

Klinické souvislosti

Chronická lymfocytární leukémie (CLL) postihuje zejména starší osoby (medián věku při diagnóze 65 let). Jedná se o nejčastější leukemické onemocnění v Evropě a Severní Americe, kde tvoří přibližně 30 % leukemických onemocnění u dospělých. CLL se vyskytuje přibližně dvakrát častěji u mužů než u žen. Prognózu pacienta s CLL lze určit např. na základě přítomnosti či nepřítomnosti somatických hypermutací variabilní oblasti těžkého řetězce imunoglobulinu (IGHV). Somatické hypermutace IGHV představují fyziologický proces, kterým se za normálních okolností zvyšuje různorodost protilátek. Pacienti s mutovaným IGHV mají podstatně příznivější prognózu než pacienti s nemutovaným IGHV.

Princip detekce

Kit slouží ke stanovení prognózy CLL z RNA lidských B-lymfocytů periferní krve. Kit slouží k analýze genové exprese šesti genů, z nichž dva jsou referenční (B2M a HPRT1) a tři jsou prognostické (LPL, ZAP70 a COBLL1). Šestý gen CD3D je ukazatel kontaminace vzorku T-lymfocyty. Princip detekce je založen na **kvantitativní real-time PCR s fluorescenčně značenými sondami (dvoukroková kvantitativní qPCR)**.

Produktové varianty

Katalogové číslo	Produkt	Počet testů
3240-010	gb ONCO CLL	10

1 balení obsahuje reagenzie pro 30 PCR reakcí o objemu 20 µl – pro otestování 10 pacientů.

Parametry produktu

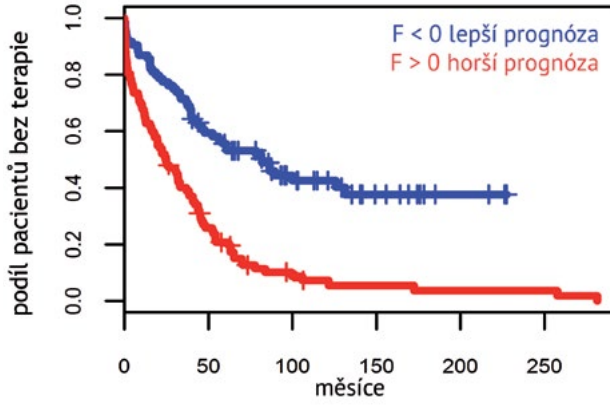
- kit je určen pro klinickou *in vitro* diagnostiku
- certifikován CE IVD
- ready-to-use assay
- rychlé a spolehlivé stanovení prognózy pacientů s CLL
- mastermix pro reverzní transkripci je součástí kitu
- doporučené množství vstupní RNA do reverzní transkripce je 500–1000 ng
- součástí kitu je negativní a pozitivní kontrola
- detekce probíhá ve fluorescenčním kanále FAM

Obsah diagnostické soupravy

* Komponenta	Konc.	Účel
Mix 1 – Rev transcription	2×	Přepis RNA
Mix 2 – Rev transcription	2×	Přepis RNA
Assay qPCR B2M	1,25×	Detekční assay
Assay qPCR HPRT1	1,25×	Detekční assay
Assay qPCR CD3D	1,25×	Detekční assay
Assay qPCR LPL	1,25×	Detekční assay
Assay qPCR ZAP70	1,25×	Detekční assay
Assay qPCR COBLL1	1,25×	Detekční assay
Positive control G		Pozitivní kontrola
Positive control B		Pozitivní kontrola
Deionized water		Negativní kontrola

*barva víčka na zkumavce





Graf č. 1 – Účinnost metody byla experimentálně ověřena na dalším souboru celkem 187 vzorků pacientů s CLL. Byla zde hodnocena úspěšnost zařazení pacientů do skupiny s příznivou nebo nepříznivou prognózou onemocnění v závislosti na době do nasazení první léčby (TTFT). Výsledné rozlišení pacientů (pomocí metody RT qPCR) do skupiny s příznivou nebo nepříznivou prognózou onemocnění jsou znázorněny na obrázku.

Validováno pro přístroje

- Rotor-Gene 3000/6000/Q (Corbett Research, Qiagen)
- iCycler iQ5/CFX96/CFX96 Touch (Bio-Rad)
- ABI 7300/7900HT (Applied Biosystems)
- AriaMx (Agilent Technologies)
- MIC (Bio Molecular Systems)