



Agencja Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji
Wydział Świadczeń Opieki Zdrowotnej

**Analiza ekspresji genu lub kilku genów
(w tym genów fuzyjnych) przy użyciu metody
Real-time PCR (RQ-PCR) - ilościowa reakcja
łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym**

Raport w sprawie zasadności zakwalifikowania świadczenia opieki zdrowotnej

Nr: WS.430.4.2018

Data ukończenia: 29 grudnia 2021 r.

KARTA NIEJAWNOŚCI

Dane zakreślone **kolorem żółtym** stanowią informacje publiczne podlegające wyłączeniu ze względu na tajemnicę przedsiębiorcy (nazwa wnioskodawcy).

Zakres wyłączenia jawności: dane objęte oświadczeniem (nazwa wnioskodawcy) o zakresie tajemnicy przedsiębiorcy.

Podstawa prawna wyłączenia jawności: art. 5 ust. 2 ustawy z dnia 6 września 2001 r. o dostępie do informacji publicznej (Dz. U. z 2020 r., poz. 2176 z późn. zm.) w zw. z art. 11 ust. 2 ustawy z dnia 16 kwietnia 1993 r. o zwalczaniu nieuczciwej konkurencji (Dz. U. z 2020 r., poz. 1913 z późn. zm.).

Organ dokonujący wyłączenia jawności: Agencja Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji.

Podmiot w interesie którego dokonano wyłączenia jawności: (nazwa wnioskodawcy).

Dane zakreślone **kolorem czarnym** stanowią informacje publiczne podlegające wyłączeniu ze względu na tajemnicę przedsiębiorców (nazwy przedsiębiorców innych niż wnioskodawca).

Zakres wyłączenia jawności: dane objęte oświadczeniem (nazwa przedsiębiorców innych niż wnioskodawca) o zakresie tajemnicy przedsiębiorcy.

Podstawa prawna wyłączenia jawności: art. 5 ust. 2 ustawy z dnia 6 września 2001 r. o dostępie do informacji publicznej (Dz. U. z 2020 r., poz. 2176 z późn. zm.) w zw. z art. 11 ust. 2 ustawy z dnia 16 kwietnia 1993 r. o zwalczaniu nieuczciwej konkurencji (Dz. U. z 2020 r., poz. 1913 z późn. zm.).

Organ dokonujący wyłączenia jawności: Agencja Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji.

Podmiot w interesie którego dokonano wyłączenia jawności: (nazwy przedsiębiorców innych niż wnioskodawca).

Dane zakreślone **kolorem czerwonym** stanowią informacje publiczne podlegające wyłączeniu ze względu na prywatność osoby fizycznej.

Zakres wyłączenia jawności: dane osobowe.

Podstawa prawna wyłączenia jawności: art. 5 ust. 1 ustawy z dnia 6 września 2001 r. o dostępie do informacji publicznej (Dz. U. z 2020 r., poz. 2176 z późn. zm.) w zw. z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE (ogólne rozporządzenie o ochronie danych) (Dz. U. UE.L. z 2016 r. 119.1).

Organ dokonujący wyłączenia jawności: Agencja Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji.

Podmiot w interesie którego dokonano wyłączenia jawności: osoba fizyczna.

Wykaz wybranych skrótów

Agencja / AOTMiT	Agencja Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji
AgNOR	Barwienie srebrowe, metoda barwienia organizatorów jąderkowych; zastosowany azotan srebra wybarwia białka związane z aktywnym transkrypcyjnie DNA
AIE	Chemioterapia indukcyjna
Allo-HSCT	przeszczepienie allogenicznych krwiotwórczych komórek macierzystych
AOS	Ambulatoryjna Opieka Specjalistyczna
APL	Ostra białaczka promielocytowa
ALL	Ostra białaczka limfoblastyczna
AML	Ostra białaczka szpikowa
AML1/ETO	Gen fuzyjny
AP	Faza akceleracji
APL	Ostra białaczka promielocytowa
ASO IgH RQ-PCR	allelo-specyficzna dla łańcuchów ciężkich immunoglobulin reakcja łańcuchowa polimerazy z ilościowym oznaczaniem produktu
ASCO	American Society of Clinical Oncology
ATO	Trójtlenek arsenu
ATRA	kwas all-trans retinowy
B-ALL, BCP-ALL	ALL z prekursorów limfocytu B
BCR-ABL1	gen fuzyjny powstający w wyniku translokacji między chromosomami 9 i 22 (tzw chromosom Filadelfia)
BIP	Biuletyn Informacji Publicznej
CACH22	Zespół DiGeorge'a, zespół wad wrodzonych spowodowany mikrodelecją prążka chromosomu 22q11 przebiegający z pierwotnym niedoborem odporności
CBG	metoda otrzymywania prążków C na chromosomach (wodorotlenek baru – Giemza)
CCyR	Całkowita odpowiedź cytogenetyczna
cDNA	Komplementarny kwas deoksyrybonukleinowy
CHF	Frank szwajcarski
CHIP	hematopoeza klonalna o nieokreślonym potencjale
CHR	Całkowita odpowiedź hematologiczna
CIR	Częstość nawrotów
CLL	Przewlekła białaczka limfocytowa
CML	Przewlekła białaczka szpikowa
CMR	Całkowita odpowiedź molekularna
CP	Faza przewlekła
CyR	Odpowiedź cytogenetyczna
ddPCR	PCR emulsyjny (droplet digital PCR)
DiLO	karta Diagnostyki i Leczenia Onkologicznego
DNA	Kwas deoksyrybonukleinowy
EBM	Medycyna oparta na dowodach naukowych
EDI	Federalny Departament Spraw Wewnętrznych, niem. Eidgenössisches Departement des Innern
EFS	Przeżycie wolne od zdarzeń

EHIF	Estonian Health Insurance Fund
ELN	European Leukemia Net
EMR	Wczesna odpowiedź molekularna
EUR	Euro
ESMO	European Society for Medical Oncology
FC, FCM	Cytometria przepływowa
FDA	amerykańska Agencja Żywności i Leków (Food and Drug Administration)
FISH	technika fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ
GBD	Global Burden of Disease
GEP	Profil ekspresji genów
GLH	Genomic Laboratory Hubs
GMC	Genomic Medicine Centre
GTG	technika barwienia prążków G za pomocą trypsyny i barwnika Giemsy
GR	Pacjenci o dobrym rokowaniu
HAM	Chmioterapia konsolidująca
HCT	hematokryt
HL	Chłoniak Hodgkina
HRBT	Analiza chromosomów prometafazowych
HRG	Healthcare Resource Group
HT	Halving time, czas połowicznej redukcji liczby transkryptu
HTA	Ocena technologii medycznych
ICD-10	Międzynarodowa klasyfikacja chorób
IG/TR	Ang. immunoglobulin (IG) and T-cell receptor (TR)
INR	Rupia indyjska
IS	International Scale
ISH	Hybrydyzacja in situ
JGP	Jednorodne Grupy Pacjentów
KLV	rozporządzenie w sprawie świadczeń zdrowotnych, niem. Krankenpflege-Leistungsverordnung
Komparator	interwencja alternatywna, opcjonalna wobec interwencji ocenianej
KŚOZ	Karta Świadczenia Opieki Zdrowotnej
KRN	Krajowy Rejestr Nowotworów
Lek	produkt leczniczy w rozumieniu ustawy z dnia 6 września 2011 r. – Prawo Farmaceutyczne (Dz.U. z 2021 r. poz. 1977)
MAUDE	amerykańska baza prowadzona przez FDA gromadząca informacje dotyczące bezpieczeństwa stosowania wyrobów medycznych (Manufacturer and User Facility Device Experience)
MFC	wielokolorowe testy cytometrii przepływowej
MR	Odpowiedź molekularna
MMR	odpowiedź większa molekularna (major molecular response)
MRD	Minimalna choroba resztkowa
MZ	Ministerstwo Zdrowia
NBP	Narodowy Bank Polski
NCCN	National Comprehensive Cancer Network

NGS	Next Generation Sequencing, technologia sekwencjonowania DNA
NHL	Chłoniak nieziarniczy
NHS	National Health Service
NIH	National Institutes of Health
NFZ	Narodowy Fundusz Zdrowia
NPM1	Nukleofosmina, fosfoproteidami występującą głównie w jąderku biorącą udział w licznych procesach komórkowych
NSO	Narodowa Strategia Onkologiczna
OS	Przeżycie całkowite
OSR	Ocena Skutków Regulacji
OUN	Ośrodkowy układ nerwowy
PB	Krew woodway (ang. peripheral blood)
PCR	Reakcja łańcuchowa polimerazy (ang. Polymerase Chain Reaction)
PCR-HD	Wykrywanie mutacji metodą heterodupleksów
PFS	Przeżycie wolne od progresji
Ph	Chromosom Filadelfia
PKB	Produkt krajowy brutto
PLN	Polski złoty
PML-RARA	gen fuzyjny którego obecność stwierdza się w komórkach nowotworowych ostrej białaczki promielocytowej
PTOK	Polskie Towarzystwo Onkologii Klinicznej
PR	Pacjenci o słabym rokowaniu
QFQ	Prążki Q - metoda, która wykorzystuje barwnik quinakrynę (atebrynę) dający seledynowe zabarwienie o różnej intensywności, widoczne w regionach bogatych w pary AT
QT	fragment zapisu elektrokardiograficznego od początku załamka Q do końca załamka T
RBG	Prążki R uwidaczniane barwnikiem Giemsy po denaturacji termicznej; odwrotność prążków G; reprezentują charakterystyczne dla euchromatyny obszary bogate w cytozynę i guaninę
RCL	Rządowe Centrum Legislacji
real time PCR (qPCR)	reakcja łańcuchowa polimerazy z analizą powstającego produktu w czasie rzeczywistym, ilościowy PCR (Quantitative PCR)
RFLP	Polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych
RNA	Kwas rybonukleinowy
RT-PCR (reverse transcription)	RT-PCR (reverse transcription) modyfikacja PCR polegająca na użyciu mRNA jako matrycy. Synteza DNA na matrycy mRNA odbywa się przy użyciu odwrotnej transkryptazy (RT). Następnie DNA namnaża się za pomocą zwykłej reakcji PCR. Nie jest to metoda ilościowa (qPCR).
Rozporządzenie MZ ws. raportu	Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 15 grudnia 2014 r. w sprawie sposobu i procedury przygotowania raportu w sprawie oceny świadczenia opieki zdrowotnej (Dz. U. z 2014 r., poz. 1849)
RQ-PCR	Zgodnie z KŚOZ „jest to reakcja PCR z analizą w czasie rzeczywistym. Metoda ta pozwala na monitorowanie ilości kopii produktu w każdym cyklu reakcji, nawet przy bardzo niskich wyjściowych stężeniach matrycy. RQ-PCR umożliwia jednoczesną analizę oraz wizualizację produktu w trakcie trwania reakcji dzięki zastosowaniu wyznakowanych fluorescencyjnie związków interkalujących lub sond”. W raporcie termin RQ-PCR stosowany jest jako równoznaczny z używanymi w literaturze naukowej określeniami: real time PCR, quantitative PCR, RT-qPCR.
RUNX	rodziny genów RUNX (runt-related transcription factor).
SD	Odchylenie standardowe

SE	Błąd standarowy
SEDC	Dysplazja kręgosłupowo-nasadowa
SEMDC	dysplazja kręgosłupowo-nasadowo- przynasadowa
SIGTAP	Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos
SSCP	polimorfizm konformacji pojedynczej nici
SUS	The Sistema Único de Saúde
T-ALL	ALL z prekursorów limfocytu T
TARMED	Struktura taryf, która służy rozliczaniu ambulatoryjnych usług medycznych w gabinetach lekarskich i szpitalach w Szwajcarii
TCR	receptor komórek T
Technologia	technologia medyczna w rozumieniu art. 5 pkt 42 b ustawy o świadczeniach lub środek spożywczy specjalnego przeznaczenia żywieniowego lub wyrób medyczny w rozumieniu art. 2 pkt 21 i 28 ustawy z dnia 12 maja 2011 r. o refundacji leków, środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego oraz wyrobów medycznych (Dz. U. z 2016 r. poz. 1536 z późn. zm.)
TKI	Inhibitory kinazy tyrozynowej
TSK	Transplantacja szpiku kostnego
Ustawa o świadczeniach	Ustawa z dnia 27 sierpnia 2004 r. o świadczeniach opieki zdrowotnej finansowanych ze środków publicznych (Dz.U. 2021 poz. 1285)
URPL	Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych
USD	Dolar amerykański
USG	ultrasonografia
WAGR	Wilms tumor-aniridia syndrom, genetycznie uwarunkowany zespół wad wrodzonych
Wytyczne AOTMiT	Wytyczne oceny technologii medycznych (HTA); Wyroby medyczne, Wersja 1.0, czerwiec 2021.

