



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

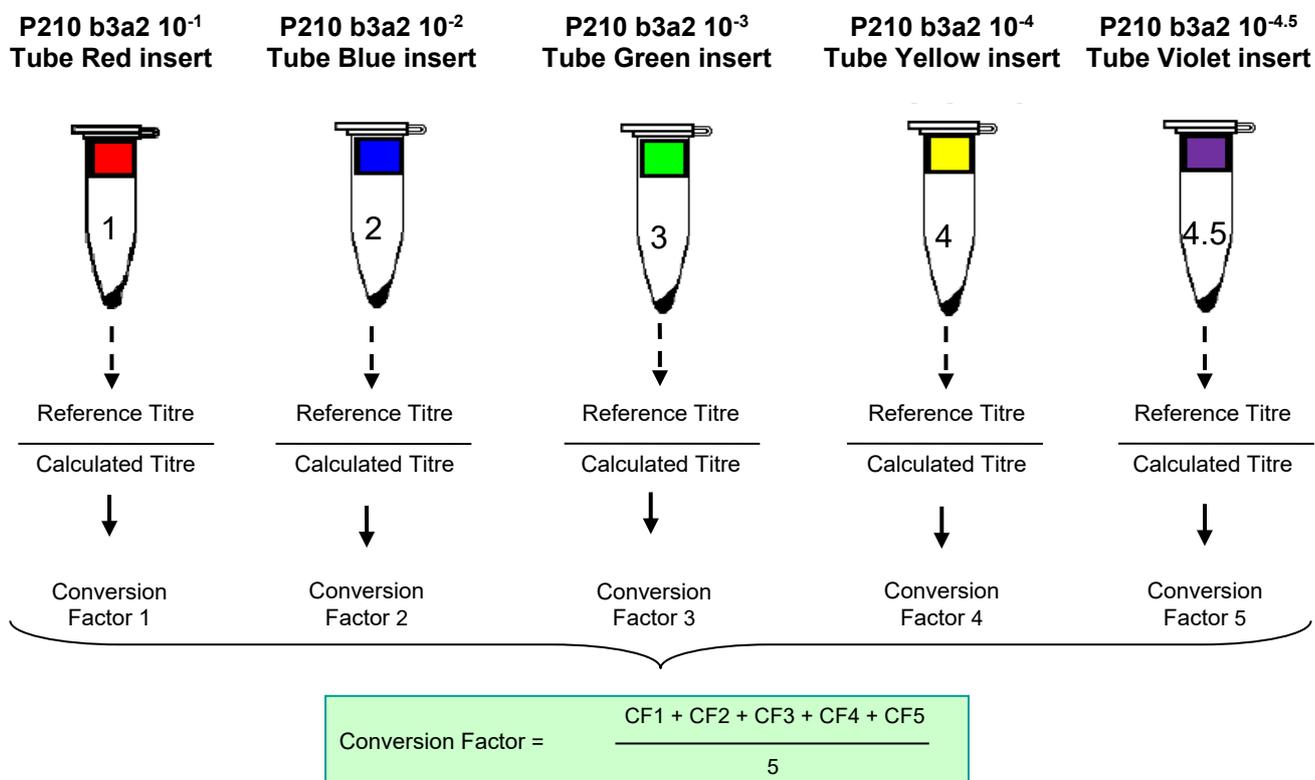
\* The **RNA REFERENCE TITRE** of the lot **U0724-145** of «**PHILADELPHIA P210 RNA Reference**» product has been assigned as a result of a calibration performed by using a Conversion Factor validated by the REFERENCES LABORATORIES AFFECTING THE LABNET ITALIAN PROJECT, with the “1<sup>st</sup> World 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**.





**REAL-TIME  
Alert  
Q-PCR**

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

### controlo de ARN total para ensaio quantitativo

REF SPG07-210



#### ÍNDICE

UTILIZAÇÃO PREVISTA	página 1
DESCRIÇÃO DO PRODUTO	página 1
MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO	página 2
MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO	página 2
AVISOS E PRECAUÇÕES	página 2
PROCEDIMENTO	página 3
REFERÊNCIAS	página 4
SÍMBOLOS	página 4

#### UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto «**PHILADELPHIA P210 RNA Reference**» destina-se a ser usado como ARN de referência para avaliar os desempenhos dos ensaios de amplificação de ácidos nucleicos quantitativos para a **deteção de cDNA da reordenação de BCR:ABL, translocação de t(9;22), cromossoma Philadelphia, variante P210 e a sua quantificação normalizada em comparação com cDNA do gene ABL.**

#### DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O produto fornece quatro misturas diferentes de ARN total **P210 b3a2** extraído de duas linhas celulares humanas à concentração final de 400 ng / µL. Cada solução é obtida por diluição de uma quantidade conhecida de ARN total de uma linha celular positiva para a translocação t(9;22), com reordenação BCR-ABL da variante P210 b3a2 em ARN total de uma linha celular normal\*.

