



# Instrucciones de uso

**Imegen<sup>®</sup> m-BCR-ABL1**

Ref. IMG-122

**CE IVD**

Fabricado por:

**HEALTH IN CODE, S.L.**

Calle de la Travesía s/n, 15E Base 5, Valencia 46024, España  
+34 963 212 340 - info@healthincode.com

healthincode.com

Código: HIC-PT-KIT 03-F-03 V.01

**healthincode**

---

Health in Code le garantiza que todos sus productos están libres de defectos, tanto en los materiales empleados como en su proceso de fabricación. Esta garantía se hace extensible hasta la fecha de caducidad, siempre que se observen las condiciones de conservación especificadas en este manual.

**Nuestros productos están diseñados para diagnóstico *in vitro*.** Health in Code no le ofrece ninguna otra garantía, expresa o implícita, que se extienda más allá del funcionamiento correcto de los componentes de este kit. La única obligación de Health in Code, respecto de las garantías precedentes, será la de reemplazar los productos, o bien devolver el precio de la compra de estos, a voluntad del cliente, siempre y cuando se pruebe la existencia de un defecto en los materiales, o bien en la elaboración de sus productos. Health in Code no será responsable de ningún daño, directo o indirecto, que resulte en pérdidas económicas o en daños que pudieran producirse por el uso de este producto por parte del comprador o usuario.

Todos los productos comercializados por Health in Code son sometidos a un riguroso control de calidad. El kit **Imegen® m-BCR-ABL1** ha superado todas las pruebas de validación internas, que garantizan la fiabilidad y reproducibilidad de cada lote fabricado.

Para cualquier consulta sobre las aplicaciones de este producto o sobre sus protocolos, puede contactar con nuestro Departamento Técnico:



+34 963 212 340



[tech.support@healthincode.com](mailto:tech.support@healthincode.com)

*Imegen® es una marca registrada de Health in Code en España.*

#### Modificaciones de las Instrucciones de Uso (IFU)

Versión 05	NOV 2022	Cambio de dirección del fabricante: Health in Code S.L., Calle de la Travesía s/n, 15E Base 5, Valencia 46024, España.
Versión 04	SEP 2022	Cambio de la identificación del fabricante: de Imegen a HEALTH IN CODE, S.L.
Versión 03	NOV 2018	Actualización por marcado CE/IVD del producto

# índice

---

<b>01</b>	<b>Información General</b>	<b>4</b>
<b>02</b>	<b>Uso previsto</b>	<b>5</b>
<b>03</b>	<b>Características técnicas</b>	<b>6</b>
<b>04</b>	<b>Advertencias y precauciones de seguridad</b>	<b>7</b>
<b>05</b>	<b>Contenido y condiciones de almacenamiento del kit</b>	<b>8</b>
<b>06</b>	<b>Equipos, reactivos y materiales necesarios que no se suministran</b>	<b>9</b>
<b>07</b>	<b>Protocolo de ensayo</b>	<b>10</b>
07.1	Preparación de reactivos de PCR	10
07.2	Preparación de las curva patrón	10
07.3	Preparación de las reacciones de amplificación	11
07.4	Configuración del programa de la PCR	12
<b>08</b>	<b>Análisis de los resultados</b>	<b>14</b>
<b>09</b>	<b>Troubleshooting</b>	<b>17</b>
<b>10</b>	<b>Limitaciones</b>	<b>18</b>
10.1	Equipos	18
10.2	Reactivos	18
10.3	Estabilidad del producto	18

# 01 Información general

La translocación entre BCR y ABL1 o translocación del cromosoma Filadelfia es una alteración génica que suele estar presente en la mayoría de los pacientes con leucemia mieloide crónica (CML) y la detección de este reordenamiento está asociada a una prognosis favorable y en algunos pacientes con leucemia linfoblástica aguda (ALL).

La fusión de los genes BCR, localizado en el cromosoma 22, y ABL1, localizado en el cromosoma 9, da lugar a un oncogén (BCR-ABL1) que produce una proteína anormal. Esta proteína anormal da lugar a una actividad tirosina quinasa aumentada que produce el crecimiento anormal y fuera de control de linfocitos, dando lugar a la leucemia.

Según dónde se genere el punto de rotura dentro del gen BCR, se generan distintos reordenamientos. Existen tres formas principales del oncogén quimérico BCR-ABL:

- **M-BCR-ABL1 (región mayor):** cuando se fusionan b3a2 o b3a3 y b2a2 o b2a3 dando lugar a una tirosina quinasa quimérica de 210 kDa (p210).
- **m-BCR-ABL1 (región menor):** cuando se fusionan e1a2 o e1a3 dando lugar a una tirosina quinasa quimérica de 190 kDa (p190).
- **p230:** cuando se fusionan e19a2 o e19a3 dando lugar a una tirosina quinasa quimérica de 230 kDa.