Spis treści

Wykaz wybranych skrótów	3
Spis treści	7
1. Podstawowe informacje o zleceniu	10
2. Podsumowanie wykonawcze	11
3. Przedmiot i historia zlecenia	24
4. Problem decyzyjny	26
4.1. Definiowanie problemu decyzyjnego.....	26
4.2. Problem zdrowotny.....	27
4.3. Oceniana technologia medyczna i technologie alternatywne	30
4.3.1. Opis wnioskowanej technologii medycznej	30
4.3.2. Zastosowanie technologii Real time PCR (RQ-PCR) w praktyce klinicznej.....	31
4.3.2.1. Wskazania, których dotyczy zlecenie	31
4.3.3. Obecna praktyka kliniczna i technologie alternatywne	32
4.3.4. Opinie ekspertów klinicznych.....	32
4.3.4.1. Skutki następstw choroby lub stanu zdrowia	32
4.3.4.2. Wpływ świadczenia na poprawę zdrowia	33
4.3.4.3. Znaczenie dla zdrowia obywateli	33
4.3.4.4. Interwencje stosowane w ocenianym wskazaniu	34
4.3.4.5. Stanowisko własne ekspertów ws. finansowania ocenianej technologii	34
4.3.4.6. Mocne i słabe strony finansowania ocenianej technologii ze środków publicznych	35
4.3.4.7. Komentarz AOTMiT do opinii prof. Styczyńskiego	35
4.3.5. Rekomendacje i wytyczne kliniczne	36
4.3.6. Uzasadnienie wyboru technologii alternatywnych	39
5. Analiza skuteczności i bezpieczeństwa	41
5.1. Opis metodyki.....	41
5.2. Opis badań włączonych do przeglądu	41
5.2.1. Zasady interpretacji wybranych punktów końcowych w chorobach nowotworowych układu krwiotwórczego uzyskanych przy pomocy RQ-PCR	42
5.3. Wyniki.....	44
5.3.1. Wyniki punktów końcowych w badaniach dotyczących diagnostyki nowotworów hematologicznych	44
5.3.2. Podsumowanie wyników badań w zakresie diagnostyki nowotworów hematologicznych	46
5.3.3. Wyniki punktów końcowych w badaniach dotyczących monitorowania minimalnej choroby resztkowej.....	48
5.3.4. Podsumowanie wyników badań dotyczących monitorowania minimalnej choroby resztkowej.....	58
5.3.5. Wyniki punktów końcowych w badaniach dotyczących monitorowania terapii celowanej TKI	62

5.3.6.	Podsumowanie wyników badań dotyczących monitorowania terapii celowanej TKI	68
5.4.	Badania zarejestrowane w bazie ClinicalTrials.gov	70
5.5.	Ograniczenia dotyczące analizy skuteczności	71
5.6.	Analiza bezpieczeństwa	71
5.6.1.	Informacje w zakresie bezpieczeństwa odnalezione w wyniku przeglądu systematycznego	71
5.6.2.	Dodatkowe informacje w zakresie bezpieczeństwa	71
6.	Przegląd analiz ekonomicznych	73
7.	Analiza wpływu finansowania świadczenia opieki zdrowotnej ze środków publicznych na system ochrony zdrowia	75
7.1.	Aktualny stan finansowania badań genetycznych w chorobach nowotworowych	75
7.1.1.	Ambulatoryjna Opieka Specjalistyczna	75
7.1.2.	Leczenie Szpitalne	76
7.1.2.1.	Programy Lekowe	78
7.1.3.	Zestawienie produktów rozliczeniowych służących do finansowania badań genetycznych chorób nowotworowych ze środków NFZ	79
7.2.	Działania realizowane w ramach Narodowej Strategii Onkologicznej	79
7.2.1.	Programy realizowane w ramach Narodowej Strategii Onkologicznej	79
7.2.2.	Wprowadzenie finansowania ze środków publicznych (NFZ) działań na rzecz poprawy wyników leczenia dzieci i młodzieży z wykrytymi nowotworami, kontroli jakości opieki onkologicznej	80
7.2.2.1.	Projekt rozporządzenia Ministra Zdrowia zmieniającego rozporządzenie w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu leczenia szpitalnego	80
7.3.	Opinia Prezesa NFZ	81
7.4.	Skutki finansowe dla systemu ochrony zdrowia	81
7.4.1.	Oszacowanie wg Karty Świadczenia Opieki Zdrowotnej	81
7.4.2.	Oszacowanie własne AOTMIT	82
7.4.2.1.	Metodyka	82
7.4.2.2.	Populacja docelowa	83
7.4.2.3.	Koszt świadczenia	84
7.4.2.4.	Schemat realizacji świadczenia	84
7.4.2.5.	Wyniki	84
7.4.2.6.	Ograniczenia	86
8.	Ocena proponowanego sposobu finansowania	87
9.	Finansowanie ocenianej technologii ze środków publicznych w innych krajach	88
10.	Piśmiennictwo	91
11.	Załączniki	95
11.1.	Strategie wyszukiwania publikacji	95
11.2.	Diagram selekcji badań	98
11.3.	Publikacje wykluczone	98
11.4.	Charakterystyka publikacji włączonych do analizy	101

11.5. Możliwość zastosowania innych rozwiązań (np. badań genetycznych alternatywnych) w stosunku do wskazań podanych w KŚOZ	111
11.6. Część M załącznika nr 2 Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 6 listopada 2013 r. w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu ambulatoryjnej opieki specjalistycznej.....	113
12. Spis tabel.....	116

1. Podstawowe informacje o zleceniu

Data wpłynięcia zlecenia do AOTMiT (DD-MM-RRRR) i znak pisma zlecającego:

30.01.2018 r., IK.1089073.2017/DS

27.07.2021 r., ASG.741.4.2020.WN (zmodyfikowana Karata Świadczenia Opieki Zdrowotnej)

Przedmiot zlecenia (z pisma zlecającego):

przygotowanie rekomendacji w sprawie zasadności kwalifikacji badania genetycznego:

„Analiza ekspresji genu lub kilku genów (w tym genów fuzyjnych) przy użyciu metody Real-Time PCR - ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym (RQ-PCR) (Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction)”

jako świadczenia gwarantowanego w ramach ambulatoryjnej opieki specjalistycznej

Typ zlecenia:

<input checked="" type="checkbox"/>	zakwalifikowanie jako świadczenia gwarantowanego, wraz z określeniem poziomu finansowania w sposób kwotowy albo procentowy lub sposobu jego finansowania, lub warunków jego realizacji (art. 31c ustawy o świadczeniach)
<input type="checkbox"/>	usunięcie świadczenia opieki zdrowotnej z wykazu świadczeń gwarantowanych albo dokonanie zmiany poziomu lub sposobu finansowania, lub warunków realizacji świadczenia gwarantowanego (art. 31e–f ustawy o świadczeniach)
<input type="checkbox"/>	realizacja innych zadań zleconych przez Ministra właściwego do spraw zdrowia (art. 31n pkt 5 ustawy o świadczeniach)

Zlecenie dotyczy świadczenia gwarantowanego z zakresu:

<input type="checkbox"/>	podstawowej opieki zdrowotnej
<input checked="" type="checkbox"/>	ambulatoryjnej opieki specjalistycznej
<input type="checkbox"/>	leczenia szpitalnego
<input type="checkbox"/>	opieki psychiatrycznej i leczenia uzależnień
<input type="checkbox"/>	rehabilitacji leczniczej
<input type="checkbox"/>	świadczeń pielęgnacyjnych i opiekuńczych w ramach opieki długoterminowej
<input type="checkbox"/>	leczenia stomatologicznego
<input type="checkbox"/>	lecznictwa uzdrowiskowego
<input type="checkbox"/>	zaopatrzenia w wyroby medyczne, na zlecenie osoby uprawnionej, oraz ich naprawy, o których mowa w ustawie o refundacji
<input type="checkbox"/>	ratownictwa medycznego
<input type="checkbox"/>	opieki paliatywnej i hospicyjnej
<input type="checkbox"/>	świadczeń wysokospecjalistycznych
<input type="checkbox"/>	programów zdrowotnych

Wnioskodawca (pierwotny):

Minister Zdrowia

Producent / wytwórca / podmiot odpowiedzialny w kontekście przedmiotu zlecenia:

Nie dotyczy

2. Podsumowanie wykonawcze

Problem decyzyjny

Zastosowania badania genetycznego metodą RQ-PCR

Technika RQ-PCR łączy w sobie dwie ważne zalety: wysoką czułość reakcji oraz możliwość analizy poziomu ekspresji genu lub genów w kilku lub nawet kilkunastu próbkach jednocześnie, co zdecydowanie skraca czas procedury diagnostycznej. Jest to reakcja PCR z analizą produktu w czasie rzeczywistym. Metoda ta pozwala na monitorowanie ilości kopii produktu w każdym cyklu reakcji, nawet przy bardzo niskich wyjściowych stężeniach matrycy.

Analiza ekspresji genów w ujęciu ilościowym w chwili obecnej znajduje zastosowanie przede wszystkim w diagnostyce chorób hematologicznych. Rutynowo stosowane metody w diagnostyce hematologicznej (klasyczny kariotyp i/lub FISH) mają nieporównywalnie niższą czułość diagnostyczną niż technika RQ-PCR (odpowiednio 1-10% dla klasycznego kariotypu, 0,2-5% dla FISH vs. 0,001% dla RQ-PCR).

Wprowadzenie do diagnostyki techniki real-time PCR (RQ-PCR) umożliwia znaczące zwiększenie potencjału diagnostycznego tej metody. Jest to reakcja PCR z analizą w czasie rzeczywistym. Metoda ta pozwala na monitorowanie ilości kopii produktu w każdym cyklu reakcji, nawet przy bardzo niskich wyjściowych stężeniach matrycy. RQ-PCR umożliwia jednoczesną analizę oraz wizualizację produktu w trakcie trwania reakcji dzięki zastosowaniu wyznakowanych fluorescencyjnie związków interkalujących (np. SYBR Green jako przykład detekcji niespecyficznej) lub sond (np. sondy TaqMan, sondy typu molekularna latarnia, sonda HyProbes jako przykład detekcji specyficznej).

