-210, for the packaging lot starting from 11/10/2024.

From this batch, the product provides 5 different mixtures of P210 b3a2 total RNA, corresponding to dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  and  $10^{-4.5}$ . The product characteristics can be found in the instruction for use manual SCH mSPG07-210\_en, Review 08.

*Please contact the ELITechGroup staff at the following e-mail address: [emd.ifu@elitechgroup.com](mailto:emd.ifu@elitechgroup.com), to request the manual for a previous version of the product.*

Ideally «**PHILADELPHIA P210 RNA Reference**» product should be reverse-transcribed and amplified **at least in duplicate** every Real Time PCR quantitative analytical session. The minimum recommended use of the product is recommended at least **every 3 months** and every time a change in the CML monitoring procedure occurs (for instance: Real Time instrument calibration, change of reagents, different operator, ...).

The table below reports the percentage of mRNA with the translocation t(9;22) compared to the mRNA of ABL present in each tube of a mixture of **P210 b3a2** RNA:

| Tube              | P210 b3a2<br>10 <sup>-1</sup> | P210 b3a2<br>10 <sup>-2</sup> | P210 b3a2<br>10 <sup>-3</sup> | P210 b3a2<br>10 <sup>-4</sup> | P210 b3a2<br>10 <sup>-4.5</sup> |
|-------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| Insert Color      | RED                           | BLUE                          | GREEN                         | YELLOW                        | VIOLET                          |
| Reference Titre * | 29.3971%                      | 3.2031%                       | 0.3665%                       | 0.0316%                       | 0.0088%                         |

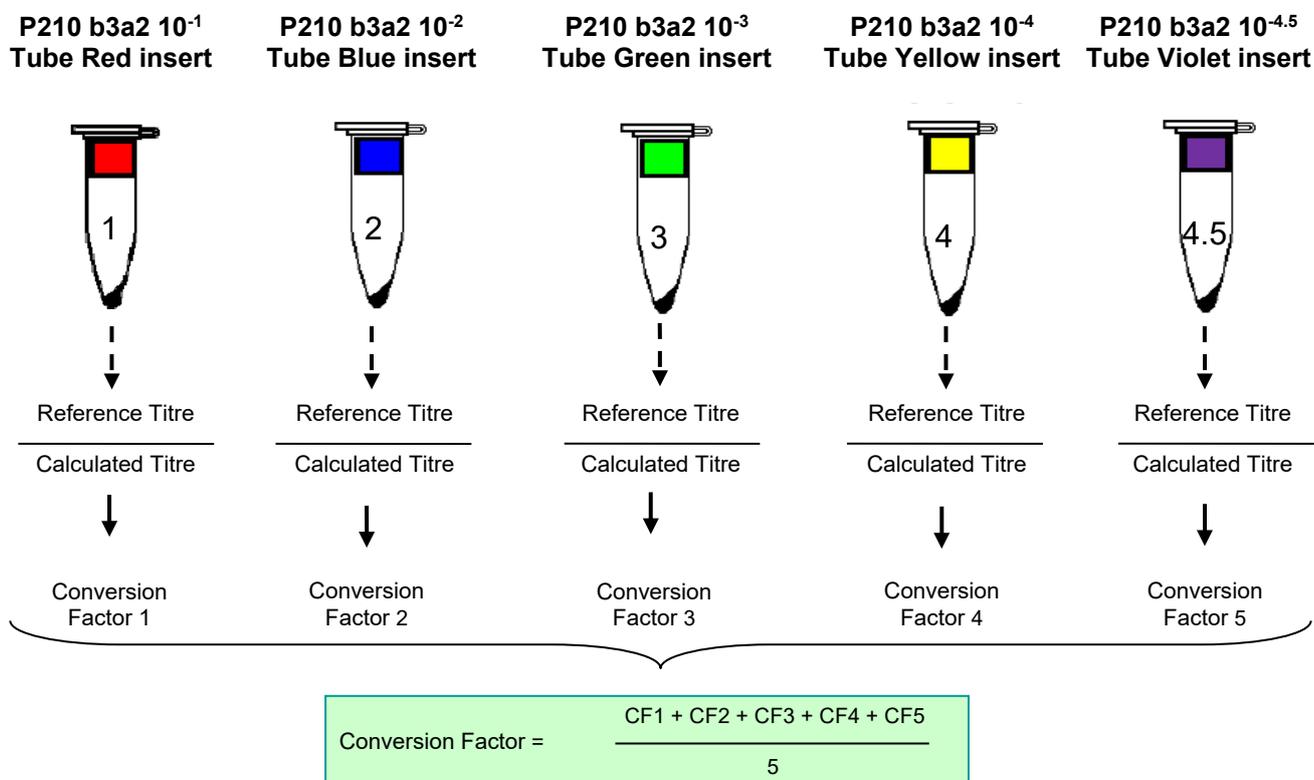
\* The **RNA REFERENCE TITRE** of the lot **U0724-145** of «**PHILADELPHIA P210 RNA Reference**» product has been assigned as a result of a calibration performed by using a Conversion Factor validated by the REFERENCES LABORATORIES AFFECTING THE LABNET ITALIAN PROJECT, with the “1<sup>st</sup> World Health Organization (WHO) International Genetic Reference Panel for quantitation of BCR-ABL translocation by RQ-PCR” (NIBSC, UK, code: 09/138), according to instructions provided by NIBSC <http://www.nibsc.ac.uk/documents/ifu/09-138.pdf> and in the article *HE White et al. Blood 2010, Supplementary Methods B*.