Además, en la bibliografía se han descrito otros reordenamientos mucho menos frecuentes, los cuales no se estudian en este ensayo:

- e6a2 o e6a3
- e8a2 o e8a3

## Referencias

- > <https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/q/bcr-abl/ERM-AD623-BCR-ABL-pDNA-CALIBRANT/ERM-AD623>
- > *Leukemia*. 2003; Volume 17: 2318-2357. doi:10.1038/sj.leu.2403135

## 02 Uso previsto

El kit **Imegen® m-BCR-ABL1** emplea una combinación de oligonucleótidos y sondas de hidrólisis para la amplificación y cuantificación del reordenamiento *Minor*, m-BCR:BCR-ABL1 (p190) mediante PCR a tiempo real. Este kit le permite calcular el número de copias del reordenamiento y el número de copias del gen endógeno ABL, comparándolo con un único plásmido que posee una copia de las dos dianas de amplificación. Además, este análisis genético permite al usuario detectar enfermedad mínima residual (EMR). El nivel de sensibilidad que se puede alcanzar depende del número máximo de copias del gen de referencia (ABL1) que se pueda detectar.

Para alcanzar el límite de sensibilidad necesario para un análisis de enfermedad mínima residual con una respuesta molecular clínicamente significativa, es importante optimizar el proceso de extracción de ARN total de células de sangre periférica o de médula ósea y, por tanto, los protocolos de transcripción reversa para maximizar la cantidad de ADN complementario (cDNA) presente en cada muestra.

Health in Code recomienda consultar el manual de procedimientos "*Estudio molecular del reordenamiento BCR-ABL1*" publicado por el grupo de Biología Molecular en Hematología (GBMH) para una preparación óptima de la muestra de cDNA.

**Imegen® m-BCR-ABL1** es sólo para uso diagnóstico *in vitro* y está dirigido a profesionales del sector de la biología molecular.

## 03 Características técnicas

El kit **Imegen® m-BCR-ABL1** ha sido validado utilizando muestras de cDNA sintetizado a partir de la retrotranscripción de ARN total, extraído de muestras de sangre periférica de pacientes sanos y de pacientes diagnosticados con leucemia mieloide crónica. Este kit detecta específicamente los productos de fusión y el gen de referencia (ABL1) mencionado en el apartado 2 de este manual (finalidad del producto).

La validación del kit **Imegen® m-BCR-ABL1** ha sido llevada a cabo utilizando los siguientes reactivos no incluidos en este kit:

- ↘ **M-MLV RT (Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase)**. Retrotranscripción de 1 µg de ARN total.
- ↘ **TaqMan Environmental Master Mix 2.0** (ThermoFisher Scientific)

El límite de detección (LOD) de este análisis ha sido establecido en 5 copias totales de ABL1 y m-BCR-ABL1 (p190), empleando nuestro estándar de ADN sintético, plásmido pIMEGEN, calibrado con el material de referencia certificado del IRMM (ERM®-AD623).

El límite de cuantificación (LOQ) es el valor mínimo cuantificable, establecido en 50 copias totales, de ahí que el punto más diluido incluido en la curva estándar corresponda con el LOQ tanto para el gen de referencia ABL1 como para el reordenamiento m-BCR. Este kit es adecuado para detectar una respuesta molecular (MR) correspondiente a una reducción de 4 log del Estudio Aleatorizado Internacional, definido como:

- ◇ Enfermedad detectable  $\leq 0.01\%$  BCR-ABL1
- ◇ Enfermedad indetectable en cDNA con  $\geq 10,000$  copias del gen de referencia ABL1

Health in Code está certificada frente a la norma **UNE-EN ISO 13485:2018 Productos Sanitarios: Sistemas de Gestión de Calidad – Requisitos para fines reglamentarios** por la AGENCIA ESPAÑOLA DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS SANITARIOS para el Diseño, desarrollo y producción de productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*:

- Kits de análisis genético
- *Software* para análisis bioinformático de datos genéticos