Stan obecny

Aktualnie w rozporządzeniu Ministra Zdrowia w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu ambulatoryjnej opieki specjalistycznej (Dz. U. z 2016 r. poz. 357, z późn. zm.), metoda klasyczna PCR i jej modyfikacje została ujęta w wykazie świadczeń gwarantowanych dotyczących badań diagnostycznych w załączniku nr 2 do rozporządzenia, lit. M. Badania genetyczne, l.p. 915 Badania metodami biologii molekularnej.

Należy jednocześnie zaznaczyć, wskazane badanie genetyczne „PCR i jej modyfikacje” implikuje niejasność co do interpretacji niniejszego zapisu. W przepisach ww rozporządzenia brak jest precyzyjnego określenia rodzajów modyfikacji metody PCR oraz wskazań do stosowania, w szczególności w **kompleksowej diagnostyce genetycznej chorób nowotworowych**. Brak jest też informacji czy badanie metodą „PCR i jej modyfikacje” jest świadczeniem gwarantowanym w procesie monitorowania choroby resztkowej i terapii celowanej w nowotworach hematologicznych.

W związku z powyższym, istnieje potrzeba co do wydzielenie badania RQ-PCR jako osobnej metody z podaniem wskazań oraz warunków realizacji ze względu na fakt, iż stanowi standard postępowania w białaczkach.

Propozycja wnioskodawcy

Według KŚOZ do badanie genetyczne przy użyciu metody *Real-time PCR (RQ-PCR) - ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym*, będzie miało zastosowanie w diagnostyce oraz monitorowaniu skuteczności leczenia ukierunkowanego molekularnie, głównie w rozpoznaniu wg ICD-10: C92 Białaczka szpikowa, gdzie jest wymagane wykonywanie badania metodą real time PCR do: diagnostyki translokacji oraz do cyklicznego monitorowania (około 1/3 miesiące) skuteczności leczenia głównie przewlekłej białaczki szpikowej (C92.1) z wykorzystaniem drogich leków inhibitorów kinaz, jak również monitorowania odpowiedzi na leczenie poprzez badanie chimeryzmu hematopoetycznego i minimalnej choroby resztkowej (MRD; minimal residual disease).

Założono, że realizacja świadczenia będzie odbywać się w placówkach posiadające odpowiedni sprzęt (tj. termocykler dedykowany do real-time PCR, wirówka preparacyjna, pipeta automatyczna, oprogramowanie) oraz zespół składający się z diagnostów laboratoryjnych ze specjalizacją z zakresu laboratoryjnej genetyki medycznej.

Problem decyzyjny

W niniejszym raporcie z uwagi na wnioskowane wydzielenie metody real-time PCR (RQ-PCR) do diagnostyki i monitorowania efektów leczenia nowotworów hematologicznych (wskazania ICD-10: C91-C96), szczególnie ostrej białaczki limfoblastycznej i białaczki szpikowej, poddano analizie wykorzystanie tej metody w aspekcie:

- zasadności klinicznej i finansowej stosowania badania techniką RQ-PCR w diagnostyce i monitorowaniu efektów terapii białaczek;
- zasadności wyszczególnienia tej metody RQ-PCR, ze względu na istotność kliniczną i doszczegółowienie wskazań, w Ambulatoryjnej Opiece Specjalistycznej.

Wyniki przeprowadzonego procesu analitycznego w tym spodziewane korzyści zdrowotne dla pacjenta

W celu oceny zasadności kwalifikacji przedmiotowego badania wykonano następujące czynności analityczne:

- przeanalizowano wytyczne praktyki klinicznej odnoszące się do ocenianej metody;
- przygotowano analizę kliniczną w oparciu o przeprowadzony przegląd systematyczny;
- wykonano analizę bezpieczeństwa na podstawie danych źródłowych z dostępnych baz gromadzących informacje związane z bezpieczeństwem stosowania wyrobów medycznych służących do diagnostyki;
- zestawiono obecnie dostępne ścieżki finansowania badań genetycznych w chorobach nowotworowych w Polsce zarówno w opiece ambulatoryjnej, jak i szpitalnej;
- dokonano przeglądu rozwiązań międzynarodowych oraz wykonano przegląd analiz ekonomicznych;
- oszacowano skutki finansowe dla systemu ochrony zdrowia.

W świetle aktualnych wytycznych praktyki klinicznej badanie genetyczne RQ-PCR (dużej czułości) jest rekomendowaną metodą w diagnostyce i w monitorowaniu nowotworów hematologicznych (białaczek). Na podstawie przeprowadzonego przeglądu systematycznego można stwierdzić, iż oceniana w niniejszym opracowaniu metoda:

- pozwala na szybkie i precyzyjne wykrycie fuzji genów, co może stanowić element diagnostyki białaczek,
- stanowi cenne narzędzie kliniczne w monitorowaniu minimalnej choroby resztkowej w białaczkach,
- traktowana jest jako standard diagnostyki w leczeniu białaczek za pomocą inhibitorów kinaz tyrozynowych.

Zgodnie z otrzymaną opinią Konsultanta Krajowego w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej badanie metodą RQ-PCR jest najskuteczniejszą, standardową metodą w przedmiotowym wskazaniu.

Spodziewanym efektem wprowadzenia tej techniki biologii molekularnej o dużej czułości (RQ-PCR) do wykazu świadczeń gwarantowanych jest poprawa dostępności do nowoczesnej diagnostyki molekularnej dla pacjentów z rozpoznaniem białaczki oraz chłoniaka w celu wiarygodnego rozpoznawania nowotworu, precyzyjnej oceny odpowiedzi na zastosowaną terapię, oceny chimeryzmu przeszczepowego u pacjentów poddanych transplantacji, monitorowania choroby resztkowej w trakcie leczenia i po jego zakończeniu, a także wczesnego wykrywania (na poziomie molekularnym) wznowy choroby.

Problem zdrowotny

Zgodnie z informacjami zawartymi w Karcie Świadczenia Opieki Zdrowotnej analiza ekspresji genu lub kilku genów (w tym genów fuzyjnych) przy użyciu metody RQ-PCR - ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym ma dotyczyć diagnostyki następujących schorzeń:

- C91 – Białaczka limfatyczna;
- C92 – Białaczka szpikowa;
- C93 – Białaczka monocytowa;
- C94 – Inne białaczki określonego rodzaju;
- C95 – Białaczka z komórek nieokreślonego rodzaju;
- C96 – Inny i nieokreślony nowotwór złośliwy tkanki limfatycznej, układu krwiotwórczego i tkanek pokrewnych.

Wiele nowotworów, w tym przede wszystkim białaczki oraz chłoniaki, cechują się występowaniem charakterystycznych lub wysoce swoistych aberracji chromosomowych, które mogą prowadzić do powstawania genów fuzyjnych. Identyfikacja genów fuzyjnych w komórkach nowotworowych ma nie tylko wartość diagnostyczną, ale także może służyć do monitorowania efektów leczenia przeciwnowotworowego, zarówno klasyczną chemioterapią, jak też lekami celowanymi.

Problemem zdrowotnym jest również choroba resztkowa występująca po leczeniu przeciwnowotworowym. Znaczenie kliniczne choroby resztkowej i zasadność jej monitorowania jest przedmiotem aktualnej dyskusji. W opublikowanym w 2019 r. przeglądzie systematycznym z metaanalizą na bazie 23 prac oryginalnych wykazano, że w przypadku pacjentów z B-ALL, u których choroba resztkowa była na niewykrywalnym poziomie, osiągnęto znacznie lepsze przeżycie wolne od nawrotu (HR=2,34; CI 95%: 1,91–2,86) i przeżycie całkowite (HR=2,19; CI 95%: 1,63–2,94) niż u osób z wykrywalną chorobą resztkową.

Wykorzystanie metody RQ-PCR w celu określenia profilu nowotworu i w monitorowaniu leczenia lekami celowanymi jest już w wielu ośrodkach standardowym postępowaniem. Dane pokazują, że monitorowanie choroby resztkowej również wiąże się z korzyściami dla pacjenta i pozwala wcześniej wykryć nawrót choroby (poprzez wykrycie utraty odpowiedzi molekularnej przed pojawieniem się objawów klinicznych).

Dane o zachorowalności w latach 2014–2018 przedstawiono w poniższej tabeli.

Tabela 1. Zachorowania na białaczki wg Krajowego Rejestru Nowotworów (KRN) w latach 2014–2018 w Polsce

ICD-10	Typ nowotworu	2014	2015	2016	2017	2018
C91	Białaczka limfatyczna	1989	1883	1754	1801	1953
C92	Białaczka szpikowa	1276	1102	1096	1119	1176
C93	Białaczka monocytowa	66	81	71	71	72
C94	Inne białaczki określonego rodzaju	132	148	124	375	217
C95	Białaczka z komórek nieokreślonego rodzaju	66	82	62	57	77
C96	Inny i nieokreślony nowotwór złośliwy tkanki limfatycznej, krwiotwórczej i tkanek pokrewnych	71	137	143	76	87
Suma:		3600	3433	3250	3499	3582

Ostre białaczki szpikowe dominują u dorosłych, a ostre białaczki limfoblastyczne częściej występują u dzieci i osób młodych.

Dane o zgonach w latach 2014–2018 przedstawiono w poniższej tabeli.

Tabela 2. Zgony z powodu białaczek wg Krajowego Rejestru Nowotworów (KRN) w latach 2016–2018 w Polsce

ICD-10	Typ nowotworu	2014	2015	2016	2017	2018
C91	Białaczka limfatyczna	1201	1279	1334	1284	1430
C92	Białaczka szpikowa	1339	1289	1331	1327	1316
C93	Białaczka monocytowa	75	69	70	75	82
C94	Inne białaczki określonego rodzaju	33	36	43	43	43
C95	Białaczka z komórek nieokreślonego rodzaju	119	120	116	115	103
C96	Inny i nieokreślony nowotwór złośliwy tkanki limfatycznej, krwiotwórczej i tkanek pokrewnych	144	141	111	124	103
Suma:		2911	2934	3005	2968	3077

Wg danych GBD liczba zachorowań na białaczki w Polsce sukcesywnie rośnie i w latach 2017-2019 wyniosła odpowiednio 6077, 6213 i 6333 osób. Ponadto w latach 2017-2019 w Polsce z powodu białaczek zmarło średnio 3,4 tys. osób rocznie. Szczegóły przedstawiono poniżej.

Tabela 3. Parametry epidemiologiczne dla białaczek w latach 2017-2019 w Polsce wg danych GBD

Parametr	2017	2018	2019
Zapadalność	6077	6213	6333
Chorobowość	28323	29829	29102

Zgony	3412	3361	3451
-------	------	------	------

Źródło: GBD

Świadczenie będzie finansowane w całości ze środków publicznych w ramach ambulatoryjnej opieki specjalistycznej.

Alternatywne technologie medyczne

W raporcie termin RQ-PCR stosowany jest jako równoznaczny z używanymi w literaturze naukowej określeniami: real time PCR, quantitative PCR, RT-qPCR. Metoda RQ-PCR, w odróżnieniu od podstawowych modyfikacji metody PCR, pozwala na ilościowe oznaczenie produktu. Jest to jej kluczowa cecha w porównaniu do metod jakościowych (RT-PCR, FISH, sekwencjonowane), które dają jedynie informację czy badany gen lub produkt genu jest obecny w badanym materiale.

