

Caratteristiche dei sistemi diagnostici per l'analisi della clonalità

(TCR e BCR-IGH/BCR-IGK)

Sistema diagnostico per l'analisi della clonalità del T Cell Receptor (TCR)

Oggetto tecnico della fornitura

Il Laboratorio della UOC Ematologia effettua analisi di clonalità del TCR per la diagnosi e il follow-up delle leucemie e dei linfomi a cellule T.

Si richiede la fornitura di un sistema diagnostico per l'analisi della clonalità del T Cell Receptor (TCR) effettuata attraverso lo studio dei riarrangiamenti genici della catena gamma del TCR.

Composizione completa della fornitura

Si richiede la fornitura di un sistema diagnostico per la valutazione della clonalità del TCR, basato su PCR e successiva elettroforesi capillare, con metodo di rilevazione a fluorescenza ABI.

Per la valutazione della clonalità del TCR attraverso l'analisi dei riarrangiamenti della catena gamma, si richiede che:

- Il sistema diagnostico includa almeno i seguenti primer per l'amplificazione delle regioni variabili (V) e delle regioni di giunzione (J) coinvolte nel riarrangiamento dei geni della catena gamma del TCR: V γ 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10 e 11 e J γ 1/J γ 2, J γ P e J γ P1/J γ P2;
- Il disegno dei primer deve rispettare le linee guida EuroClonality/BIOMED-2;
- I primer devono essere coniugati esclusivamente con il fluoroforo 6-FAM;
- I prodotti di amplificazione generati dal sistema diagnostico devono cadere tutti entro un singolo e continuo range size per permettere un'interpretazione del risultato adeguata e corretta;
- Il sistema diagnostico deve comprendere una singola Master Mix contenente tutti i primer necessari per l'analisi dei riarrangiamenti della catena gamma del TCR;
- Il sistema diagnostico deve garantire che al singolo campione corrisponda un singolo elettroferogramma;
- Il sistema diagnostico deve comprendere una master mix che funga da controllo di qualità in modo da garantire che non siano presenti inibitori della PCR e che qualità e quantità del DNA iniziale di ciascun campione siano sufficienti a generare un risultato valido;
- Il sistema diagnostico deve includere un controllo positivo e uno negativo di clonalità;
- Il sistema diagnostico deve permettere di analizzare DNA genomico proveniente da sangue periferico, biopsia ed aspirato midollare, tessuto fissato in formalina ed incluso in paraffina o vetrini.

Eventuali software e hardware accessori

Si richiede che il sistema diagnostico metta a disposizione un eventuale software o un tool informatico per l'analisi degli elettroferogrammi e per l'interpretazione dei risultati.

Fabbisogno annuo

Fabbisogno annuo richiesto: 1000 test/anno.

Contesto clinico

L'analisi della clonalità del recettore delle cellule T (T-cell receptor, TCR) rappresenta uno strumento di diagnostica molecolare impiegato per valutare la natura clonale di una popolazione di linfociti T. In condizioni fisiologiche, il repertorio dei linfociti T è altamente diversificato consentendo la generazione di un'ampia varietà di specificità antigeniche. Nei tessuti normali e nelle risposte immunitarie reattive si osserva una popolazione policlonale di linfociti T.

Al contrario, nei linfomi e nelle leucemie a cellule T, tutte le cellule derivano da un unico clone e condividono lo stesso riarrangiamento dei geni del TCR. L'identificazione di un riarrangiamento clonale costituisce pertanto un importante elemento diagnostico per la distinzione tra processi reattivi e proliferazioni tumorali maligne.

L'analisi della clonalità del TCR trova applicazione in numerosi contesti clinici, tra cui la diagnosi dei linfomi e delle leucemie linfoidi a cellule T, la valutazione di infiltrati linfocitari, il monitoraggio della malattia residua minima e il follow-up dei pazienti dopo il trattamento.

È utilizzato inoltre per la caratterizzazione di patologie infiammatorie o autoimmuni.

L'interpretazione dei risultati richiede particolare attenzione, poiché la presenza di un clone T è dirimente tra uno stato infiammatorio e/o reattivo e un tumore a cellule T.

Funzione e/o destinazione d'uso

Il Laboratorio di Ematologia riceve richieste per l'analisi di clonalità del TCR da Unità Operative interne all'Azienda Ospedale-Università di Padova e da strutture ed enti esterni sia di Padova, tra cui l'Istituto oncologico Veneto (IOV), che dal resto della regione Veneto e da tutta Italia.