O produto fornece 18 µL de cada uma das cinco diluições, aliquotadas em cinco tubos de teste com diferentes inserções coloridas.

O produto é suficiente para realizar **6 sessões analíticas separadas**, usando 2,5 µL de amostra (equivalente a 1 µg de ARN total) numa reação de transcrição reversa com o produto "**RT Kit plus**" (ELITechGroup S.p.A., código BRK200).

O produto é suficiente para realizar **5 sessões analíticas separadas**, usando 0,75 µL (equivalente a 300 ng de ARN total) numa reação de transcrição reversa e amplificação em tempo real (método de um passo) com o produto "**BCR-ABL P210 Elite MGB® Kit**" (ELITechGroup S.p.A., código RTSG07PLD210).

\* Para informações sobre o título de referência, obtido por calibração com o 1<sup>st</sup> World Health Organization (WHO) International Genetic Reference Panel para a quantificação da translocação de BCR-ABL por RQ-PCR, consulte a documentação que vem incluída com cada lote.

## PHILADELPHIA P210 RNA Reference

### controlo de ARN total para ensaio quantitativo

REF SPG07-210

#### MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

Componente	Descrição	Quantidade	Classificação do perigo
P210 b3a2 10 <sup>-1</sup> TUBO COM INSERÇÃO VERMELHA	Solução de ARN 400 ng / µL ~10% de ARN da linha celular t(9;22) ~90% de ARN da linha celular normal	1 x 18 µL	-
P210 b3a2 10 <sup>-2</sup> TUBO COM INSERÇÃO AZUL	Solução de ARN 400 ng / µL ~1% de ARN da linha celular t(9;22) ~99% de ARN da linha celular normal	1 x 18 µL	-
P210 b3a2 10 <sup>-3</sup> TUBO COM INSERÇÃO VERDE	Solução de ARN 400 ng / µL ~0,1% de ARN da linha celular t(9;22) ~99,9% de ARN da linha celular normal	1 x 18 µL	-
P210 b3a2 10 <sup>-4</sup> TUBO COM INSERÇÃO AMARELA	Solução de ARN 400 ng / µL 0,01% de ARN da linha celular t(9;22) ~99,99% de ARN da linha celular normal	1 x 18 µL	-
P210 b3a2 10 <sup>-4.5</sup> TUBO COM INSERÇÃO ROXA	Solução de ARN 400 ng / µL 0,0032% de ARN da linha celular t(9;22) ~99,997% de ARN da linha celular normal	1 x 18 µL	-

#### MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO

- Câmara de fluxo laminar.
- Luvas de nitrilo sem pó descartáveis ou material semelhante.
- Misturador de vórtice.
- Microcentrífuga de bancada (12.000 - 14.000 RPM).
- Micropipetas e pontas esterilizadas com filtro de aerossóis ou deslocação positiva (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Microtubos de polipropileno de 1,5 mL para biologia molecular
- Água de grau de biologia molecular.
- Reagentes para a transcrição reversa de ARN.
- Ensaio de amplificação de ácidos nucleicos para a amplificação e a deteção de cDNA da reordenação BCR-ABL, translocação t(9;22), variante P210 e a sua quantificação normalizada em comparação com cDNA do gene ABL.
- Aquecedor programável.

#### AVISOS E PRECAUÇÕES

##### Avisos e precauções gerais

Manuseie e elimine todas as amostras biológicas como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos. Evite o contacto direto com as amostras biológicas. Evite salpicos ou vaporizações. Os materiais que entrarem em contacto com as amostras biológicas devem ser tratados com hipoclorito de sódio a 3% durante pelo menos 30 minutos ou submetidos a autoclave a 121°C durante uma hora antes da eliminação.

Manuseie e elimine todos os reagentes e todos os materiais do ensaio como se fossem potencialmente infecciosos. Evite o contacto direto com os reagentes. Evite salpicos ou vaporizações. Os resíduos devem ser tratados e eliminados em conformidade com as normas de segurança adequadas. Os materiais combustíveis descartáveis devem ser incinerados. Os desperdícios líquidos que contenham ácidos ou bases devem ser neutralizados antes da eliminação.

Use vestuário e luvas de proteção adequados e proteja os olhos/rosto.

Nunca deve pipetar soluções com a boca.

Não coma, beba, fume ou aplique produtos cosméticos nas áreas de trabalho.

Lave cuidadosamente as mãos após manusear amostras e reagentes.

Elimine os reagentes remanescentes e os desperdícios em conformidade com os regulamentos em vigor.

**PHILADELPHIA P210 RNA Reference**  
controlo de ARN total para ensaio  
quantitativo

REF SPG07-210

Leia todas as instruções fornecidas com o produto antes de efetuar o ensaio.  
Siga as instruções fornecidas com o produto durante a execução do ensaio.  
Não utilize o produto após a data de validade.  
Use apenas os reagentes fornecidos no produto e os recomendados pelo fabricante.  
Não use reagentes de lotes diferentes.  
Não use reagentes de outros fabricantes.