Na podstawie analizy wytycznych praktyki klinicznej, przekazanej opinii eksperckiej, a także w ramach analizy problemu decyzyjnego stwierdzono, iż obecnie brak jest innej alternatywnej, równoważnej metody diagnostycznej dla ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym.

Zgodnie z opinią Konsultanta Krajowego w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej: „Badania metodą PCR są rekomendowaną standardową metodą, ale muszą być uzupełnione badaniami metodą cytometrii przepływowej.”

W wytycznych wymieniane są inne technologie oznaczania RNA/DNA w tych samych wskazaniach co RQ-PCR. Z Karty Świadczenia Opieki Zdrowotnej wynika, iż obecnie w rutynowej diagnostyce do identyfikacji genów fuzyjnych stosuje się technikę fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH) i/lub RT-PCR. Powyższe metody to analizy jakościowe lub półilościowe, które pozwalają jedynie na potwierdzenie lub wykluczenie obecności genu. Zastosowanie reakcji real time PCR (RQ-PCR) umożliwi w krótkim czasie (3–4 dni) przeprowadzenie czulej analizy ilościowej poziomu transkryptu określonego genu fuzyjnego, co ma ogromne znaczenie kliniczne. Dokładne oznaczenie ilości genu fuzyjnego pozwala nie tylko na prawidłowe rozpoznanie kliniczne, ale także na wdrożenie właściwego algorytmu terapeutycznego oraz jego monitorowanie.

Badanie diagnostyczne za pomocą cytometrii przepływowej nie stanowi komparatora, natomiast jest narzędziem komplementarnym w procesie diagnostyki genetycznej. Inne metody genetyczne, takie jak FISH i RT-PCR, są analizami jakościowymi lub półilościowymi, które pozwalają jedynie na potwierdzenie lub wykluczenie obecności genu. Nowsze modyfikacje metody PCR, służące do oznaczeń ilościowych, są tworzone, jednak znajdują się na wczesnym etapie wdrażania do praktyki klinicznej (np. emulsyjny PCR – ddPCR).

W związku z powyższym, stwierdzono, iż obecnie brak jest innej alternatywnej, równoważnej metody diagnostycznej dla badania za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym.

Analiza skuteczności i bezpieczeństwa

1. Badanie przy użyciu metody Real-time PCR (RQ-PCR) w diagnostyce nowotworów hematologicznych

W ramach wyszukiwania systematycznego odnaleziono łącznie dwa badania pierwotne: jedno badanie jednoramienne Kumar 2018, w którym populacją byli pacjenci z ostrą białaczką szpikową oraz jedno badanie dwuramienne Lyu 2017, z bardziej zróżnicowaną populacją pacjentów obejmującą ostrą białaczkę szpikową, ostrą białaczkę limfoblastyczną, przewlekłą białaczkę limfoblastyczną, przewlekłą białaczkę szpikową, zespołami mielodysplastycznymi lub innymi niebiałaczkowymi chorobami hematologicznymi, w tym chłoniakami, odnoszące się do zastosowania badania RQ-PCR w diagnostyce wstępnej.

Punkt końcowy dotyczący zgodności analiz ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym i cytogenetycznych w wykrywaniu obecności genów fuzyjnych w badaniach odnoszących się do zastosowania metody RQ-PCR w diagnostyce wstępnej białaczek, głównie ostrej białaczki szpikowej, został poddany analizie w jednej publikacji (Lyu 2017). Na postawie wspomnianego wcześniej badania (Lyu 2017) można wywnioskować, iż RQ-PCR pozwala na szybkie i precyzyjne wykrycie fuzji genów powszechnie spotykanych w białaczkach z porównywalną dokładnością do konwencjonalnych metod cytogenetycznych (zgodność: 99,1%).

Czułość – w dwóch analizowanych badaniach (Kumar 2018, Lyu 2017) przedstawiono wyniki dotyczące czułości, które świadczą o tym, iż RQ-PCR może wykazywać wyższą czułość w diagnostyce:

- publikacja Kumar 2018 – qPCR: 95% vs pyroseqwencjonowanie: 90% vs sekwencjonowanie Sangera: 80%;
- publikacja Lyu 2017 – RT-qPCR vs bad. cytogenetyczne: 100%.

Swoistość – w zakresie swoistości porównanie trzech metod takich jak RQ-PCR, sekwencjonowanie Sanger, pyroseqwencjonowanie (Kumar 2018), wskazało iż, wszystkie trzy metody wykazały wysoką i zbliżoną do siebie specyficzną (qPCR: 100% vs pyro: 100% vs Sanger: 95%), a w przypadku RQ-PCR kontra konwencjonalne metody cytogenetyczne (Lyu 2017) uzyskano równie wysoki wynik (RT-qPCR vs bad. cytogenetyczne: 97,1%). W jednej z publikacji (Lyu 2017) przedstawiono również wyniki dotyczące detekcji całkowitej fuzji genów, które wskazują na to, iż odsetek wykrywania był wyższy w sytuacji, w której zastosowano metodę RQ-PCR w porównaniu do badania cytogenetycznego (RT-qPCR: 53,7% vs bad. cytogenetyczne: 52,9%). Dodatkowo, w jednej z publikacji (Kumar 2018) wskazano również, iż minimalny limit detekcji mutacji był najniższy w przypadku metody RQ-PCR (qPCR: 0,1%–1% vs pyro: 1%–5% vs Sanger: 20%–30%).

U pacjentów z ostrą białaczką szpikową badanie za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym pozwala na szybkie i precyzyjne wykrycie fuzji genów powszechnie spotykanych w białaczkę, a także wykazuje się wysoką czułością oraz swoistością.

2. Badanie przy użyciu metody Real-time PCR (RQ-PCR) w monitorowaniu minimalnej choroby resztkowej

Populacja pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną

Odnaleziono łącznie osiem jednoramiennych badań pierwotnych: Modvig 2021, Thorn 2021, Modvig 2019, Theunissen 2017, Della-Starza 2016, Denys 2013, Garand 2013, Gaipa 2012, w których populacją byli pacjenci z ostrą białaczką limfoblastyczną, odnoszące się do zastosowania badania RQ-PCR w wykrywaniu minimalnej choroby resztkowej.

W siedmiu odnalezionych badaniach dotyczących zastosowania metody RQ-PCR w monitorowaniu minimalnej choroby resztkowej w ostrej białaczkę limfoblastycznej (Modvig 2021, Thorn 2021, Theunissen 2017, Della-Starza 2016, Denys 2013, Garand 2013, Gaipa 2012) analizowano punkt końcowy związany ze zgodnością wyników pomiędzy dwiema metodami. W sześciu z nich porównywano wyniki RQ-PCR z FC. Wnioski płynące z tej analizy są następujące:

- obie metody w połączeniu zapewniają dokładne monitorowanie wszystkich pacjentów – $\kappa=0,77$ (95%CI: 0,69–0,84) (Modvig 2021),
- korelacja między poziomami PCR-MRD a FCM-MRD jest wysoka – $r=0,77$; $p<0,0001$; (w dniu 15.) oraz $r=0,83$; $p<0,0001$ (w dniu 29.) (Modvig 2021), $r=0,85$; $p<0,0001$; (w dniu 15.) oraz $r=0,73$; $p<0,0001$ (Modvig 2019); wszystkie wyniki były istotne statystycznie;
- istotne jest wykonywanie FCM-MRD i PCR-MRD w połączeniu, aby stale oceniać wartość obu (Modvig 2021),
- zarówno RQ-PCR jak i FC są cennymi narzędziami klinicznymi w monitorowaniu pacjentów z ALL – zgodność: 84% (Thorn 2021), 74% (próbki FCM+/PCR+; Theunissen 2017), 96% (Garand 2013),
- RQ-PCR i FC są wysoce komplementarnymi strategiami wykrywania MRD w ALL – zgodność 96% (Garand 2013), 80% (Gaipa 2012); korelacja: $r^2=0,87$ (Garand 2013),
- badanie MRD metodą cytometrii przepływową jest co najmniej tak czułe, jak obecne metody MRD oparte na PCR przy zmierzeniu wystarczającej liczby komórek (Theunissen 2017),
- przy niskich poziomach MRD, badanie za pomocą PCR w porównaniu do FC cechuje się niższym progiem detekcji (Denys 2013).

W jednym z badań (Della-Starza 2016) porównywano wyniki RQ-PCR z nowszą metodą ddPCR i udokumentowano, iż ddPCR ma czułość i dokładność co najmniej porównywalną z RQ-PCR (88% ($p=0,94$)).

Badanie za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym stanowi cenne narzędzie kliniczne w monitorowaniu minimalnej choroby resztkowej u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną. RQ-PCR, jak również FC, niezależnie dostarczają ważnych informacji w procesie monitorowania pacjentów. W połączeniu, obie metody (RQ-PCR i FC) zapewniają dokładne monitorowanie wszystkich pacjentów. Jednakże, przy niskich poziomach MRD badanie za pomocą PCR w porównaniu do FC cechuje się niższym progiem detekcji.

Populacja pacjentów z ostrą białaczką szpikową

Odnaleziono trzy badania jednoramienne: Ouyang 2016, Willekens 2016 i Zhang 2014, w których badaną populację stanowili pacjenci z ostrą białaczką szpikową.

Punkt końcowy związany ze zgodnością wyników pomiędzy dwiema metodami był analizowany w dwóch odnalezionych badaniach dotyczących zastosowania metody RQ-PCR w monitorowaniu minimalnej choroby resztkowej w ostrej białaczce szpikowej (Ouyang 2016, Zhang 2014). W jednym z nich (Ouyang 2016), w którym porównywano wyniki uzyskane za pomocą FC i RQ-PCR, nie zaobserwowano zgodności między metodami, o czym świadczy niska wartość współczynnika Kappa ($\kappa=0,152$). Całkowita zgodność między badaniami jest niska, natomiast dostarczają one komplementarnych informacji na temat MRD wśród pacjentów z AML. Z kolei w innym badaniu (Zhang 2014) porównano RQ-PCR i RT-PCR, a wyniki między próbkami były zgodne (89,1%). Na tej podstawie można stwierdzić, iż zarówno RT-PCR, jak i RQ-PCR mogą być stosowane do wykrywania MRD w AML.

W jednej z publikacji (Willekens 2016), w którym pacjenci byli leczeni cytarabiną oraz w którym raportowano wyniki dotyczące odpowiedzi molekularnej, wykazano iż przy analizie za pomocą RQ-PCR większy odsetek pacjentów uzyskało całkowitą odpowiedź molekularną we krwi obwodowej niż w szpiku kostnym.

Dodatkowo, w jednym z analizowanych badań (Ouyang 2016), wystąpienie nawrotu ostrej białaczki szpikowej na podstawie stanu minimalnej choroby resztkowej wykryte za pomocą RQ-PCR ($p=0,035$), osiągnęło istotność statystyczną, co oznacza, że istnieje związek między wykryciem przedmiotową metodą MRD a nawrotem choroby.

U pacjentów z ostrą białaczką szpikową badanie za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym może być stosowane do wykrywania minimalnej choroby resztkowej w AML. Obie metody RQ-PCR i cytometria przepływowa, dostarczają komplementarnych informacji na temat MRD.

Populacja pacjentów z przewlekłą białaczką limfoblastyczną

Odnaleziono jedno jednoramienne badanie pierwotne: Raponi 2014, w którym populację badaną stanowili pacjenci z przewlekłą białaczką limfoblastyczną.