## 04 Advertencias y precauciones

- ◇ Se recomienda seguir estrictamente las instrucciones de este manual, especialmente en cuanto a las condiciones de manipulación y almacenamiento de los reactivos.
- ◇ No pipetear con la boca.
- ◇ No fumar, comer, beber ni aplicarse cosméticos en las zonas donde se manipulan kits y muestras.
- ◇ Se debe proteger debidamente cualquier afección cutánea, así como cortes, abrasiones y otras lesiones de la piel.
- ◇ No verter los restos de reactivos a la red de agua potable. Se recomienda utilizar los contenedores de residuos establecidos por la normativa legal y gestionar su tratamiento a través de un gestor de residuos autorizado.
- ◇ En caso de un derrame accidental de alguno de los reactivos, evitar el contacto con la piel, los ojos y las membranas mucosas y limpiar con abundante agua.
- ◇ Las hojas de datos de seguridad (MSDS) de todos los componentes peligrosos que contiene este kit están disponibles bajo petición.
- ◇ Este producto requiere la manipulación de muestras y materiales de origen humano. Se recomienda considerar todos los materiales de procedencia humana como potencialmente infecciosos y manipularlos conforme a la norma de la OSHA sobre Bioseguridad de nivel 2 de los patógenos de transmisión sanguínea o se deben utilizar otras prácticas pertinentes de bioseguridad para los materiales que contienen o se sospecha que puedan contener agentes infecciosos.
- ◇ Los reactivos incluidos en este kit no son tóxicos, explosivos, infecciosos, radiactivos, magnéticos, corrosivos ni causantes de contaminación ambiental biológica.
- ◇ Este kit ha sido validado con unos equipos y en unas condiciones específicas que podrían variar sensiblemente en otros laboratorios. Se recomienda por tanto que cada laboratorio realice una validación interna cuando vaya a utilizar por primera vez el kit.
- ◇ El fabricante no responde del mal funcionamiento del ensayo cuando los reactivos incluidos en el kit son sustituidos por otros reactivos no suministrados por Health in Code S.L.
- ◇ El fabricante no garantiza la reproducibilidad del ensayo cuando el usuario introduce reactivos no validados por Health in Code S.L., por considerarlos equivalentes a los suministrados en el kit.

# 05 Contenido y condiciones de almacenamiento del kit

El kit contiene los siguientes reactivos necesarios para llevar a cabo 48 reacciones de PCR a tiempo real:

- ***m-BCR Master Mix***: Oligonucleótidos y sonda de hidrólisis (FAM™) específicos para amplificar el reordenamiento m-BCR-ABL.
- ***ABL Master Mix***: Oligonucleótidos y sonda de hidrólisis (FAM™) específicos que permite detectar la presencia del gen de referencia ABL1.
- ***BCR-ABL Control***: Un control positivo de la translocación m-BCR-ABL.

Reactivos	Color	Viales	Conservación
<b><i>m-BCR Master Mix</i></b>	Disco morado	2 x 24 reacciones	4°C
<b><i>ABL Master Mix</i></b>	Disco amarillo	2 x 24 reacciones	4°C
<b><i>BCR-ABL Control</i></b>	Tapa morada	4 viales	4°C

Tabla 1. Componentes del kit Imegen® m-BCR-ABL1

*\*Los reactivos de este kit están liofilizados. Una vez rehidratados, los reactivos deberán conservarse a -20°C*

# 06 Equipos, reactivos y materiales que no se suministran

## Equipos:

- Termociclador de PCR a tiempo real (canales FAM y VIC)
- Micropipetas (10 µL, 20 µL y 200 µL)
- *Vortex*
- Centrífuga

## Reactivos:

- *2x PCR Master Mix (HotStart DNA Polymerase)*
- Agua libre de nucleasas

NOTA: Además, este kit no incluye los reactivos requeridos para llevar a cabo la retrotranscripción de RNA a cDNA.

## Materiales:

- Puntas de pipetas con filtro (10 µL, 20 µL y 200 µL)
- Tubos estériles de 1.5 mL
- Material fungible óptico compatible con el termociclador de PCR a tiempo real
- Guantes de látex

## *Kits complementarios*

Health in Code proporciona un kit de screening mediante PCR en tiempo real que permite al usuario detectar la presencia de los oncogenes BCR-ABL1 más frecuentes, incluidos M-BCR-ABL1 (p210) y m-BCR-ABL1 (p190). Si los resultados de cribado obtenidos para el reordenamiento BCR-ABL1 son positivos, se recomienda realizar la cuantificación de M-BCR-ABL1 y m-BCR-ABL1:

- IMG-108 **Imegen® BCR-ABL1 Screening**
- IMG-121 **Imegen® M-BCR-ABL1**

# 07 Protocolo de ensayo

## 07.1 | Preparación de los reactivos

Todos los reactivos incluidos en el kit están liofilizados. El primer paso antes de utilizar cualquiera de nuestros kits consistirá en rehidratar los reactivos añadiendo la cantidad de agua, libre de nucleasas, recogida en la siguiente tabla. Con el objetivo de facilitar la resuspensión de cada componente, se recomienda agitar y dar un *spin* a los tubos que contienen los reactivos y conservarlos a 4°C durante una hora antes de su uso.