Each mixture of **P210 b3a2 RNA** of «**PHILADELPHIA P210 RNA Reference**» product will undergo reverse-transcription and amplification with the current system used in the laboratory.

For every mixture of **P210 b3a2 RNA** a Calculated Titre will be obtained (mean value of the replicates of each aliquot).

It is suggested to use P210 b3a2 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup> and 10<sup>-4.5</sup> mixtures to calculate the International Unit Conversion Factor.

The Conversion Factor is obtained by the mean value of the ratios between each Reference Titre and the corresponding Calculated Titre for each mixture of **P210 b3a2 RNA**.





**ELITechGroup**  
EMPOWERING IVD  
ELITechGroup S.p.A.  
C.so Svizzera, 185  
10149 Torino ITALIEN  
Hauptniederlassung: Tel. +39-011 976 191  
Fax +39-011 936 76 11  
E-Mail: emd.support@elitechgroup.com  
Website: www.elitechgroup.com

## PHILADELPHIA P210 RNA Reference

### Kontrolle von Gesamt-RNA bei quantitativen Assays

REF SPG07-210



#### INHALT

|   |         |
|---|---------|
| VERWENDUNGSZWECK                                    | Seite 1 |
| BESCHREIBUNG DES PRODUKTS                           | Seite 1 |
| MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN         | Seite 2 |
| ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN | Seite 2 |
| WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN                | Seite 2 |
| VERFAHREN   | Seite 3 |
| REFERENZEN  | Seite 4 |
| SYMBOLE   | Seite 4 |

#### VERWENDUNGSZWECK

Das Produkt „**PHILADELPHIA P210 RNA Reference**“ ist für die Verwendung als Referenz-RNA zur Bewertung der Leistung quantitativer Nukleinsäure-Amplifikationstests für den **Nachweis der cDNA des BCR-ABL-Rearrangements, der t(9;22)-Translokation, des Philadelphia-Chromosoms, der Variante P210 und ihrer im Vergleich zur cDNA des ABL-Gens normalisierten Quantifizierung** vorgesehen.

#### BESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Das Produkt liefert vier verschiedene Gemische von Gesamt-RNA **P210 b3a2**, die aus zwei menschlichen Zelllinien mit einer Endkonzentration von 400 ng/µl extrahiert wurde. Jede Lösung wird gewonnen, indem eine bekannte Menge an Gesamt-RNA aus einer Zelllinie, die positiv für die t(9;22)-Translokation ist, mit der BCR-ABL-Rearrangement-Variante P210 b3a2, in die Gesamt-RNA einer normalen Zelllinie verdünnt wird\*.