La prestazione ha il codice CVP 91.61.1_3 Riarrangiamento del recettore delle cellule T (TCR).

Gestione dei materiali di consumo

Caratteristiche e validità residua

Si richiede che le confezioni abbiano una scadenza non inferiore ad 1 anno dalla data di arrivo.

Modalità di consegna

La consegna deve rispettare le temperature di conservazione indicate nel sistema diagnostico.

Gestione di eventuali difformità qualitative e quantitative

Eventuali difformità quantitative e qualitative verranno gestite secondo il sistema gestione di qualità UNI EN ISO 9001.

Sistema diagnostico per l'analisi della clonalità del B Cell Receptor – catena pesante delle immunoglobuline (BCR-IGH)

Oggetto tecnico della fornitura

Il Laboratorio della UOC Ematologia effettua analisi di clonalità del BCR per la diagnosi e il follow-up delle leucemie e dei linfomi a cellule B.

Si richiede la fornitura di un sistema diagnostico per l'analisi della clonalità del B Cell Receptor (BCR) effettuata attraverso lo studio dei riarrangiamenti genici della catena pesante IGH.

Composizione completa della fornitura

Si richiede fornitura di sistema diagnostico per la valutazione della clonalità del BCR attraverso lo studio dei riarrangiamenti della regione variabile (VDJ) della catena pesante delle immunoglobuline IGH basato su PCR con metodo di rilevazione a fluorescenza ABI.

In particolar modo si richiede che:

- Il sistema diagnostico includa le master mix per identificare:
 - le regioni Framework (FR) 1, 2 e 3 all'interno della regione variabile e la regione target di giunzione del locus della catena pesante delle immunoglobuline;
 - le regioni target diversità (D) e di giunzione (J);
- Il disegno dei primer deve rispettare le linee guida EuroClonality/BIOMED-2;
- I primer devono essere coniugati esclusivamente con il fluoroforo 6-FAM;
- I prodotti di amplificazione delle regioni FR1, FR2 e FR3 generati dal sistema diagnostico devono cadere tutti entro un singolo e continuo range size per permettere un'interpretazione del risultato adeguata e corretta;
- Il sistema diagnostico deve comprendere una master mix che funga da controllo di qualità in modo da garantire che non siano presenti inibitori della PCR e che qualità e quantità del DNA iniziale di ciascun campione siano sufficienti a generare un risultato valido;
- Il sistema diagnostico deve includere controlli positivi e negativi di clonalità per ciascuna regione amplificata;
- Il sistema diagnostico deve permettere di analizzare DNA genomico proveniente da sangue periferico, biopsia ed aspirato midollare, tessuto fissato in formalina ed incluso in paraffina o vetrini.

Eventuali software e hardware accessori

Si richiede eventuale software o un tool informatico per l'analisi degli elettroferogrammi e per l'interpretazione dei risultati.

Fabbisogno annuo

Fabbisogno annuo richiesto: 100 test/anno.

Contesto clinico

L'analisi della clonalità del recettore delle cellule B (B-cell receptor, BCR) rappresenta uno strumento di diagnostica molecolare impiegato per valutare la natura clonale o policlonale di una popolazione di linfociti B. In condizioni fisiologiche, il repertorio dei linfociti B è altamente diversificato consentendo la generazione di un'ampia varietà di specificità antigeniche. Nei tessuti normali e nelle risposte immunitarie reattive si osserva una popolazione policlonale di linfociti B.

Al contrario, nei linfomi e nelle leucemie a cellule B, tutte le cellule derivano da un unico clone e condividono lo stesso riarrangiamento dei geni del BCR. L'identificazione di un riarrangiamento clonale costituisce pertanto un importante elemento diagnostico per la distinzione tra processi reattivi e proliferazioni tumorali maligne.

L'analisi della clonalità del BCR trova applicazione in numerosi contesti clinici, tra cui la diagnosi dei linfomi e delle leucemie linfoidi a cellule B, la valutazione di infiltrati linfocitari, il monitoraggio della malattia residua minima e il follow-up dei pazienti dopo il trattamento.

Può inoltre contribuire alla caratterizzazione di patologie infiammatorie o autoimmuni.

L'interpretazione dei risultati richiede particolare attenzione, poiché la presenza di un clone B è dirimente tra uno stato infiammatorio e/o reattivo e un tumore a cellule B.

