

המעבדה להמטולוגיה

טלפון: 03-530-2356 פקס: 03-530-3506

אימייל: Hematology.Lab@Sheba.Health.Gov.II

5 יוני 2023

תפוצת רופאים

דף מידע לבדיקה חדשה:

בדיקת BCR-ABL1 (P210) במערכת GeneXpert

תיאור הבדיקה

מחלת ה-Chronic Myelogenous Leukemia (CML) הינה הממאירות ההמטולוגית הנפוצה ביותר ומהווה כ-15-20% ממקרי הלוקמיה¹. מרבית המטופלים שאובחנו עם CML נושאים שינוי מסוג Philadelphia chromosome (Ph1) המופיע כתוצאה מטרנסלוקציה רציפרוקלית בין הזרועות הארוכות של כרומוזומים 9 ו-22 ומתבטא בהופעת חלבון מאוחה BCR-ABL1. לחלבון כימרי זה פעילות משובשת של טירוזין קינאז וזו תפקיד חיוני בהתפתחות המחלה. היחידה המולקולרית של המעבדה להמטולוגיה מציעה בדיקה כמותית לתעתיק BCR-ABL1 מדגימות דם של מטופלי CML הנושאים את הטרנסלוקציה t(9;22) מסוג e13a2/e14a2 (P210). זוהי בדיקה כמותית, רגישה, מהירה ואוטומטית מאושרת CE-IVD ו-FDA, המבוססת על real time reverse transcription PCR ומכמתת את היחס בין התעתיק BCR-ABL1 לתעתיק ABL1 לפי International Scale (IS) ולפי Log Molecular Reduction (MR) מקו בסיס של 100% IS. הסבר לחישוב מופיע בסעיף שיטת הבדיקה ופרמטרים אנליטיים. רגישות הבדיקה תואמת לדרישות הקליניות^{2,3}. הבדיקה עברה תיקוף והשוואה לתוצאות בשיטה המקובלת במעבדה עד היום עם כיילים של Ipsogen (Qiagen) ותיקון לפי IS ונמצאה קורלציה מלאה בין שתי השיטות. עם זאת, במעברים בין שיטות עלולים להיות הבדלים קלים בין התוצאות ולכן לכל בדיקת BCR-ABL1 כמותית ל-P210 בשיטה החדשה תתווסף הערה "בוצע ב-GeneXpert".

דגימות

דם היקפי (10 מ"ל במבחנת EDTA בלבד). מבחנת הפריין אינה מתאימה לביצוע בדיקה זו). יש לאחסן את הדגימה בקירור 4°C ולהעבירה למעבדה תוך 24 שעות ממועד הלקיחה.

שיטת הבדיקה ופרמטרים אנליטיים

הבדיקה מבוצעת במערכת Cepheid GeneXpert הכוללת הכנה אוטומטית ואינטגרטיבית של הפקת חומצות גרעין, הגברתן וכימות התעתיקים ל-ABL1 ול-BCR-ABL1 בעזרת real time reverse transcription PCR. המחסנית בה מתבצעת הבדיקה עבור כל דגימה מכילה את כלל החומרים הדרושים לביצוע כל שלבי הריאקציה לכימות הטרנסלוקציות מסוג e13a2/b2a2 ו-e14a2/b3a2 (P210) וכן לכימות הגן האנדוגני ABL1 המשמש כבקר פנימי לבדיקה. כמות תעתיק BCR-ABL1 בדגימה מדווחת כיחס BCR-ABL1/ABL1 לפי ה-International Scale (IS). בנוסף, מדווח Molecular Reduction (MR value) מקו בסיס של 100% IS בעזרת תוכנת GeneXpert. התוצאה מדווחת לפי הנוסחה הבאה: $(IS) = E_{\Delta Ct}^{(\Delta Ct)} \times 100 \times \text{Scaling Factor}(SF)$, כאשר ΔCt מתייחס ל-(ABL Ct - BCR-ABL Ct); SF מתייחס לפרמטר הספציפי לכל אצווה; $E_{\Delta Ct}$ נקבע לכל אצווה על ידי החברה.