Das Produkt enthält jeweils 18 µl der fünf Verdünnungen, die in fünf Teströhrchen mit verschiedenfarbigen Einsätzen aliquotiert werden.

Das Produkt reicht aus für **6 separate Analyseläufe**, wobei 2,5 µl Probe (entspricht 1 µg der Gesamt-RNA) in der reversen Transkriptionsreaktion mit dem Produkt „**RT Kit plus**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. BRK200) verwendet werden.

Das Produkt reicht aus für **5 separate Analyseläufe**, wobei 0,75 µl (entspricht 300 ng der Gesamt-RNA) in der reversen Transkriptions- und Echtzeit-Amplifikationsreaktion (Ein-Schritt-Methode) mit dem Produkt „**BCR-ABL P210 Elite MGB® Kit**“ (ELITechGroup S.p.A., Art.-Nr. RTSG07PLD210) verwendet werden.

#### PHILADELPHIA P210 RNA Reference

### Kontrolle von Gesamt-RNA bei quantitativen Assays

REF SPG07-210

\* Informationen zum Referenztitel, der durch Kalibrierung mit dem 1st World Health Organization (WHO) International Genetic Reference Panel für die Quantifizierung der BCR-ABL-Translokation mittels RQ-PCR erhalten wurde, sind der Dokumentation zu entnehmen, die den einzelnen Chargen beiliegt.

#### MIT DEM PRODUKT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

| Komponente   | Beschreibung   | Menge     | Gefahrenklasse |
|--|--|-----------|----------------|
| P210 b3a2 10 <sup>-1</sup><br>RÖHRCHEN MIT ROTEM EINSATZ       | 400 ng/µL RNA-Lösung<br>~10 % RNA aus t(9;22)-Zelllinie<br>~90 % RNA aus normaler Zelllinie        | 1 x 18 µl | -              |
| P210 b3a2 10 <sup>-2</sup><br>RÖHRCHEN MIT BLAUEM EINSATZ      | 400 ng/µL RNA-Lösung<br>~1 % RNA aus t(9;22)-Zelllinie<br>~99 % RNA aus normaler Zelllinie         | 1 x 18 µl | -              |
| P210 b3a2 10 <sup>-3</sup><br>RÖHRCHEN MIT GRÜNEM EINSATZ      | 400 ng/µL RNA-Lösung<br>~0,1 % RNA aus t(9;22)-Zelllinie<br>~99,9 % RNA aus normaler Zelllinie     | 1 x 18 µl | -              |
| P210 b3a2 10 <sup>-4</sup><br>RÖHRCHEN MIT GELBEM EINSATZ      | 400 ng/µL RNA-Lösung<br>0,01 % RNA aus t(9;22)-Zelllinie<br>~99,99 % RNA aus normaler Zelllinie    | 1 x 18 µl | -              |
| P210 b3a2 10 <sup>-4,5</sup><br>RÖHRCHEN MIT VIOLETTEM EINSATZ | 400 ng/µL RNA-Lösung<br>0,0032 % RNA aus t(9;22)-Zelllinie<br>~99,997 % RNA aus normaler Zelllinie | 1 x 18 µl | -              |

#### ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

- Sicherheitswerkbank.
- Puderfreie Einweghandschuhe aus Nitril oder einem ähnlichen Material.
- Vortex-Mixer.
- Tisch-Mikrozentrifuge (12.000–14.000 U/min).
- Sterile Mikropipetten und Spitzen mit Aerosolfilter oder Direktverdrängerspitzen (0,5–10 µl, 2–20 µl, 5–50 µl, 50–200 µl, 200–1000 µl).
- 1,5-ml-Mikroröhrchen aus Polypropylen für die Molekularbiologie
- Hochreines Wasser für die Molekularbiologie.
- Reagenzien für die reverse Transkription der RNA.
- Nukleinsäure-Amplifikationstests für die Amplifikation und den Nachweis der cDNA des BCR-ABL-Rearrangements, der t(9;22)-Translokation, der P210-Variante und ihrer im Vergleich zur cDNA des ABL-Gens normalisierten Quantifizierung.
- Programmierbare Heizung.

#### WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

##### Warnhinweise und allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

Alle biologischen Proben sind so zu handhaben, als könnten sie Infektionserreger übertragen. Direkten Kontakt mit den biologischen Proben vermeiden. Verspritzen und Aerosolbildung vermeiden. Die Materialien, die mit biologischen Proben in Kontakt kommen, müssen vor der Entsorgung mindestens 30 Minuten mit 3%igem Natriumhypochlorit behandelt oder eine Stunde bei 121 °C autoklaviert werden.

Alle Reagenzien und Assay-Materialien sind so zu handhaben und zu entsorgen, als wären sie potenziell infektiös. Direkten Kontakt mit den Reagenzien vermeiden. Verspritzen und Aerosolbildung vermeiden. Abfall ist unter Einhaltung der entsprechenden Sicherheitsstandards zu behandeln und zu entsorgen. Brennbare Einwegmaterialien müssen verbrannt werden. Saurer und basischer Flüssigabfall muss vor der Entsorgung neutralisiert werden.

Geeignete Schutzkleidung und Schutzhandschuhe sowie Augen-/Gesichtsschutz tragen.

Lösungen niemals mit dem Mund pipettieren.

Das Essen, Trinken, Rauchen oder die Verwendung von Kosmetika ist in den Arbeitsbereichen untersagt.

Hände nach der Handhabung von Proben und Reagenzien gründlich waschen.  
Übrig gebliebene Reagenzien und Abfälle gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.  
Vor der Durchführung des Assays alle mit dem Produkt bereitgestellten Anweisungen lesen.  
Bei der Durchführung des Tests die dem Produkt beiliegenden Anweisungen befolgen.  
Das Produkt nicht nach dem Ablaufdatum verwenden.  
Es dürfen nur die mit dem Produkt bereitgestellten und vom Hersteller empfohlenen Reagenzien verwendet werden.  
Keine Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen verwenden.  
Keine Reagenzien anderer Hersteller verwenden.

**Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für die Molekularbiologie**

Molekularbiologische Verfahren, wie die Extraktion, reverse Transkription, Amplifikation und Detektion von Nukleinsäuren, dürfen nur von qualifiziertem und geschultem Personal durchgeführt werden, um das Risiko von fehlerhaften Ergebnissen zu vermeiden. Dies gilt insbesondere angesichts des Abbaus der in den Proben enthaltenen Nukleinsäuren sowie angesichts der Kontamination der Proben durch Amplifikationsprodukte.

Bei manueller Einrichtung ist eine räumliche Trennung von Extraktion/Vorbereitung der Amplifikationsreaktionen und Amplifikation/Detektion von Amplifikationsprodukten zu beachten. Niemals ein Amplifikationsprodukt in den für die Extraktion/Vorbereitung von Amplifikationsreaktionen vorgesehenen Bereich einführen.

Bei manueller Einrichtung müssen Laborkittel, Schutzhandschuhe und Hilfsmittel vorhanden sein, die ausschließlich bei der Extraktion/Vorbereitung der Amplifikationsreaktionen und für die Amplifikation/Detektion von Amplifikationsprodukten verwendet werden. Niemals Laborkittel, Schutzhandschuhe oder Hilfsmittel aus dem für die Amplifikation / den Nachweis von Amplifikationsprodukten vorgesehenen Bereich in den für die Extraktion/Vorbereitung der Amplifikationsreaktionen vorgesehenen Bereich bringen.

Die Proben dürfen ausschließlich für diese Art von Analyse verwendet werden. Proben müssen unter einer Laminar-Flow-Haube gehandhabt werden. Röhrchen, die verschiedene Proben enthalten, dürfen niemals gleichzeitig geöffnet werden. Die zur Verarbeitung der Proben verwendeten Pipetten dürfen ausschließlich für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen entweder Direktverdrängungspipetten sein oder zusammen mit Aerosolfilterspitzen verwendet werden. Die verwendeten Spitzen müssen steril, frei von DNasen und RNasen sowie frei von DNA und RNA sein.

