

## ESTUDIO COOPERATIVO PARA LA ESTANDARIZACIÓN DE LA CUANTIFICACIÓN DEL GEN BCR-ABL POR PCR A TIEMPO REAL (RQ-PCR). PARTICIPACIÓN DEL GRUPO ESPAÑOL DE BIOLOGÍA MOLECULAR (GRUPO GEBM) EN LOS CONTROLES DE CALIDAD INTERNACIONALES

M. Camós<sup>1,2</sup>, M. Albajar<sup>2</sup>, P. Algara<sup>2</sup>, M. Balbin<sup>2</sup>, F. Barros<sup>1</sup>, P. Bolufer<sup>1</sup>, I. Buño<sup>1</sup>, M.J. Calasanz<sup>1</sup>, F. Cuevillas<sup>2</sup>, N. Erill<sup>2</sup>, R. García-Lozano<sup>2</sup>, J. García-Marco<sup>2</sup>, A. García-Orad<sup>2</sup>, M.T. Gómez<sup>1</sup>, M. González<sup>1</sup>, A. Gutierrez<sup>2</sup>, L. Hermosín<sup>1</sup>, A. Jiménez-Velasco<sup>1,2</sup>, N. Llecha<sup>1</sup>, J. Martínez-López<sup>1,2</sup>, J.M. Minguela<sup>2</sup>, C. Montoriol<sup>1</sup>, J. Román<sup>2</sup>, B. Sánchez-Vega<sup>1</sup>, L. Zamora<sup>1</sup>, D. Colomer<sup>1,2</sup>.

*Grupo de Biología Molecular de la Asociación Española de Hematología y Hemoterapia.*

**Fundamento:** En la leucemia mieloide crónica (LMC) la RQ-PCR del transcrito BCR-ABL es una herramienta fundamental para la monitorización de la respuesta al tratamiento. Sin embargo, la falta de estandarización de los métodos utilizados puede llevar a una gran disparidad en los resultados. Se ha propuesto una escala internacional (IS) para generar valores comparables entre diferentes laboratorios (labs) y se están calculando factores de conversión específicos para cada lab para expresar los resultados en IS. La IS se ajusta a la respuesta molecular mayor definida por el grupo IRIS (MMR: 0,1%).

**Objetivos:** Participar como Grupo GEBM en dos controles de calidad internacionales para la estandarización de la cuantificación de BCR-ABL.

**Material y métodos:** El lab de referencia (lab ref) recibió células estabilizadas en trizol de ambos controles y realizó la cuantificación absoluta de BCR-ABL. Posteriormente, el lab ref realizó cDNA de cada una de las muestras para su distribución a diferentes labs españoles. Cada lab determinó los valores de BCR-ABL/ABL% y BCR-ABL/GUS% para cada muestra. **Tabla 1: muestras**

Controles de calidad	Adelaide (T. Hughes)	Mannheim (A. Hochhaus)
Origen muestras	Línea K562 diluida en células (cel) de donantes sanos	Cél de paciente (B3A2) diluidas en cél de donantes sanos
Nº muestras según niveles de BCR-ABL/control% <sup>1</sup> y <sup>2</sup> : ver lab participantes en autores		
Nivel 1: 10%	5	3
Nivel 2: 1%	5	3
Nivel 3: 0.1%	4	3
Nivel 4: 0.01%	4	3
Total muestras/lab	18	12
Lab participantes	15 <sup>1</sup>	14 <sup>2</sup>

**Resultados:** Se dispone de los resultados preliminares del control de Mannheim. 13 de 14 labs incluidos en el estudio mostraron curvas estándar valorables para BCR-ABL, GUS y ABL. Los valores de Ct de BCR-ABL fueron muy homogéneos en todos los labs, (N1: media 26.99 ±0.97; N2: 29.51 ±0.98; N3: 33.56 ±1.18; N4: 37.29 ±1.4). De igual forma, los Ct de genes control mostraron una gran homogeneidad (DE < 1.2 en ABL y DE < 1 en GUS). Sin embargo, el cálculo de los niveles de BCR-ABL/gen control ajustado por las curvas estándar demostró un aumento importante de la dispersión de los resultados. **Tabla 2: niveles de ratio BCR-ABL/gen control.**

DE: desviación estándar.*	Ratio BCR-ABL/ABL%			Ratio BCR-ABL/GUS%		
Fold: grado de dispersión, r: rango.	media	DE	Fold *	media	DE	Fold*
Nivel 1: 10%	29.2	±12.46	3.93 (r14.4-56.83)	16.18	±10.77	8.5 (r5.03-43.2)
Nivel 2: 1%	5.5	±2.95	5.52 (r2-11.04)	2.29	±1.32	9.5 (r0.57-5.46)
Nivel 3: 0.1%	0.61	±0.37	9 (r0.16-1.44)	0.24	±0.15	8.1 (r0.08-0.65)
Nivel 4: 0.01%	0.07	±0.05	19 (r0.01-0.19)	0.02	±0.01	5 (r0.01-0.05)

**Conclusiones:** Aunque los métodos de cuantificación y expresión de resultados sean iguales, la cuantificación de forma absoluta genera una gran dispersión de valores. Sería de gran utilidad la existencia de un valor de referencia internacional correspondiente a un punto determinado (ej. 0.1 %) para su distribución a todos los labs. Este trabajo ha sido financiado mediante una ayuda de NOVARTIS.