Reactivos	Rehidratación
<b><i>M-BCR Master Mix</i></b>	130 µL de agua/vial*
<b><i>ABL1 Master Mix</i></b>	130 µL de agua/vial*
<b><i>BCR-ABL Control</i></b>	100 µL de agua/vial*

Tabla 2. Volumen de rehidratación de los componentes del kit

(\* Si estos reactivos no van a ser utilizados tras la rehidratación, recomendamos conservarlos a -20°C.

## 07.2 | Preparación de las curvas patrón

El protocolo para la preparación de las reacciones de amplificación es el siguiente:

- 01 Descongelar todos los reactivos necesarios para el análisis:
  - ◇ *BCR-ABL1 Control*
  - ◇ Agua libre de nucleasas para los controles negativos (no incluido en el kit)
- 02 Agitar en *vortex* y dar *spin* a todos los reactivos y mantener en hielo.
- 03 Una vez se ha rehidratado el control, realizar diluciones seriadas 1:10 del estándar calibrado para generar las curvas estándar con tanto del gen endógeno ABL1 como del reordenamiento m-BCR-ABL1.

El número de copias del m-BCR-ABL Control es de  $25 \times 10^4$ . Se recomienda preparar las diluciones del control justo antes de realizar el ensayo.

Realizar cuatro diluciones seriadas 1:10, añadiendo 5 µl del control positivo y 45 µl de agua, hasta obtener un control con una concentración de 25 copias.

Agitar en *vortex* y dar *spin* a cada dilución antes de preparar la siguiente dilución menos concentrada.

Después de la preparación de cada una de las diluciones, agitar en *vortex* y dar un *spin*:

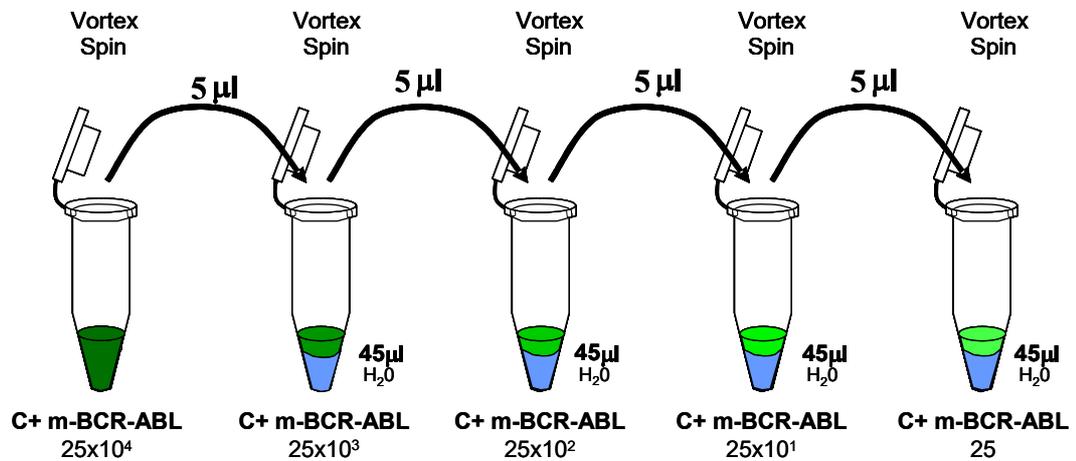


Figura 1. Diluciones seriadas 1:10 del control positivo para la obtención de las curvas patrón

## 07.3 | Preparación de las reacciones de amplificación

Para llevar a cabo el análisis con el kit **Imegen® m-BCR-ABL1**, se requiere la preparación de dos *master mix* de PCR:

01 Descongelar los reactivos:

- ◇ *m-BCR Master Mix*
- ◇ *ABL Master Mix*
- ◇ *2x Hot Start DNA Polymerase* (no incluido en el kit)

02 Agitar en *vortex* cada uno de los reactivos y mantener en frío.

03 Añadir las cantidades necesarias de los reactivos especificados a continuación, a tubos de 1,5 ml. Se recomienda realizar los cálculos añadiendo reactivos suficientes para analizar una reacción más, o bien calcular y añadir un 10% más de cada uno de los reactivos:

### ➤ *m-BCR-ABL1 Master Mix (Oncogén)*

Reactivo	Volumen por reacción
<i>m-BCR Master Mix</i>	5 µL
<i>2x Hot Start DNA Polymerase</i>	10 µL

### ➤ *ABL1 Master Mix (Gen de referencia)*

Reactivo	Volumen por reacción
<i>ABL1 Master Mix</i>	5 µL
<i>2x Hot Start DNA Polymerase</i>	10 µL

Los volúmenes requeridos en cada *mix* deben ser escalados teniendo en cuenta el número de muestras que se van a analizar y las reacciones necesarias para construir la curva estándar y analizar un control negativo de PCR (*No template control, NTC*).