Die Reagenzien müssen unter einer Laminar-Flow-Haube verarbeitet werden. Die für die Amplifikation benötigten Reagenzien müssen so vorbereitet werden, dass sie in einem einzelnen Lauf verwendet werden können. Die Pipetten, die für die Handhabung der Reagenzien verwendet werden, dürfen nur für diesen Zweck verwendet werden. Die Pipetten müssen entweder Direktverdrängungspipetten sein oder zusammen mit Aerosolfilterspitzen verwendet werden. Die verwendeten Spitzen müssen steril, frei von DNasen und RNasen sowie frei von DNA und RNA sein.

Die Amplifikationsprodukte müssen so verwendet werden, dass eine Freisetzung in die Umgebung weitestgehend reduziert wird, um die Möglichkeit einer Kontamination zu vermeiden. Die zur Verarbeitung von Amplifikationsprodukten verwendeten Pipetten dürfen ausschließlich für diesen Zweck verwendet werden.

**Komponentenspezifische Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen**

Die Röhrchen mit den Gemischen von Gesamt-RNA **P210 b3a2** dürfen nicht mehr als **vier Mal** eingefroren und wieder aufgetaut werden. Weitere Gefrier- und Auftauzyklen können zu einem Abbau von RNA führen.

**VERFAHREN**

Die Gemische von Gesamt-RNA **P210 b3a2**, die dem Produkt „**PHILADELPHIA P210 RNA Reference**“ beiliegen, sind gebrauchsfertig und können bei der reversen Transkriptionsreaktion somit direkt in der benötigten Menge verwendet werden.

Das cDNA-Produkt der reversen Transkriptionsreaktion der Gesamt-RNA **P210 b3a2** kann in Nukleinsäure-Amplifikationstests verwendet werden.

Wir empfehlen, die reverse Transkription von jeder der fünf Gemische von Gesamt-RNA **P210 b3a2** in Doppelbestimmung durchzuführen.

**Hinweis:** Für Benutzer des Produkts „**RT - kit plus**“ (Art.-Nr. BRK200) der ELITechGroup S.p.A.: 2,5 µl von jedem Gemisch von RNA **P210 b3a2** (entspricht 1 µg) mit 7,5 µl **hochreinem Wasser** (nicht im Lieferumfang des Kits enthalten) verdünnen, dann 10 µl Verdünnung in die für die reversen Transkriptionsreaktionen vorgesehenen „**Monotest**“-Röhrchen überführen.

**Hinweis:** Für Benutzer des Produkts „**BCR-ABL P210 ELITe MGB® Kit**“ (Art.-Nr. RTSG07PLD210) der ELITechGroup S.p.A.: 0,75 µl von jedem Gemisch von RNA **P210 b3a2** (entspricht 300 ng) mit 9,25 µl **hochreinem Wasser** (nicht im Lieferumfang des Kits enthalten) verdünnen, dann 10 µl der Verdünnung in die Vertiefungen der **Amplifikations-Mikrotiterplatte** mit den kompletten Reaktionsgemischen überführen.

**Hinweis:** Die **RNA Reference** darf maximal **vier Mal** eingefroren und wieder aufgetaut werden.

**REFERENZEN**

A. Hochaus et al. (2020) Leukemia 34: 966-984  
M. Baccarani et al. (2013) Blood 122: 872 - 884  
S. Branford et al. (2006) Leukemia 20: 1925 - 1930  
S. Branford et al. (2008) Blood 112: 3330 - 3338  
MC Muller et al. (2009) Leukemia 23: 1957 - 1963  
N. Cross et al. (2009) Best Pract Res Clin Haematol. (2009) 22(3): 355 - 65  
H.E. White et al. (2010) Blood: Nov 25;116(22):e111-7

**SYMBOLE**

-  Katalognummer.
-  Temperaturobergrenze.
-  Chargenbezeichnung.
-  Verfallsdatum (letzter Tag des Monats).
-  *In-vitro*-Diagnostikum.
-  Erfüllt die Anforderungen der Europäischen Richtlinie 98/79/EG über *In-vitro*-Diagnostika.
-  Inhalt ausreichend für „n“ Tests.
-  Inhalt.
-  Gebrauchsanweisung beachten.
-  Hersteller.