W jednym odnalezionym badaniu (Raponi 2014) odnoszącym się do zastosowania metody RQ-PCR w monitorowaniu minimalnej choroby resztkowej w przewlekłej białaczce limfoblastycznej analizowano punkt końcowy dotyczący zgodności między FC a allelo-specyficznej dla łańcuchów ciężkich immunoglobulin reakcją łańcuchową polimerazy ASO IgH RQ-PCR. Wynik dla tego punktu końcowego okazał się być dość wysoki (81,9%), co świadczy o dobrej zgodności tych dwóch metod. We wcześniej wspomnianej publikacji oceniano również wykrycie minimalnej choroby resztkowej i wskazano, iż ASO IgH RQ-PCR jest badaniem bardziej czułym niż FC dla poziomów MRD poniżej 10^{-4} . Badanie za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym, jak również za pomocą cytometrii przepływowej są odpowiednimi metodami do detekcji MRD i przewidywania progresji choroby u pacjentów z przewlekłą białaczką limfoblastyczną.

Populacja pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową

Odnaleziono łącznie cztery badania pierwotne w tym trzy badania jednoramienne: Arpinati 2013, Wang 2018, Franke 2020 oraz jedno dwuramienne: Cortés 2020, w których populacje stanowili pacjenci z przewlekłą białaczką szpikową.

Punkt końcowy związany ze zgodnością wyników pomiędzy RQ-PCR a ddPCR był analizowany w trzech z odnalezionych badań (Wang 2018, Cortés 2020, Franke 2020) dotyczących zastosowania metody RQ-PCR w monitorowaniu minimalnej choroby resztkowej u pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową. Wskazano, iż zgodność pomiędzy tymi dwiema metodami jest bardzo wysoka:

- publikacja Cortés 2020 – 98,7% zgodności; $\kappa=0,94$ (95%CI: 0,90–0,98); $p<0,001$; wynik istotny statystycznie;
- publikacja Wang 2018 – poziom korelacji $R^2\geq 0,99$;
- publikacja Franke 2020 – korelacja RQ-PCR z ddPCR w skali IS: 0,85 dla transkryptu BCR-ABL1, 0,81 dla ABL1, 0,61 dla %BCR-ABL1/ABL1 i 0,83 dla %BCR-ABL1/ABL1;

przy czym metoda ddPCR pozwala na wykrycie choroby resztkowej średnio 3 miesiące wcześniej niż przez RQ-PCR. Na tej podstawie można stwierdzić, iż zarówno RQ-PCR, jak i ddPCR mogą być stosowane do wykrywania MRD w CML.

Zastosowanie RQ-PCR w ocenie ryzyka nawrotu choroby badano w pracy Arpinati 2013. Wykazano, iż występowanie nawrotu choroby było powiązane z poziomem odpowiedzi molekularnej.

3. Badanie przy użyciu metody Real-time PCR (RQ-PCR) w monitorowaniu terapii celowanej TKI

Populacja pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną

Odnaleziono jedno pierwotne badanie jednoramienne: Cazzaniga 2018, w którym populację stanowili pacjenci pediatryczni z ostrą białaczką limfoblastyczną i chromosomem Filadelfia (Ph+).

W jednym odnalezionym badaniu (Cazzaniga 2018) odnoszącym się do monitorowania MRD w oparciu o transkrypt IG/TR i/lub BCR/ABL1, analizowano punkty końcowe dotyczące głównie zgodności i braku MRD. Wyniki obrazujące zgodność między dwoma oznaczeniami RQ-PCR IG/TR i RQ-PCR BCR/ABL1 dowodzą, iż obie metody stosowane w monitorowaniu choroby resztkowej są dobrze skorelowane ze sobą, na ogólnym poziomie 69%, jednak zauważalna jest lekka tendencja na korzyść monitorowania z oznaczeniem IG/TR. Rozważając w analizie populacyjnej obecność minimalnej choroby resztkowej, wyniki uzyskane obiema metodami wskazują, iż zarówno niski, jak i wysoki poziom MRD dają duże ryzyko nawrotu choroby.

Populacja pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową

Odnaleziono cztery badania jednoramienne: Mori 2015, Bernardi 2018, Berdeja 2019, Pan 2021, dotyczące monitorowania terapii celowanej TKI, w których populacje stanowili pacjenci z przewlekłą białaczką szpikową.

W populacji pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową, u których stosowano leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej, punkty końcowe powiązane z oznaczeniami metodą RQ-PCR dotyczyły porównania oznaczeń metodą RQ-PCR i ddPCR, monitorowania efektów leczenia i głębokiej odpowiedzi molekularnej w czasie i detekcji nawrotu choroby poprzez oznaczenie molekularne.

W badaniu Pan 2021 wykazano, iż istnieje korelacja między poziomem ekspresji genu fuzyjnego BCR-ABL a postępem choroby ($r=0,617$; $p=0,009$). Poziom ekspresji genu fuzyjnego kształtował się w zależności od natężenia choroby nowotworowej. Średni czas przeżycia wolnego od choroby po leczeniu imatynibem był najwyższy u osób w grupie niskiego ryzyka ($5,15 \pm 2,32$ mies. w grupie z wysokim poziomem transkryptu, $14,28 \pm 5,96$ mies. w grupie pośredniej i $21,64 \pm 6,98$ mies. w grupie niskiego ryzyka; $p < 0,001$). Oznaczenie transkryptu genu fuzyjnego za pomocą RQ-PCR jest przydatne w ocenie przebiegu choroby i pozwala oceniać efektywność leczenia imatynibem.

W badaniach nad głęboką i bardzo głęboką odpowiedzią molekularną MR⁴ i MR^{4.5-5.0} po leczeniu TKI, metoda RQ-PCR jest traktowana jako standard (Berdeja 2019). Używana jest jako metoda referencyjna w zestawieniu z innymi oznaczeniami. Porównanie RQ-PCR z nowszą metodą ddPCR (Bernardi 2018) wykazało, że ddPCR pozwala na dokładniejsze rozróżnienie głębokiej odpowiedzi molekularnej MR⁴ i bardzo głębokiej odpowiedzi molekularnej MR^{4.5-5.0} niż RQ-PCR ($p=0,8100$ vs $p=0,0003$).

W przypadku monitorowania nawrotu molekularnego choroby za pomocą RQ-PCR, po 36 miesiącach trwania badania Mori 2015, nawrót taki nastąpił u prawie połowy pacjentów (48,1%). Najczęściej nawrót obserwowano w pierwszych dziewięciu miesiącach po zakończeniu leczenia imatynibem.

Analiza bezpieczeństwa

W ramach analizy klinicznej nie odnaleziono punktów końcowych odnoszących się do bezpieczeństwa ocenianego badania genetycznego RQ-PCR. W dodatkowym wyszukiwaniu skupionym na analizie bezpieczeństwa odnaleziono jedną notatkę w Komunikatach Bezpieczeństwa Prezesa URPL, jedną na stronie Ministerstwa Zdrowia Włoch oraz jedną w brytyjskiej bazie alertów dotyczących wyrobów medycznych i produktów leczniczych. Przeszukano również bazę MAUDE prowadzoną przez FDA, w której gromadzone są zdarzenia niepożądane związane z użytkowaniem wyrobów medycznych, znaleziono 369 wpisów dotyczących metody RQ-PCR. Przeprowadzona analiza bezpieczeństwa wykazała, że istnieje ryzyko uzyskiwania nieprawidłowych wyników w badaniu RQ-PCR. Odnaleziono notatki bezpieczeństwa pokazują, że sytuacja taka może się zdarzyć w wyniku stosowania wadliwych odczynników.

Stosunek kosztów do uzyskiwanych efektów zdrowotnych

W niniejszym opracowaniu odstępiono od przeprowadzenia formalnej analizy ekonomicznej z uwagi na:

- brak jednego ustalonego protokołu wykonywania tego typu badań;
- różnorodność sprzętu używanego przez laboratoria przeprowadzające badanie za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym tzn. laboratoria różnią się możliwościami w zakresie szybkości, ilości i kosztów przeprowadzanych badań;
- różnorodność odczynników używanych przez laboratoria przeprowadzające badanie za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym;
- różne wskazania do stosowania RQ-PCR w procesie diagnostyczno-lecznym białaczek zidentyfikowanych podczas Analizy Klinicznej, tj. diagnostyka wstępna, monitorowanie minimalnej choroby resztkowej, monitorowanie terapii celowanej TKI.
- szeroką populację kwalifikującą się do wnioskowanego świadczenia.

W ramach przeprowadzonego wyszukiwania systematycznego odnaleziono trzy publikacje dotyczące kosztów związanych z badaniem RQ-PCR, które włączono do analizy ekonomicznej: Jabbour 2018, Kumar 2018 oraz Lyu 2017.

W publikacji Jabbour 2018 szacowano potencjalny wpływ monitorowania pacjentów z CML i braku monitorowania na koszty opieki zdrowotnej. W analizie stwierdzono, że całkowite koszty opieki zdrowotnej, w tym koszty związane z progresją CML i testami monitorującymi RT-qPCR (trzy testy rocznie), wynoszą 1 142 USD (4693,62 PLN) w przypadku pacjentów z monitorowaniem i 6 982 USD (28 696,02 PLN) w przypadku pacjentów bez monitorowania (różnica 5 840 USD; 24 002,4 PLN). W badaniu Kumar 2018 porównywano skuteczność trzech technik molekularnych (RQ-PCR, sekwencjonowanie Sangera oraz pyroseqwencjonowanie) w wykrywaniu mutacji NPM1 w próbkach krwi obwodowej i szpiku kostnego u pacjentów z ostrą białaczką szpikową (AML). Koszt jednej reakcji RQ-PCR oceniono na 4000 rupii indyjskich (61 USD; 250,71 PLN). W publikacji Lyu 2017 dokonano opisu metody przesiewowej opartej na ilościowej reakcji PCR (qRT-PCR) w czasie rzeczywistym, umożliwiającą wykrycie 22 genów fuzyjnych powszechnie występujących w białaczkach. W badaniu koszt qRT-PCR dla pojedynczego genu fuzyjnego oszacowano na 55,38 USD (227,61 PLN) a panelu 22 genów fuzyjnych – 253,85 USD (1043,32 PLN).

Ze względu na identyfikowane przez analityków Agencji ograniczenia dotyczące analizowanych publikacji tj. zróżnicowana waluta w poszczególnych badaniach; różne kraje, w których przeprowadzono badania; zróżnicowane populacje w badaniach; oraz fakt, że żadna z publikacji nie odnosi się do kraju o zbliżonym PKB do Polski [AOTMiT PKB], wyciągnięcie wniosków o polskim systemie nie jest zasadne.

Aktualny stan finansowania wnioskowanego badania ze środków publicznych w Polsce

Obecny stan finansowania badań genetycznych metodą PCR ze środków publicznych przedstawiono w tabeli poniżej.