**NOTA:** Se recomienda realizar los cálculos añadiendo reactivos suficientes para analizar una reacción más, o bien calcular y añadir un 10% más de cada uno de los reactivos.

- 04 Agitar en *vortex* los tubos que contienen los *Master Mix* de PCR y dispensar 15 µl en cada pocillo.
- 05 Una vez han sido dispensados los *Master Mix* de PCR, añadir los siguientes reactivos en los pocillos correspondientes:
  - ◇ 5 µl de cDNA de la muestra (en duplicado)
  - ◇ 5 µl de cada dilución de BCR-ABL Control
  - ◇ 5 µl de agua libre de nucleasas (Control negativo o NTC)

<i>m-BCR Master Mix</i>		<i>ABL1 Master mix</i>	
Control 25 x 10 <sup>4</sup> copias/µl	cDNA 1_R1	Control 25 x 10 <sup>4</sup> copias/µl	cDNA 1_R1
Control 25 x 10 <sup>3</sup> copias/µl	cDNA 1_R2	Control 25 x 10 <sup>3</sup> copias/µl	cDNA 1_R2
Control 25 x 10 <sup>2</sup> copias/µl	cDNA 2_R1	Control 25 x 10 <sup>2</sup> copias/µl	cDNA 2_R1
Control 25 x 10 <sup>1</sup> copias/µl	cDNA 2_R2	Control 25 x 10 <sup>1</sup> copias/µl	cDNA 2_R2
Control 25 copias/µl	NTC	Control 25 copias/µl	NTC

Figura 2. Ejemplo de la plantilla de PCR. R, replicas; NTC, no template control; pIMEGEN, m-BCR-ABL1 Standard

## 07.4 | Configuración del programa PCR

Para llevar a cabo la PCR a tiempo real, se deberán seguir las siguientes instrucciones para configurar el programa de amplificación:

- **7500 Fast o StepOne Real-Time PCR system (Thermo Scientific)**
  - ◇ **Tipo de experimento:** Quantitation- Standard curve
  - ◇ **Velocidad de rampa:** standard
  - ◇ **Volumen de reacción:** 20 µL
  - ◇ **Referencia basal ROX™:** incluida
  - ◇ **Fluoróforos de las sondas TaqMan:**

Sonda	Fluoróforo	Quencher
m-BCR	FAM™	TAMRA
ABL1	FAM™	TAMRA

Tabla 3. Información de las sondas

(\*En el StepOne PCR System (ThermoFisher Scientific) este campo deberá indicarse como "None"

## ◇ Programa óptimo:

Campos	Etapa 1 Activación enzimática		Etapa 2 PCR	
	<b>Nº de Ciclos</b>	1 ciclo inicial	1 ciclo inicial	50 ciclos
<b>Temperatura</b>	50°C	95°C	Desnaturalización 95°C	Unión de cebadores / Extensión 60°C
<b>Tiempo</b>	2 minutos	10 minutos	15 segundos	1 minuto*

Tabla 4. Programa de PCR óptimo para el 7500 FAST o StepOne

(\*). Detección de la fluorescencia

# 08 Análisis de los resultados

Para un correcto análisis de los resultados se recomienda seguir las siguientes indicaciones:

## CONTROLES NEGATIVOS

- Comprobar la ausencia de amplificación en los **controles negativos** (NTC). En caso de detectarse amplificación se recomienda repetir el análisis para descartar que se haya producido una contaminación accidental.

