

### BASI SCIENTIFICHE

Il Cromosoma Philadelphia (Ph) è una delle aberrazioni genetiche più comuni riscontrate nella leucemia. Il cromosoma Ph è presente in oltre il 95% delle leucemie mieloidi croniche (CML). Inoltre, nella leucemia linfoblastica acuta (ALL), il cromosoma Ph è presente nel 25-30% dei casi adulti e nel 2-5% dei casi infantili. Meno frequentemente, è associato a leucemia mieloide acuta (AML). Il cromosoma Ph è il risultato della congiunzione della sequenza 3' del proto-oncogene tirosina-chinasi c-ABL sul cromosoma 9 alla sequenza 5' del gene BCR sul cromosoma 22. In particolare, il breakpoint sul cromosoma 9 si trova nella maggior parte dei casi tra gli esoni 1 e 2 nel gene ABL. I breakpoints nel gene BCR sono raggruppati in due regioni: 1) una sequenza del primo introne, chiamata regione del cluster breakpoint (m-bcr); 2) una regione comprendente gli esoni da 12 a 16, chiamata regione del cluster del punto di interruzione maggiore (M-bcr). Nel caso di m-bcr, il primo esone del gene BCR (e1) è affiancato dal secondo esone del gene ABL (a2). Il trascritto di fusione risultante (e1-a2) codifica per una proteina chimerica di 190 KDa (p190). Questo tipo di trascritto di fusione è presente nel 65% degli adulti e nell'80% di tutti i bambini Ph positivi. Nel caso dei breakpoints M-bcr, gli esoni del gene BCR (b2 o b3) sono affiancati al secondo esone del gene ABL (a2).

### SIGNIFICATO CLINICO

Il trascritto di fusione risultante b2-a2 e/o b3-a2 codifica per una proteina chimerica di 210 kDa (p210); quest'ultima è presente nelle CML e in circa il 35% di tutti gli adulti Ph positivi. Sono stati osservati rari casi di trascritti e1-a3, b2-a3 e b3-a3. La quantizzazione del gene di fusione BCR-ABL è clinicamente rilevante per il monitoraggio della malattia residua minima nei pazienti affetti da leucemia, sottoposti a trapianto allogenico di cellule staminali o al trattamento con terapie aggressive.

### INFORMAZIONI E PRINCIPIO DI FUNZIONAMENTO

Nel kit QUANT BCR-ABL p190 kit la Real Time PCR è usata nel secondo step in un protocollo in due step: reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). Il template di cDNA prodotto da una reazione di trascrizione inversa, è amplificato dalla PCR usando una coppia di primers specifici e un probe interno marcato con due dyes (FAM-TAMRA). Durante la reazione, il taglio del probe, dovuto all'attività 5' nucleasica della Taq DNA Polymerase, separa il reporter dye (FAM) dal quencher dye (TAMRA), dando luogo ad un aumento di fluorescenza del reporter dye. L'accumulo dei prodotti di amplificazione è rilevato direttamente monitorando l'aumento di fluorescenza del reporter dye. Nel kit QUANT-BCR-ABL p190, un controllo endogeno (trascritto ABL) è amplificato nel campione così come il trascritto di fusione di interesse. Inoltre, curve standard di quantità note sia del controllo endogeno ABL che del cDNA di fusione permettono il calcolo della ratio tra il segnale dello specifico trascritto di fusione ed il segnale dell'endogeno ABL in ogni campione.

Il kit QUANT BCR-ABL p190 permette la quantizzazione dei trascritti BCR-ABL 190 nel sangue periferico o in campioni di midollo osseo di pazienti ALL o CML in accordo con Europe Against Cancer studies (J. Gabert et al. Leukemia 2003).

### CARATTERISTICHE TECNICHE

- **Principio del metodo:** A) estrazione RNA, B) sintesi cDNA da RNA totale,
- C) Rivelazione con un sistema Real-Time PCR.
- **Applicabilità:** su RNA estratto e purificato da sangue periferico o cellule del midollo osseo.
- **Numero di test:** 25.
- **Stabilità:** fino alla data di scadenza indicata sul prodotto.
- **Specificità Analitica:** Assenza di appaiamenti aspecifici di oligonucleotidi e sonde; Assenza di cross-reattività.
- **Sensibilità Analitica:** **LOD** =10 copie **LOB** 0% NCN.
- **Riproducibilità:** 99,9%.
- **Specificità e Sensibilità Diagnostica:** 100%/98%



UNI EN ISO 9001  
UNI CEI EN ISO 13485

Il kit IVD è marcato CE.  
Conforme alla direttiva 98/79