Tabela 4. Zestawienie danych dotyczących finansowania wnioskowanych technologii ze środków publicznych w Polsce

Rodzaj świadczeń	Finansowana technologia
Ambulatoryjna Opieka Specjalistyczna (AOS)	Badanie diagnostyczne metodą PCR wraz z jej modyfikacjami może być finansowane w ramach AOS na podstawie przepisów rozporządzenia MZ: W części M załącznika nr 2 do rozporządzenia MZ z dnia 6 listopada 2013 r. wykaz świadczeń gwarantowanych obejmuje lp. 915 „Badania metodami biologii molekularnej (PCR i jej modyfikacje , RFLP, SSCP, HD, sekwencjonowanie i inne) dobranymi w zależności od wielkości i rodzaju mutacji” w oparciu o produkty rozliczeniowe w ramach umowy na: – świadczenia zdrowotne kontraktowane odrębnie: kod produktu rozliczeniowego: 5.10.00.0000041 Kompleksowa diagnostyka genetyczna chorób nowotworowych – badania genetyczne w AOS: kod produktu rozliczeniowego: 5.03.00.0000021 Wykrywanie RNA/DNA za pomocą badań molekularnych (PCR/PFGE)

<p>Leczenie szpitalne (LSZ)</p>	<p>Diagnostyka genetyczna w chorobach nowotworowych objęta finansowaniem w ramach LSZ została podzielona na trzy kategorie i 3 produkty rozliczeniowe w zależności od złożoności użytych technik biologii molekularnej (proste, złożone, zaawansowane).</p> <p>Metoda RQ-PCR została wyszczególniona w ramach produktu rozliczeniowego o kodzie:</p> <ul style="list-style-type: none"> – 5.53.01.0005001 Proste badania genetyczne - jako metoda do analizy ekspresji / obecności genu lub kilku genów (w tym genów fuzyjnych) oraz została uwzględniona jako jedna z metod PCR służących do analizy jednej lub kilku mutacji wykrywanych w od jednego do 6 amplikonów; – 5.53.01.0005002 Złożone badania genetyczne – jako jedna z metod PCR służących do analiza kilkudziesięciu mutacji z wykorzystaniem 2–3 prostych zestawów diagnostycznych lub jednego złożonego zestawu diagnostycznego do oceny statusu co najmniej 2-3 genów. <p>Należy również zwrócić uwagę, że refundacja w ramach umowy leczenie szpitalne diagnostycznych badań genetycznych w przypadku białaczek jest ograniczona do kodów ICD-10: C91.0 Ostra białaczka limfoblastyczna, C91.1 Przewlekła białaczka limfocytowa, C92.0 Ostra białaczka szpikowa, C92.1 Przewlekła białaczka szpikowa, C93.1 Przewlekła białaczka monocytowa.</p>
<p>Programy lekowe</p>	<p>W przypadku programów lekowych dotyczących leczenia chorób hematologicznych badania genetyczne wykonywane w trakcie kwalifikacji do programu lekowego finansowane są w ramach odpowiedniego ryczału diagnostycznego.</p> <p>Konieczność wykonania badania PCR wyszczególniona jest w treści dwóch aktualnie obowiązujących programów lekowych dedykowanych leczeniu białaczek: B.14 „Leczenie chorych na przewlekłą białaczkę szpikową (ICD-10 C 92.1)” i B.65 „Leczenie chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ICD-10 C91.0)”. Jednakże nie ma możliwości weryfikacji czy badanie PCR, w tym RQ-PCR, jest stosowane również w ramach innych programów lekowych w diagnostyce i monitorowaniu pacjentów chorych na białaczki.</p>

Z uwagi na organizację systemu sprawozdawczo-rozliczeniowego prowadzonego przez Narodowy Fundusz Zdrowia nie jest możliwe wydzielenie i określenie kosztów wykonania danej metody diagnostycznej w ramach leczenia szpitalnego. Badania wyszczególnione w poszczególnych kategoriach objęte są finansowaniem ryczałtowym.

Zestawienie produktów rozliczeniowych służących do finansowania badań genetycznych chorób nowotworowych ze środków NFZ

W poniższej tabeli zestawiono produkty rozliczeniowe służące do diagnostyki genetycznej chorób nowotworowych, w ramach których jest możliwość rozliczenia badania PCR, wraz z kwotą refundacji. Przyjęto, że wartość punktu wynosi 1 zł. Badanie RQ-PCR zostało wyszczególnione wyłącznie w ramach świadczeń szpitalnych, jednakże zapisy świadczeń w AOS nie wskazują na brak możliwości rozliczenia również RQ-PCR.

Tabela 5. Zestawienie produktów rozliczeniowych w diagnostyce genetycznej chorób nowotworowych.

Kod produktu	Nazwa produktu	Wartość
5.10.00.0000041	Kompleksowa diagnostyka genetyczna chorób nowotworowych (AOS)	532,51 zł
5.03.00.0000021	Wykrywanie RNA/DNA za pomocą badań molekularnych (PCR/PFGE) – materiał pobrany podczas porady (AOS)	309 zł
5.53.01.0005001	Podstawowe badanie genetyczne w chorobach nowotworowych (Leczenie Szpitalne)	649 zł
5.53.01.0005002	Złożone badanie genetyczne w chorobach nowotworowych (Leczenie Szpitalne)	1 298 zł

Narodowa Strategia Onkologiczna

Osobnym trybem finansowania są środki z budżetu NSO. W ramach zadania przedstawionego w Narodowej Strategii Onkologicznej „Wprowadzenie finansowania ze środków publicznych (NFZ) działań na rzecz poprawy wyników leczenia dzieci i młodzieży z wykrytymi nowotworami, kontroli jakości opieki onkologicznej”, Agencja przygotowała raport analityczny pn. „Działania na rzecz poprawy wyników leczenia dzieci i młodzieży z wykrytymi nowotworami, kontroli jakości opieki onkologicznej”, na podstawie którego został przygotowany projekt rozporządzenia Ministra Zdrowia. Projekt ten, zmieniający rozporządzenie w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu leczenia szpitalnego, jest w momencie zakończenia prac nad raportem trakcie konsultacji publicznych.

Wpływ na budżet płatnika publicznego

Scenariusz według oszacowań przedstawionych w KŚOZ

- Szacunkowy koszt realizacji świadczenia na jednego pacjenta – wynosić będzie łącznie **741 zł**.
- Populacja, która ma zostać objęta świadczeniem - pacjenci z rozpoznaniem białaczki (wg ICD-10: C91-C96) – **3582 pacjentów**
- Minimalna populacja – pacjenci z białaczką szpikową, którzy głównie będą korzystali ze świadczenia (populacja wg ICD-10:C92) – **1 176** pacjentów
- Krotność badań w roku – 3 (łącznie zostanie przeprowadzonych 3 528 badań w roku; 3 x 1 176 osób)

W ramach szacowania powyżej populacji uwzględniono:

- przypadki białaczki szpikowej zdiagnozowane w 2018 r. wg Krajowego Rejestru Nowotworów (KRN) w 2018 roku w Polsce.
 - założenie dot. zapotrzebowania na badania metodą real time PCR, w szczególności do prawidłowego rozpoznania poziomu transkryptu określonego genu fuzyjnego i odpowiedniego leczenia pacjentów chorych na CML (przewlekłą białaczkę szpikową); ALL (ostrą białaczkę limfoblastyczną) oraz konieczności monitorowania odpowiedzi na leczenie poprzez badanie chimeryzmu hematopoetycznego i minimalnej choroby resztkowej
- Szacowany roczny skutek finansowy – **2 614 248 zł** (3 528 x 741 zł).

Komentarz AOTMiT:

W scenariuszu **przedstawionych w KŚOZ nie uwzględniono** prognozy wzrostu zapadalności na białaczki. Wielkość populacji oparto na zachorowaniach wg Krajowego Rejestru Nowotworów (KRN) w 2018 roku w Polsce.

Scenariusz według oszacowania własnego AOTMiT

Założenia niniejszej analizy wpływu na budżet obejmują próbę zidentyfikowania potencjalnej populacji pacjentów chorych na białaczki wg ICD-10: C91-C96, która będzie objęta wnioskowanym świadczeniem ponad obecnie realizowane świadczenia z zakresu diagnostyki genetycznej oraz oszacowanie przewidywanych wydatków dla płatnika publicznego w okresie 5 kolejnych lat (2022-2026).

Uwzględniając dane obejmujące zachorowania na białaczki według badania GBD oraz dane sprawozdawcze NFZ w zakresie liczby osób chorych na białaczki, u których wykonano świadczenia obejmujące badania genetyczne.

W scenariuszu AOTMiT uwzględniono dwa warianty.

Wariant 1. (podstawowy) – obejmujący założenia zbliżone do założeń KŚOZ:

- Szacunkowy koszt realizacji świadczenia na jednego pacjenta – łącznie **741 zł**.
 - Koszt przyjęty na podstawie KŚOZ.
- Minimalna populacja do objęcia wnioskowanym świadczeniem (populacja wg ICD-10:C92) – **2 615 pacjentów**

W ramach szacowania uwzględniono:

- populację z rozpoznaniem wg ICD-10: C92 Białaczka szpikowa z rozszerzeniami - unikatowe PESELE pacjentów w 2020 r. (na podstawie danych NFZ)
 - założenia z KŚOZ odnoszące się do koniecznej diagnostyki translokacji oraz cyklicznego monitorowania skuteczności leczenia i monitorowania choroby resztkowej (MRD) głównie w białaczkę szpikowej
- Roczna liczba badań na pacjenta z rozpoznaniem wg ICD-10: C92 - 5 badań (1 badanie w ramach diagnostyki nowotworu hematologicznego oraz 4 badania w ramach monitorowania efektów leczenia i choroby resztkowej (MRD). Założono, że wszystkie badania wykonywane są w ramach jednego roku.
 - uśredniona liczba badań na pacjenta przyjęta na podstawie wytycznych klinicznych (ESMO 2017, PTOK 2020A, PTOK 2020B, ESMO 2019) i KŚOZ
 - Szacowany roczny skutek finansowy – **9 688 575,00 zł** (2 615 x 5 x 741 zł).

Wariant 2. (maksymalny)

- Szacunkowy koszt realizacji świadczenia na jednego pacjenta – łącznie **741 zł**.
 - Koszt przyjęty na podstawie KŚOZ.
- Minimalna populacja do objęcia wnioskowanym świadczeniem (populacja wg ICD-10:C.91-C.96) – **3 582 pacjentów** z przewidywane wzrostem na poziomie 2,2 % rocznie
W ramach szacowania uwzględniono:
 - populację z rozpoznaniem wg ICD-10: C.91-C.96 na podstawie danych KRN za rok 2018 – ostatnie dostępne dane
 - zgodnie z danymi KRN za lata 2009-2018 szacunkowy trend wzrostu zachorowalności kształtuje się na poziomie 2,2 % rocznie
 - populacja uwzględniona na podstawie wniosków wynikających z analizy klinicznej oraz wytycznych klinicznych wskazujących na zasadność stosowania RQ-PCR w szerokim spektrum białaczek
- Roczna liczba badań na pacjenta z rozpoznaniem wg ICD-10: C.91-C.96 - 5 badań (1 badanie w ramach diagnostyki nowotworu hematologicznego oraz 4 badania w ramach monitorowania efektów leczenia i choroby resztkowej (MRD). Założono, że wszystkie badania wykonywane są w ramach jednego roku.
 - uśredniona liczba badań na pacjenta przyjęta na podstawie wytycznych klinicznych (ESMO 2017, PTOK 2020A, PTOK 2020B, ESMO 2019) i KŚOZ
- Szacowany roczny skutek finansowy – **13 271 310,00 zł** (3582 x 5 x 741 zł).