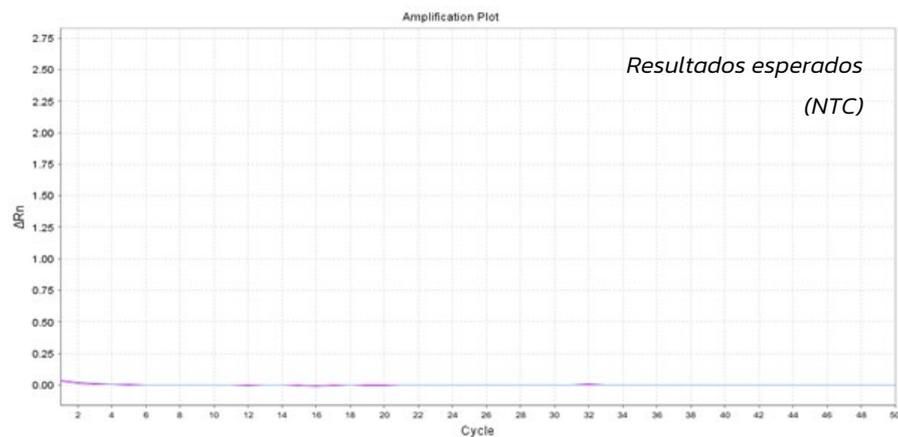


Figura 3. Resultado esperado para el control negativo (NTC)

## CURVA ESTÁNDAR (pIMEGEN, m-BCR-ABL1 STANDARD)

- Comprobar que las diluciones seriadas preparadas utilizando el plásmido pIMEGEN producen **curvas estándar** adecuadas tanto para ABL1 como para m-BCR-ABL1, cuando la regresión lineal se ajusta a números de copia logarítmicos.
  - ◇ Pendiente: Rango entre -3.1 y -3.7
  - ◇ Coeficiente de determinación:  $R^2 > 0,980$ .

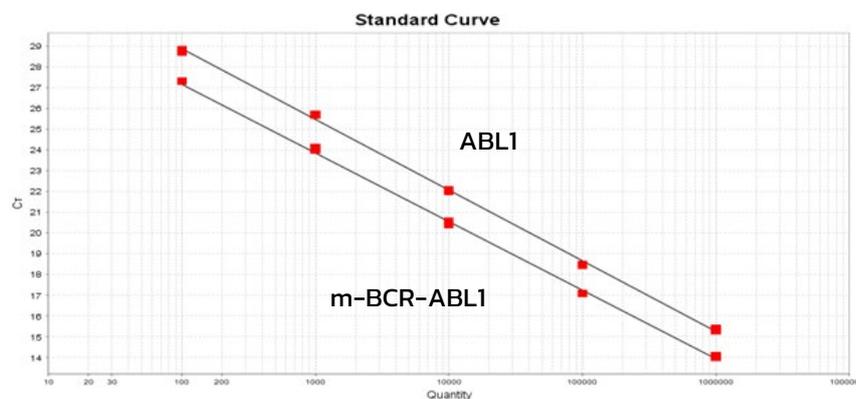


Figura 4. Regresión lineal de las curvas estándar para ABL1 y m-BCR-ABL1

- ➔ Si no se detecta amplificación en *m-BCR-ABL1 Standard*, consultar la Sección 9 (*Troubleshooting*). La concentración más alta del estándar corresponde a  $25 \times 10^4$  copias por  $\mu\text{l}$  (1.250.000 copias totales), y la más baja corresponde a 125 copias totales.

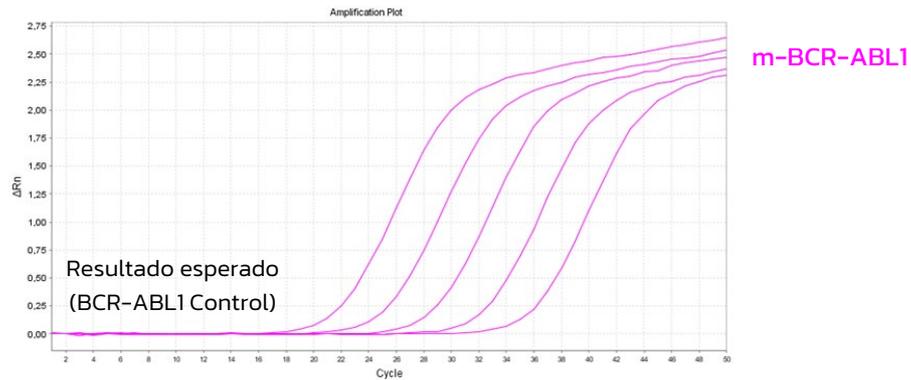


Figura 5. Diluciones seriadas utilizadas para construir la curva estándar del sistema de *m-BCR-ABL1*