Funzione e/o destinazione d'uso

Il Laboratorio di Ematologia riceve richieste per l'analisi di clonalità del BCR da Unità Operative interne all'Azienda Ospedale-Università Padova e da strutture ed enti esterni di tutta Italia.

La prestazione ha il codice CVP 91.60.Z_2 Riarrangiamento delle catene pesanti delle immunoglobuline.

Gestione dei materiali di consumo

Caratteristiche e validità residua

Si richiede che le confezioni abbiano una scadenza non inferiore ad 1 anno dalla data di arrivo.

Modalità di consegna

La consegna deve rispettare le temperature di conservazione indicate nel sistema diagnostico.

Gestione di eventuali difformità qualitative e quantitative

Eventuali difformità quantitative e qualitative verranno gestite secondo il sistema gestione di qualità UNI EN ISO 9001.

Sistema diagnostico per l'analisi della clonalità del B Cell Receptor – catena leggera kappa delle immunoglobuline (BCR-IGK)

Oggetto tecnico della fornitura

Il Laboratorio della UOC Ematologia effettua analisi di clonalità del BCR per la diagnosi e il follow-up delle leucemie e dei linfomi a cellule B.

Si richiede la fornitura di un sistema diagnostico per l'analisi della clonalità del B Cell Receptor (BCR) effettuata attraverso lo studio dei riarrangiamenti genici della catena leggera K (IGK).

Composizione completa della fornitura

Si richiede fornitura di sistema diagnostico per la valutazione della clonalità del BCR attraverso lo studio dei riarrangiamenti della catena leggera K delle immunoglobuline basato su PCR con metodo di rilevazione a fluorescenza ABI.

In particolar modo si richiede che:

- Il sistema diagnostico includa le master mix per identificare:
 - le regioni target variabile (V) e di giunzione (J) del locus della catena leggera K delle immunoglobuline;
 - i riarrangiamenti dell'elemento di delezione K (Kde) con la regione variabile (V) e la regione intragenica Jk-Ck;
- Il disegno dei primer deve rispettare le linee guida EuroClonality/BIOMED-2;
- I primer devono essere coniugati esclusivamente con il fluoroforo 6-FAM;
- Il sistema diagnostico deve comprendere una master mix che funga da controllo di qualità in modo da garantire che non siano presenti inibitori della PCR e che qualità e quantità del DNA iniziale di ciascun campione siano sufficienti a generare un risultato valido;
- Il sistema diagnostico deve includere controlli positivi e negativi di clonalità per ciascuna regione amplificata;
- Il sistema diagnostico deve permettere di analizzare DNA genomico proveniente da sangue periferico, biopsia ed aspirato midollare, tessuto fissato in formalina ed incluso in paraffina o vetrini.

Eventuali software e hardware accessori

Si richiede eventuale software o un tool informatico per l'analisi degli elettroferogrammi e per l'interpretazione dei risultati.

Fabbisogno annuo

Fabbisogno annuo richiesto: 100 test/anno.

Contesto clinico

Il contesto clinico è quello descritto per il sistema diagnostico per l'analisi della clonalità del B Cell Receptor - catena pesante delle immunoglobuline (BCR-IGH).

La valutazione dei riarrangiamenti genici della catena leggera kappa delle immunoglobuline (BCR-IGK) in associazione ai riarrangiamenti genici della catena pesante è necessaria per ridurre la percentuale di falsi negativi (dal 10 al 30% dei casi) dovuta alla valutazione della sola catena pesante delle immunoglobuline.

Funzione e/o destinazione d'uso

Il Laboratorio di Ematologia riceve richieste per l'analisi di clonalità del BCR da Unità Operative interne all'Azienda Ospedale-Università Padova e da strutture ed enti esterni di tutta Italia.

La prestazione ha il codice CVP 91.60.Z_3 Riarrangiamento catene leggere delle immunoglobuline.

Gestione dei materiali di consumo

Caratteristiche e validità residua

Si richiede che le confezioni abbiano una scadenza non inferiore ad 1 anno dalla data di arrivo.

Modalità di consegna

La consegna deve rispettare le temperature di conservazione indicate nel sistema diagnostico.

Gestione di eventuali difformità qualitative e quantitative

Eventuali difformità quantitative e qualitative verranno gestite secondo il sistema gestione di qualità UNI EN ISO 9001.