Wariant 3. (alternatywny) – obejmujący w założeniach zastosowanie diagnostyki oraz monitorowaniu skuteczności leczenia ukierunkowanego molekularnie we wszystkich rodzajach białaczek na podstawie danych epidemiologicznych GBD (*Global Burden of Diseases*)

- Szacunkowy koszt realizacji świadczenia na jednego pacjenta – łącznie **741 zł**.
 - Koszt przyjęty na podstawie KŚOZ.
- Szacowana populacja z rozpoznaniem białaczki, możliwa do objęcia analizowanym świadczeniem – na poziomie **6 333** pacjentów z tendencją rosnącą o 2,18% w kolejnych latach.
W ramach szacowania powyżej populacji uwzględniono:
 - dane epidemiologiczne GBD z 2019 roku, wg których rozpoznanych zostało **6 333** nowych przypadków pacjentów chorych na białaczki,
 - prognozę wzrostu zapadalności na białaczki na podstawie danych GBD, wynoszącą rocznie średnio 2,18% (prognoza za lata 2010 – 2019),
- Roczna liczba badań na pacjenta - 5 badań (1 badanie w ramach diagnostyki nowotworu hematologicznego oraz 4 badania w ramach monitorowania efektów leczenia i choroby resztkowej (MRD). Założono, że wszystkie badania wykonywane są w ramach jednego roku.
 - uśredniona liczby badań na pacjenta przyjęte na podstawie wytycznych klinicznych (ESMO 2017, PTOK 2020A, PTOK 2020B, ESMO 2019) i KŚOZ
- Szacowany roczny skutek finansowy – **23 463 765 zł** (6 333 x 5 x 741 zł).

Finansowanie ocenianej technologii ze środków publicznych w innych krajach

W odniesieniu do możliwości wykonywania badań genetycznych z zastosowaniem RQ-PCR odnaleziono informacje pochodzące z 5 krajów, tj. Brazylii, Estonii, Portugalii, Szwajcarii oraz Wielkiej Brytanii.

W ramach przeglądu rozwiązań międzynarodowych odnaleziono informacje, z których wynika, że badania genetyczne z zastosowaniem RQ-PCR finansowane są w 4 państwach (Estonia, Portugalia, Szwajcaria, Wielka Brytania). W Brazylii badanie metodą PCR i pokrewnymi nie jest finansowane w diagnostyce chronicznych białaczek. Nie odnaleziono informacji na temat finansowania ocenianej technologii ze środków publicznych

w krajach o zbliżonym PKB do Polski [AOTMiT PKB]. Najważniejsze informacje, wynikające z analizy rozwiązań w ww. krajach przedstawiono poniżej, w podziale na poszczególne państwa:

- W Brazylii metoda PCR nie została ujęta w wykazie SIGTAP (Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos) w odniesieniu do chronicznych białaczek ani w postaci kodu rozliczeniowego, ani w opisie finansowanych metod co uniemożliwia jej refundację w ramach publicznego systemu opieki zdrowotnej (SUS, The Sistema Único de Saúde).
- W Estonii maksymalna cena badania pod nazwą „Ilościowe oznaczenie biomarkera (patogenu, mutacji genetycznej lub somatycznej) metodą PCR w czasie rzeczywistym” (est. Biomarkeri (patogeneeni, geneetilise või somaatilise mutatsiooni) kvantitatiivne määramine real-time-PCR-meetodil) o kodzie 66611 wynosi 116,42 EUR (około 541,35 PLN).
- W Portugalii wysokość zwrotu kosztów diagnostyki, z wykorzystaniem badania „Amplifikacja PCR z detekcją w czasie rzeczywistym, ilościowa PCR (każda seria w trzech powtórzeniach)” (port. Amplificação por PCR com deteção em tempo real, quantitativo (cada ensaio em triplicado) znajdującego się w kategorii badań biologii molekularnej, wyceniono na 55,90 EUR (około 259,94 PLN).
- W Szwajcarii na liście analiz z dnia 1.07.2021 roku znajdują się dwie pozycje o numerach 6400.50 – „Nowotwory szpiku” oraz 6401.50 – „Nowotwory limfatyczne”, w których techniką analizy jest „Amplifikacja kwasów nukleinowych w czasie rzeczywistym, jakościowa lub ilościowa, w tym analiza krzywej topnienia (niem. Schmelzkurvenanalytik)”. Punkty podatkowe w obu pozycjach wynoszą 93,00. Wartość punktu taryfowego wynosi 1,00 CHF (około 4,57 PLN).
- W Wielkiej Brytanii w ALL, CML, układowej mastocytozie oraz w wybranych guzach hematologicznych zalecane wskazania obejmują badanie wybranych genów z zastosowaniem technologii: RT-qPCR i/lub QF-PCR.

Ograniczenia

Ograniczenia wynikające z analizy skuteczności oraz bezpieczeństwa

- Ograniczenia dotyczące populacji:
 - Wyszukiwanie ograniczono do publikacji, w których badana była populacja co najmniej 50 pacjentów.
 - Niejasne zasady wybierania pacjentów do badania i często szczątkowe informacje odnośnie kryteriów włączenia i wyłączenia.
- Ograniczenia dotyczące interwencji:
 - Na wynik badania RQ-PCR wpływ ma jakość użytych odczynników, kalibracja sprzętu i warunki przechowywania próbek.
 - Badanie RQ-PCR jest długą i złożoną procedurą laboratoryjną obejmującą pobieranie próbek od pacjentów, izolację materiału genetycznego, syntezę cDNA z obecnego w próbkach RNA (odwrotna transkrypcja), analizę kinetyki reakcji łańcuchowej polimerazy w celu oszacowania ilości badanego transkryptu w próbce. Każde laboratorium posiada własne protokoły laboratoryjne co do wykonywania powyższych czynności i metodykę wyliczania końcowego wyniku ilościowego PCR na bazie zaprojektowanego schematu pomiarów i uzyskanych odczytów w wyniku monitorowania przyrastania produktu reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (real time PCR). Pomimo podejmowania szeregu działań w tym zakresie standaryzacja pomiarów i porównywanie wyników uzyskanych w różnych laboratoriach jest wciąż dużym wyzwaniem.
- Ograniczenia dotyczące punktów końcowych:
 - Ze względu na różne zastosowanie badania RQ-PCR, tj. diagnostyka wstępna, MRD, TKI, analizowane w badaniach punkty końcowe są bardzo zróżnicowane.
 - Brak analizy statystycznej w większości badań i oceny istotności statystycznej różnic w analizowanych punktach końcowych.
 - Większość badań nie przedstawia parametrów trafności diagnostycznej analizowanej interwencji, ani też nie przedstawia wystarczających danych do oszacowanie czułości, specyficzności

- o i wartości predykcyjnych testu lub badania te nie były zaplanowane pod kątem oceny tych punktów końcowych.
- o Słabym punktem wielu publikacji jest brak definicji punktów końcowych/różne definicje punktów końcowych, np. zgodność.
- Ograniczenia dotyczące typu badania:
 - o Zdecydowana większość odnalezionych badań w ramach analizy klinicznej są to badania bez grupy kontrolnej (21/23 badań), co ogranicza możliwości wnioskowania.
 - o Przeprowadzanie oznaczeń w jednym ośrodku przy badaniach jednoramienny powoduje ryzyko selektywnej publikacji wyników przez autorów w celu udowodnienia stawianej hipotezy.
 - o Podmioty publikujące badania to ośrodki kliniczne o różnym profilu i charakterystycznej dla danego ośrodka populacji pacjentów. Uzyskiwane wyniki mogą nie być porównywalne pomiędzy ośrodkami.

Ograniczenia wynikające z analizy wpływu na budżet

- W Karcie Świadczenia Opieki Zdrowotnej wskazano, iż populacją kwalifikującą się do świadczenia są pacjenci z rozpoznaniem z zakresu białaczek (ICD10: C91-C96), natomiast przedstawiona analiza wpływu na budżet płatnika została oparta jedynie o populację pacjentów z białaczką szpikową (C92). Tworzy to nieprecyzyjny obraz założonej populacji objętej świadczeniem, nie wskazując jaka będzie przewidywana liczba pacjentów.
- Brak możliwości pozyskania z danych NFZ rzeczywistej liczby wykonanych badań obejmujących wnioskowaną metodę z uwagi na brak swoistego kodu produktu rozliczeniowego dla RQ-PCR. Metoda ta jest ujęta w produktach rozliczeniowym jako jedno z kilku dostępnych badań. Należy jednak zaznaczyć, iż zgodnie z opinią Prezesa NFZ, z analiz z I półroczna 2021 wynika jednak, że ww. świadczenie w AOS jest wykonywane incydentalnie – 4 badania dla rozpoznań określonych w „Karcie świadczeń opieki zdrowotnej”. (świadczenie 5.53.01.0005001 + 5.52.01.0001511 wykonywane ambulatoryjnie)
- Przedstawiony w analizie wpływu na budżet zawartej w KŚOZ schemat monitorowania odnosi się wyłącznie diagnostyki i monitorowania leczenia białaczki szpikowej (raz na 3 miesiące). W przedstawionej analizie uwzględniono trzykrotne wykonanie testu w ciągu roku. Brak informacji o częstotliwości monitorowania w innych białaczkach.
- Po analizie odnalezionych wytycznych (PTOK 2020) można stwierdzić, że schemat monitorowania zależy od rodzaju białaczki oraz etapu choroby. W niniejszej analizie wpływu na budżet przyjęto uogólniony schemat monitorowania 4 razy w roku dla wszystkich rozpoznań z zakresu białaczek, w nawiązaniu do informacji zawartych w KŚOZ oraz wytycznych PTOK 2020b. Należy mieć na uwadze, że rzeczywista liczba wykonywanych badań może się różnić w zależności od protokołów leczenia poszczególnych białaczek. Jednocześnie, zgodnie z przedstawioną opinią Prof. dr hab. Jan Styczyńskiego, liczba badań w populacji pediatrycznej wynosi od 4 do 10 w grupie wysokiego ryzyka. Jednocześnie świadczenie opisane w KŚOZ nie precyzuje wieku populacji docelowej.
- Brak możliwości oszacowania rzeczywistej populacji – ze względu na to, że byłoby to nowe świadczenie dopiero w najbliższych latach można by było ocenić u ilu pacjentów oceniane świadczenie byłoby stosowane. Analizę oparto na nowych rozpoznaniach, oraz pacjentach obecnie chorujących. Należy mieć także na uwadze fakt, że nie każdy pacjent w dalszej perspektywie będzie monitorowany (wcześniejszy zgon, zakwalifikowanie do programów lekowych).

3. Przedmiot i historia zlecenia

Tryb zlecenia

Zlecenie Ministra Zdrowia z art. 31c ust. 1 ustawy z dnia 27 sierpnia 2004 r. o świadczeniach opieki zdrowotnej finansowanych ze środków publicznych (Dz. U. z 2021 r., poz. 1285, z późn. zm.).

Źródło:

Pismo Ministra Zdrowia z dn. 30.01.2018 r., znak: IK.1089073.2017/DS oraz z dn. 27.07.2021 r., znak: ASG.741.4.2020.WN

Historia zlecenia

Na podstawie art. 31c ust. 1 ustawy o świadczeniach opieki zdrowotnej finansowanych ze środków publicznych, dnia 30.01.2018 r. pismem znak: IK.1089073.2017/DS Minister Zdrowia przekazał AOTMiT zlecenie przygotowania rekomendacji Prezesa Agencji odnośnie zakwalifikowania dwunastu metod badań genetycznych jako świadczeń gwarantowanych z zakresu ambulatoryjnej opieki specjalistycznej (AOS), w tym dla analizy ekspresji genu lub kilku genów (w tym genów fuzyjnych) przy użyciu metody – ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym.