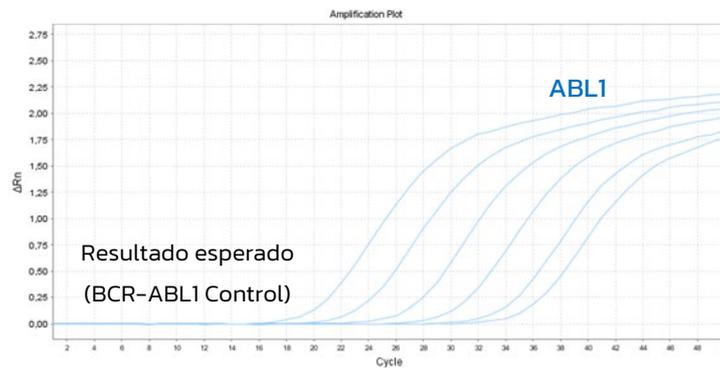


Figura 6. Diluciones seriadas utilizadas para construir la curva estándar del sistema de PCR *ABL1*

## ➤ MUESTRAS (cDNA)

### *ABL1 Master Mix*

- ➔ Comprobar que en todas las muestras se detecta el gen de referencia (*ABL1*) en las reacciones preparadas con el *ABL1 Master Mix*. *ABL1* es un gen que se expresa constitutivamente, por tanto, la amplificación del gen endógeno permite comprobar que en la muestra existe suficiente cantidad de cDNA y de una calidad apropiada.

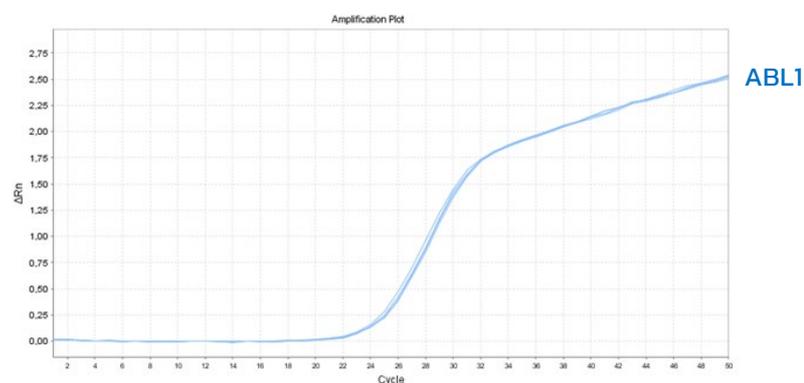


Figura 7. Resultado esperado con el sistema *ABL1* para una muestra de cDNA de buena calidad.

*M-BCR Master Mix & ABL1 Master Mix*

➔ Tras la verificación de todos los controles, se analizan las muestras de cDNA. La muestra analizada presenta una translocación m-BCR-ABL1 si se detecta amplificación en las reacciones preparadas con el *m-BCR Master Mix*, como se indica a continuación.

◇ Muestra negativa

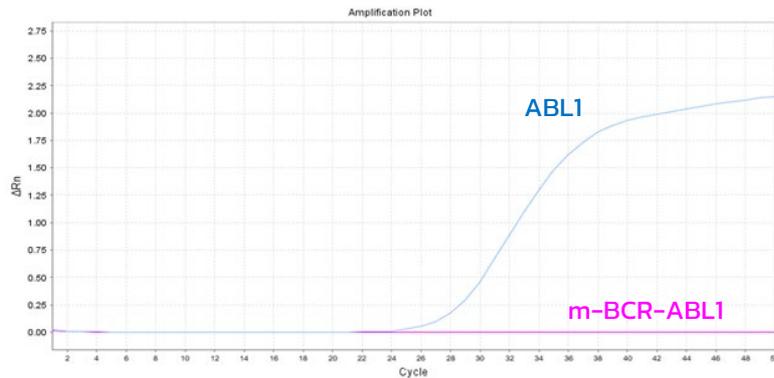


Figura 8. Resultado esperado en muestras de cDNA no patogénicas. El sistema ABL1 amplificará dicho gen, pero el sistema BCR Screening no amplificará el oncogén m-BCR-ABL1.

◇ Muestra positiva

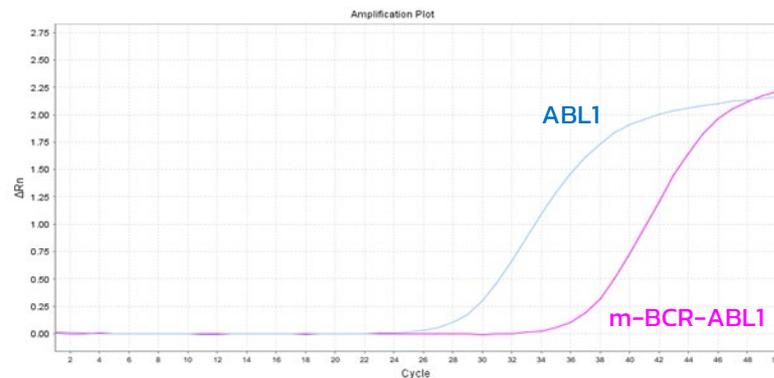


Figura 9. Resultado esperado en muestras de cDNA patogénicas. Ambos sistemas amplificarán sus dianas, tanto el gen ABL1 como el oncogén BCR-ABL1

