



AlphaReal KRAS

Scheda Tecnica

Prodotto: AlphaReal KRAS
Codice prodotto: RT 602.20.20
Adempimenti regolatori: IVDD 98/79/CE
N° Tests: 20

Destinazione d'uso - Impatto clinico

Con circa 400.000 casi ogni anno, il cancro colon rettale (CRC) è una delle più comuni neoplasie umane e una delle principali cause di morte legata al cancro nel mondo occidentale.

Durante l'ultimo decennio, la sopravvivenza media dei pazienti con CRC metastatico (mCRC) è aumentata da 12 a 21 mesi, principalmente grazie all'introduzione di nuovi chemioterapici (agenti citotossici come oxaliplatino e irinotecano).

Inoltre, i numerosi studi riguardanti la biologia del cancro hanno portato allo sviluppo di agenti che inibiscono la crescita tumorale in modo specifico. Ad esempio, si è scoperto che il recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR) è spesso sovra-regolato nel CRC, ed è stato dimostrato che gli anticorpi monoclonali rappresentano uno dei più importanti strumenti per inibire tale target. Il cetuximab e il panitumumab sono anticorpi monoclonali chimerici in grado di interferire con il dominio extracellulare di EGFR. Il loro utilizzo nei protocolli clinici per il trattamento di mCRC che esprimono EGFR refrattari al trattamento con chemioterapia convenzionale ha rilevato un significativo beneficio terapeutico.

Analisi retrospettive hanno anche dimostrato che la regressione del tumore è più frequentemente osservata tra i pazienti con maggiore numero di copie del gene EGFR.

Tumori caratterizzati da mutazioni a livello dell'oncogene KRAS sono generalmente associati a una peggiore prognosi. In particolare le mutazioni del gene di KRAS influenzano negativamente la risposta delle cellule tumorali al trattamento con cetuximab, la cui particolare sensibilità è stata evidenziata da diverse analisi del meccanismo d'azione degli anticorpi monoclonali anti EGFR.

I tumori del colon-retto che portano una mutazione a livello dei codoni 12 e 13 del gene KRAS, non rispondono al trattamento con anticorpi anti EGFR.

Invece, il trattamento con cetuximab di tumori privi di queste mutazioni ("Wild Type"), in associazione alla chemioterapia, aumenta in modo statisticamente significativo la sopravvivenza (9.5 vs 4.8 mesi) e la progressione libera da malattia (3.7 vs 1.9 mesi).

E' quindi estremamente utile conoscere lo stato di mutazione dell'oncogene KRAS nelle cellule tumorali del paziente al fine di evitare la somministrazione di un farmaco, tra l'altro molto costoso, che si può rivelare fallimentare nel management del paziente e che andrebbe somministrato ai soli pazienti con la più alta possibilità di trarre beneficio da esso.

Considerando l'impatto delle mutazioni di KRAS sull'efficacia del trattamento con anticorpi monoclonali anti EGFR, l'identificazione delle mutazioni di KRAS nelle cellule tumorali è sicuramente una fase critica nello sviluppo di adeguati protocolli clinici.

Principio del metodo

Il kit AlphaReal KRAS è un dispositivo diagnostico in vitro che ha lo scopo di ricercare sette mutazioni somatiche all'interno dell'esone 2 (codoni 12 e13) dell'oncogene KRAS (G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D, che coprono il 98.8% delle mutazioni identificate come indicatori della risposta al trattamento con cetuximab).

Il kit AlphaReal KRAS fornisce una valutazione qualitativa sullo stato mutazionale del gene KRAS a livello tumorale attraverso un protocollo estremamente rapido ed altamente specifico.

I risultati ottenuti con questo saggio mirano ad aiutare il clinico oncologo ad identificare i pazienti con CRC che possono beneficiare di una terapia a base di cetuximab o panitumumab, anticorpi monoclonali diretti contro il recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR).

I risultati ottenuti con questo saggio, considerati insieme ad altri marcatori specifici per il CRC, sono da considerarsi fattori prognostici.

Il kit AlphaReal KRAS non deve essere usato per effettuare diagnosi di cancro colon-rettale.

Strumentazione

L'applicazione di tecniche di fluorescenza ai protocolli di PCR e l'utilizzo di una opportuna strumentazione in grado di combinare l'amplificazione, l'individuazione e la quantificazione, hanno portato allo sviluppo della PCR cinetica e delle metodologie di PCR Real Time che stanno rivoluzionando la possibilità di quantificare gli acidi nucleici.

La PCR Real Time consente di amplificare e rilevare il segnale simultaneamente in un sistema chiuso, evitando il rischio di contaminazioni. L'acquisizione e l'analisi dei dati si ottengono in breve tempo, riducendo al minimo il tempo di manipolazione. L'intero processo, che parte dalla PCR Real Time e termina con la quantificazione, è automatico, il che rende questa soluzione ideale per applicazioni di screening ad altissimo rendimento.

Il kit per la determinazione degli alleli di KRAS è stato ottimizzato utilizzando gli strumenti Mx3000TM (Stratagene) e ABI Prism7000TM (Applied Biosystems), ma è compatibile anche con i seguenti termociclatori PCR Real Time presenti sul mercato (Stratagene Mx4000, Applied Biosystems Prism7300/7500/7900TM, Biorad CFX96 e Biorad MiniOpticon, Applied Biosystems StepOneTM, Roche - LightCycler® 480 System).

Limitazioni nell'uso del prodotto

Questo kit è utilizzabile esclusivamente per diagnosi in vitro. Il prodotto non può essere rivenduto alterandone il contenuto senza il consenso scritto da parte dell'azienda. Il prodotto deve essere utilizzato solo da personale specificamente istruito e formato sulle procedure diagnostiche in vitro.

Limitazioni del metodo

Il kit AlphaReal KRAS non funziona su DNA fortemente frammentato causato da eccessiva fissazione.

Il limite di individuazione è condizionato dalla durata di fissazione in formalina. Se il tessuto è fissato per più di 24 ore, gli acidi nucleici saranno di scarsa qualità.

Sensibilità analitica

Il limite di individuazione analitica (limite di sensibilità) del kit AlphaReal KRAS è dell'1%.

Controllo di qualità

In accordo con il Sistema di Gestione della Qualità UNI EN ISO 13485:2012 dell'azienda, ogni lotto del kit AlphaReal KRAS è testato a fronte di specifiche predeterminate in modo da garantire la qualità del prodotto.

Tempistiche del saggio

PCR Real Time: 120 minuti; Analisi dei dati: 30 minuti.

Totale: 2 ore e 30 minuti

Nota 1: Le tempistiche descritte escludono il processo di estrazione

Nota 2: Il tempo indicato si riferisce al processamento di un singolo campione

Nota 3: La tempistica del saggio dipende dal numero di campioni da processare

Nota 4: Il tempo di lavoro del singolo utente è di circa 4 ore.

AlphaGenics Biotech

AREA Science Park- Basovizza
Edificio Q1- Statale 14 Km 169,5
34149 Trieste

Tel: +390403755682- Fax: +390403755681

Email: info@alphagenicsbiotech.com

P.I.C.F 01251340327