**Avisos e precauções para biologia molecular**

Os procedimentos de biologia molecular, como a extração, transcrição reversa, amplificação e deteção de ácidos nucleicos, requerem colaboradores qualificados e com formação, para evitar o risco de resultados incorretos, especialmente devido à degradação de ácidos nucleicos contidos nas amostras ou à contaminação da amostra por produtos de amplificação.

Em caso de configuração manual, é necessário ter disponíveis áreas separadas para a extração/preparação de reações de amplificação e para a amplificação/deteção de produtos de amplificação. Nunca introduza um produto de amplificação na área concebida para a extração/preparação de reações de amplificação.

Em caso de configuração manual, é necessário ter disponíveis batas, luvas e ferramentas de laboratório que sejam exclusivamente usadas para a extração/preparação de reações de amplificação e para a amplificação/deteção de produtos de amplificação. Nunca transfira batas, luvas ou ferramentas de laboratório da área concebida de amplificação/deteção de produtos de amplificação para a área concebida de extração/preparação de reações de amplificação.

As amostras devem ser usadas exclusivamente para este tipo de análise. As amostras devem ser manuseadas sob uma hote de fluxo laminar. Os tubos contendo amostras diferentes nunca devem ser abertos ao mesmo tempo. As pipetas usadas no manuseamento de amostras devem ser usadas exclusivamente para este fim específico. As pipetas devem ser do tipo de deslocação positiva ou ser usadas com pontas com filtro de aerossóis. As pontas usadas devem ser esterilizadas, livres de DNases e RNases e livres de ADN e ARN.

Os reagentes devem ser manuseados sob uma hote de fluxo laminar. Os reagentes necessários para a amplificação devem ser preparados de forma a que possam ser usados numa sessão única. As pipetas usadas no manuseamento dos reagentes devem ser usadas exclusivamente para este fim. As pipetas devem ser do tipo de deslocação positiva ou ser usadas com pontas com filtro de aerossóis. As pontas usadas devem ser esterilizadas, livres de DNases e RNases e livres de ADN e ARN.

Os produtos de amplificação devem ser manuseados de modo a reduzir a dispersão para o ambiente na medida do possível, para evitar a possibilidade de contaminação. As pipetas usadas no manuseamento dos produtos de amplificação devem ser usadas exclusivamente para este fim específico.

**Avisos e precauções específicos para os componentes**

Os tubos que contêm as misturas de ARN total **P210 b3a2** devem ser congelados e descongelados um máximo de **quatro vezes**. Ciclos de congelação e descongelação adicionais podem causar a degradação do ARN.

**PROCEDIMENTO**

As misturas de ARN total **P210 b3a2** fornecidas pelo produto «**PHILADELPHIA P210 RNA Reference**» são prontas a utilizar. Como tal, podem ser usadas diretamente à quantidade requerida na reação de transcrição reversa.

O produto cDNA da reação de transcrição reversa do ARN total **P210 b3a2** pode ser usado em ensaios de amplificação de ácidos nucleicos.

Sugerimos a realização da transcrição reversa de cada uma das cinco misturas de ARN total **P210 b3a2** em duplicado.

**Nota:** Para utilizadores do produto ELITechGroup S.p.A. «**RT - kit plus**» (código BRK200): dilua 2,5 µL de cada mistura de ARN **P210 b3a2** (equivalente a 1 µg) em 7,5 µL de **água ultrapurificada** (não fornecida no kit), em seguida, transfira 10 µL de diluição para os tubos «**monoteste**» dedicados para as reações de transcrição reversa.

**PHILADELPHIA P210 RNA Reference**  
controlo de ARN total para ensaio  
quantitativo

REF SPG07-210

**Nota:** Para utilizadores do produto ELITechGroup S.p.A. «**BCR-ABL P210 ELITe MGB® Kit**» (código RTSG07PLD210): dilua 0,75 µL de cada mistura de ARN **P210 b3a2** (equivalente a 300 ng) em 9,25 µL de **água ultrapurificada** (não fornecida no kit) e, em seguida, transfira 10 µL de diluição para os poços da **Microplaca de amplificação** com as misturas de reação completa.

**Nota:** A referência de ARN só pode ser congelada e descongelada um máximo de **quatro vezes**.

**REFERÊNCIAS**

- 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

**SÍMBOLOS**

- REF** Número de catálogo.
-  Limite de temperatura superior
- LOT** Código do lote.
-  Prazo de validade (último dia do mês).
- IVD** Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*.
-  Cumprimento dos requisitos da Diretiva Europeia 98/79/CE relativa a dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*.
-  Conteúdo suficiente para "N" testes.
- CONT** Conteúdo.
-  Consulte as instruções de utilização.
-  Fabricante.