➔ Las muestras tienen el reordenamiento *minor BCR-ABL1* si hay amplificación en las reacciones preparadas con el *m-BCR Master Mix*. Para calcular el número de copias normalizado (NCN) se calculará el número de copias del gen de referencia (ABL1) y del reordenamiento *minor BCR-ABL1*. La cuantificación del reordenamiento (NCN) se obtiene mediante la siguiente fórmula:

$$NCN = \frac{m - BCR - ABL1_{CN}}{ABL1_{CN}}$$

NCN = Número de copias normalizado

## 09 Troubleshooting

La tabla que aparece a continuación presenta gráficamente los resultados que podrían obtenerse del análisis de los diferentes controles y una muestra en un ensayo, así como su interpretación:

Control	BCR-ABL	ABL	Causa
Control positivo	+	+	Resultado esperado
	-	-	Fallo de amplificación en la PCR <sup>1</sup>
Muestra a analizar	-	+	Resultado esperado
	+	+	
	-	-	Fallo de amplificación de la muestra <sup>2</sup>
Control negativo de PCR	-	-	Resultado esperado
	+	+	Contaminación de la PCR con cDNA humano o control positivo <sup>3</sup>

Tabla 5. Interpretación de los posibles resultados del kit Imegen® m-BCR-ABL1

(1) **Fallo de amplificación en la PCR:** compruebe el programa de amplificación y la configuración de captura de la fluorescencia. Un fallo en la amplificación puede deberse a un problema técnico en la configuración del programa de PCR.

(2) **Fallo de amplificación de la muestra:** compruebe que la cuantificación de la muestra es la recomendada, si fuese así el resultado especificado puede deberse a que la muestra se encuentre altamente degradada.

(3) **Contaminación de la PCR con ADN de humano o control positivo:** la contaminación de la PCR puede deberse a un manejo equivocado de la muestra, al uso de reactivos contaminados o a contaminación de origen ambiental. Limpie minuciosamente el laboratorio donde se ha preparado la PCR, así como los equipos y el material utilizados. Si es necesario, use alícuotas nuevas de los reactivos de PCR. Prepare en último lugar la reacción de PCR que contiene el control positivo, con el fin de evitar la contaminación cruzada.

# 10 Limitaciones

## 10.1 | Equipos

Imegen® m-BCR-ABL1 ha sido validado con los siguientes equipos de PCR a tiempo real:

- + *StepOnePlus™ Real-Time PCR System* (ThermoFisher Scientific)
- + *7500 FAST Real-Time PCR System* (ThermoFisher Scientific)

En principio, este kit es compatible con todas las plataformas de PCR a tiempo real que detecten la fluorescencia FAM.

Si usa una marca o modelo de termociclador distintos a las mencionadas anteriormente, podría necesitar ajustar el programa de amplificación. Por favor contacte con nuestro servicio técnico para cualquier consulta o aclaración.

## 10.2 | Reactivos

El kit Imegen® m-BCR-ABL1 ha sido validado con los reactivos incluidos en el kit y con los siguientes reactivos no incluidos en el kit:

- + *M-MLV RT (Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase)*. Retrotranscripción llevada a cabo usando 1 µg de RNA total.
- + *TaqMan Environmental Master Mix 2.0* (ThermoFisher Scientific)

Si se utiliza una *master mix* de PCR diferente a la incluida en el kit, se recomienda realizar una validación con este nuevo reactivo. Por favor contacte con nuestro servicio técnico para cualquier consulta o aclaración.

Además, este kit no incluye los reactivos necesarios para la retrotranscripción del ARN a cDNA. Se recomienda utilizar un protocolo que parta de 1 µg de ARN para llevar a cabo la retrotranscripción.

## 10.3 | Estabilidad del producto

El funcionamiento óptimo de este producto está confirmado siempre que se apliquen las condiciones recomendadas de almacenamiento especificadas dentro de la fecha óptima del producto asociada a cada lote de producción.

Contacte con nuestro Departamento Técnico para cualquier consulta sobre las aplicaciones de este producto o sobre sus protocolos.

✉ [tech.support@healthincode.com](mailto:tech.support@healthincode.com)

☎ +34 963 212 340

# healthincode



Conoce todos nuestros  
kits de diagnóstico