כל אצווה עוברת סטנדרטיזציה עפ"י כיילים של ה-WHO. כיילים אלה מאפשרים לקבוע את פקטור התיקון הספציפי לכל אצווה. בכל הרצה שני סוגי בקרים: ABL1 ו-Probe Check Control (PCC): הבקר ל-ABL1 האנדוגני מאפשר לנרמל את כמות תעתיקי BCR-ABL1 ולוודא שישנה כמות מספקת של חומצות גרעין לביצוע הבדיקה, הבקר ל-PCC מוודא את תקינות מרכיבי הריאקציה שבמחשנית.

הפרמטרים האנליטיים של הבדיקה:

Limit of detection (LoD)=0.0030% (IS) / MR 4.52; Limit of quantification (LoQ)=0.0030% (IS) / MR 4.52; Linearity/Dynamic Range (IS)= 0.0030-55% (Molecular Reduction range= 0.26-4.52); Specificity=100%.

פענוח התוצאות:

התוצאות מפוענחות אוטומטית ע"י מערכת ה-GeneXpert והסיגנלים הפלואורוסנטיים נקראים ומעובדים לפי האלגוריתם המוטמע בתוכנה.

- (1) במקרה של תוצאה שלילית: לא זוהו תעתיקים ל-BCR-ABL1. תדווח תוצאה כאשר ה-ABL1 Ct הינו מתחת ל- 18 (מינימום 32,000 תעתיקי ABL1).
- (2) במקרה של תוצאה חיובית יש כמה אפשרויות: (א) תדווח תוצאה חיובית עם ערך IS וערך MR; (ב) תדווח תוצאה חיובית מספרית תוך ציון שהיא מעל סף הכימות [Above upper LoQ], כלומר מעל 55% IS; (ג) תדווח תוצאה חיובית מתחת לסף הגילוי [Below LoD; >MR 4.52 / <0.003%]. בכל המקרים האלה (א-ג) תשודר תוצאה כאשר ה-ABL1 Ct הינו מתחת ל- 18 (מינימום 32,000 תעתיקי ABL1).
- (3) כאשר ערך ה-ABL1 Ct מעל 18 (כלומר יש פחות מ-32,000 תעתיקים), לא ניתן להוציא תוצאה ויש לחזור על הבדיקה.
- (4) ללקוחות פנים הבדיקה מופיעה בקמיליון תחת לשונית Real Time Quantitative PCR. ללקוחות חוץ הדוח יופץ בערוצים המקובלים בין המוסדות, כשאר הבדיקות.

מידע נחוץ להזמנת הבדיקה:

סופס הזמנת בדיקה, הפנייה והתחייבויות (קוד התחייבות: 83898), מידע קליני, סוג הדגימה, תאריך לקיחת הדגימה ופרטי רופא מטפל לבירורים (אי-מייל וטלפון).

זמן למתן תשובה:

עד 7 ימים בהנחה שהדגימה תקינה ולא נדרשת חזרה על הבדיקה.

מגבלות השיטה:

1. הבדיקה אינה מבדילה בין e13a2/b2a2 לבין e14a2/b3a2 ואינה מכמתת תעתיקים נדירים של t(9;22).
2. פרמטר הדיוק (precision) לא נבדק מתחת ל-MR 4.5.
3. בדגימות בהן הספירות גבוהות (מעל 30 מיליון תאים/מ"ל) הבדיקה תתבצע לפי פרוטוקול מיהול של החברה.
4. בדגימות בהן הספירות נמוכות (מתחת ל-150,000 תאים/מ"ל) הבדיקה לא תקפה.
5. קיימים נבדקים עם ערכים נמוכים של BCR-ABL1 (מתחת ל-LoD 0.0030% IS או מעל MR 4.52) שיראו תוצאה שלילית ל-BCR-ABL1. תוצאה זו אינה שוללת הימצאות תאי לוקמיה בודדים.

6. הבדיקה הינה כמותית ואינה מיועדת לאבחנה של CML.

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer Statistics 2008; CA Cancer J Clin. 2008;58:71-96.
2. Baccarani M. et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia. Blood. 2013 Jun;122(6):872-884.
3. Hochhaus A. et al. Chronic myeloid leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow up. Annals of Oncology. 2017 May; 28(4):iv41-iv51