Pismem z dnia 27.07.2021 r. znak: ASG.741.4.2020.WN Minister Zdrowia, w kontekście zlecenia z dnia 30 stycznia 2018 r., znak IK: 1089073.2017/DS oraz z dnia 12 października 2018 r., znak IK: 1469861.DS, przekazał zmodyfikowane Karty Świadczenia Opieki Zdrowotnej do trzech badań genetycznych, w tym do badania:

- Analiza ekspresji genu lub kilku genów (w tym genów fuzyjnych) przy użyciu metody Real-Time PCR – ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym,

opracowane ponownie przez Konsultanta Krajowego w dziedzinie genetyki klinicznej prof. A. Kochańskiego.

Przedmiot raportu

Przedmiotem niniejszego raportu jest przegląd wytycznych klinicznych i dowodów naukowych uzasadniających zakwalifikowanie badania genetycznego pn: „Analiza ekspresji genu lub kilku genów (w tym genów fuzyjnych) przy użyciu metody Real-Time PCR – ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym” jako świadczenia gwarantowanego z zakresu ambulatoryjnej opieki specjalistycznej”, w diagnostyce oraz monitorowaniu chorób hematologicznych.

Ocena pozostałych świadczeń z zakresu genetyki przygotowana jest w ramach osobnego raportu.

Historia korespondencji

W toku prac analitycznych pismem z dnia 17.09.2021 r. wystąpiono do Prezesa Narodowego Funduszu Zdrowia z prośbą o ocenę skutków finansowych przedmiotowego świadczenia dla systemu opieki zdrowotnej. W dniu 19.10.2021 otrzymano odpowiedź (pismo znak: DSOZ-SAOS.401.148.2021 2021.156155.AJA) od Prezesa Narodowego Funduszu Zdrowia.

Analizowania w niniejszym opracowaniu Karta Świadczenia Opieki Zdrowotnej została przygotowana przez ówczesnego Konsultanta Krajowego w dziedzinie genetyki klinicznej – Pana Prof. Andrzeja Kochańskiego, natomiast w czasie trwania procesu analitycznego, w dniu 26.10.2021 r. powołano nowego Konsultanta Krajowego w dziedzinie genetyki klinicznej – Panią Prof. Annę Latos-Bieleńską, której już wcześniej zostały przekazane formularze stanowiska eksperckiego.

O ocenę zasadności finansowania ww. wnioskowanego świadczenia ze środków publicznych poproszeni zostali następujący eksperci:

- prof. dr hab. Ewa Lech-Marańda, Konsultant Krajowy w dziedzinie hematologii;
- prof. dr hab. Jan Styczyński, Konsultant Krajowy w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej;
- prof. dr hab. Krystyna Chrzanowska, Konsultant wojewódzki w dziedzinie genetyki klinicznej – mazowieckie;

- prof. dr hab. Anna Latos-Bieleńska, Konsultant wojewódzki w dziedzinie genetyki klinicznej – wielkopolskie, od 26.10.2021 r. Konsultant Krajowy;
- prof. dr hab. Olga Haus, Konsultant Wojewódzki w dziedzinie genetyki klinicznej – kujawsko-pomorskie;

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

Do dnia przekazania opracowania analitycznego otrzymano łącznie odpowiedzi od 2 ekspertów, w tym 1 odmowa przekazania opinii. Nie otrzymano odpowiedzi od 8 ekspertów.

4. Problem decyzyjny

4.1. Definiowanie problemu decyzyjnego

Technika real-time PCR łączy w sobie dwie ważne zalety: wysoką czułość reakcji oraz możliwość monitorowania ilości produktów PCR w każdym cyklu amplifikacji. Wprowadzenie do diagnostyki techniki real-time PCR (RQ-PCR) umożliwia znaczące zwiększenie potencjału diagnostycznego tej metody. Jest to reakcja PCR z analizą w czasie rzeczywistym. Metoda ta pozwala na monitorowanie ilości kopii produktu w każdym cyklu reakcji, nawet przy bardzo niskich wyjściowych stężeniach matrycy. RQ-PCR umożliwia jednoczesną analizę oraz wizualizację produktu w trakcie trwania reakcji dzięki zastosowaniu wyznakowanych fluorescencyjnie związków interkalujących (np. SYBR Green jako przykład detekcji niespecyficznej) lub sond (np. sondy TaqMan, sondy typu molekularna latarnia, sonda HyProbes jako przykład detekcji specyficznej).

Analiza ekspresji genów w ujęciu ilościowym w chwili obecnej znajduje zastosowanie przede wszystkim w diagnostyce chorób hematologicznych. Rutynowo stosowane metody w diagnostyce hematologicznej (klasyczny kariotyp i/lub FISH) mają nieporównywalnie niższą czułość diagnostyczną niż technika RQ-PCR (odpowiednio 1-10% dla klasycznego kariotypu, 0,2-5% dla FISH vs. 0,001% dla RQ-PCR).

Opis stanu faktycznego

Obecnie w rozporządzeniu Ministra Zdrowia w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu ambulatoryjnej opieki specjalistycznej (Dz. U. z 2016 r. poz. 357, z późn. zm.), metoda klasyczna PCR i jej modyfikacje została ujęta w wykazie świadczeń gwarantowanych dotyczących badań diagnostycznych w załączniku nr 2 do rozporządzenia, lit. M. Badania genetyczne, l.p. 915 Badania metodami biologii molekularnej.

Należy jednocześnie zaznaczyć, wskazane badanie genetyczne „PCR i jej modyfikacje” implikuje niejasność co do interpretacji niniejszego zapisu. W przepisach ww rozporządzenia brak jest precyzyjnego określenia rodzajów modyfikacji metody PCR oraz wskazań do stosowania, w szczególności w **kompleksowej diagnostyce genetycznej chorób nowotworowych**. Brak jest też informacji czy badanie metodą „PCR i jej modyfikacje” jest świadczeniem gwarantowanym w procesie monitorowania choroby resztkowej i terapii celowanej w nowotworach hematologicznych.

W związku z powyższym, istnieje potrzeba co do wydzielenie badania RQ-PCR jako osobnej metody z podaniem wskazań oraz warunków realizacji ze względu na fakt, iż stanowi standard postępowania w białaczkach.

Propozycja wnioskodawcy

Według KŚOZ do badanie genetyczne przy użyciu metody *Real-time PCR (RQ-PCR) - ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym*, będzie miało zastosowanie w diagnostyce oraz monitorowaniu skuteczności leczenia ukierunkowanego molekularnie, głównie w rozpoznaniu wg ICD-10: C92 Białaczka szpikowa, gdzie jest wymagane wykonywanie badania metodą real time PCR do: diagnostyki translokacji oraz do cyklicznego monitorowania (około 1/3 miesiące) skuteczności leczenia głównie przewlekłej białaczki szpikowej (C92.1) z wykorzystaniem drogich leków inhibitorów kinaz, jak również monitorowania odpowiedzi na leczenie poprzez badanie chimeryzmu hematopoetycznego i minimalnej choroby resztkowej (MRD; minimal residual disease).

Założono, że realizacja świadczenia będzie odbywać się w placówkach posiadające odpowiedni sprzęt (tj. termocykler dedykowany do real-time PCR, wirówka preparacyjna, pipeta automatyczna, oprogramowanie) oraz zespół składający się z diagnostów laboratoryjnych ze specjalizacją z zakresu laboratoryjnej genetyki medycznej.

Problem decyzyjny

W niniejszym raporcie z uwagi na wnioskowane wydzielenie metody real-time PCR (RQ-PCR) do diagnostyki i monitorowania efektów leczenia nowotworów hematologicznych (wskazania ICD-10: C91-C96), szczególnie ostrej białaczki limfoblastyczną i białaczki szpikowej, poddano analizie wykorzystanie tej metody w aspekcie klinicznym i finansowym.

Wyniki przeprowadzonego procesu analitycznego, w tym spodziewane korzyści zdrowotne dla pacjenta

W celu oceny zasadność kwalifikacji przedmiotowego badania wykonano następujące czynności analityczne:

- przeanalizowano wytyczne praktyki klinicznej odnoszące się do ocenianej metody;
- przygotowano analizę kliniczną w oparciu o przeprowadzony przegląd systematyczny;
- wykonano analizę bezpieczeństwa na podstawie danych źródłowych z dostępnych baz gromadzących informacje związane z bezpieczeństwem stosowania wyrobów medycznych służących do diagnostyki;
- zestawiono obecnie dostępne ścieżki finansowania badań genetycznych w chorobach nowotworowych w Polsce zarówno w opiece ambulatoryjnej, jak i szpitalnej;
- dokonano przeglądu rozwiązań międzynarodowych oraz wykonano przegląd analiz ekonomicznych;
- oszacowano skutki finansowe dla systemu ochrony zdrowia.

W świetle aktualnych wytycznych praktyki klinicznej badanie genetyczne RQ-PCR (dużej czułości) jest rekomendowaną metodą w diagnostyce i w monitorowaniu nowotworów hematologicznych (białaczek). Na podstawie przeprowadzonego przeglądu systematycznego można stwierdzić, iż oceniana w niniejszym opracowaniu metoda:

pozwala na szybkie i precyzyjne wykrycie fuzji genów, co może stanowić element diagnostyki białaczek, stanowi cenne narzędzie kliniczne w monitorowaniu minimalnej choroby resztkowej w białaczkach, traktowana jest jako standard diagnostyki w leczeniu białaczek za pomocą inhibitorów kinaz tyrozynowych.

Zgodnie z otrzymaną opinią Konsultanta Krajowego w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej badanie metodą RQ-PCR jest najskuteczniejszą, standardową metodą w przedmiotowym wskazaniu.

Spodziewanym efektem wprowadzenia tej techniki biologii molekularnej o dużej czułości (RQ-PCR) do wykazu świadczeń gwarantowanych jest poprawa dostępności do nowoczesnej diagnostyki molekularnej dla pacjentów z rozpoznaniem białaczki oraz chłoniaka w celu wiarygodnego rozpoznawania nowotworu, precyzyjnej oceny odpowiedzi na zastosowaną terapię, oceny chimeryzmu poprzesczepowego u pacjentów poddanych transplantacji, monitorowania choroby resztkowej w trakcie leczenia i po jego zakończeniu, a także wczesnego wykrywania (na poziomie molekularnym) wznowy choroby.

4.2. Problem zdrowotny

Populacja objęta świadczeniem

Zgodnie z informacjami zawartymi w Karcie Świadczenia Opieki Zdrowotnej analiza ekspresji genu lub kilku genów (w tym genów fuzyjnych) przy użyciu metody Real-time PCR (RQ-PCR) - ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym ma dotyczyć diagnostyki następujących jednostek chorobowych:

- C91 – Białaczka limfatyczna
- C92 – Białaczka szpikowa
- C93 – Białaczka monocytowa
- C94 – Inne białaczki określonego rodzaju
- C95 – Białaczka z komórek nieokreślonego rodzaju
- C96 – Inny i nieokreślony nowotwór złośliwy tkanki limfatycznej, układu krwiotwórczego i tkanek pokrewnych

Wiele nowotworów, w tym przede wszystkim białaczki oraz chłoniaki, cechuje się występowaniem charakterystycznych lub wysoce swoistych aberracji chromosomowych, które mogą prowadzić do powstawania genów fuzyjnych. Identyfikacja genów fuzyjnych w komórkach nowotworowych ma nie tylko wartość diagnostyczną, ale także może służyć do monitorowania efektów leczenia przeciwnowotworowego, zarówno klasyczną chemioterapią, jak też lekami celowanymi.

Analiza ekspresji genów w ujęciu ilościowym w chwili obecnej znajduje zastosowanie przede wszystkim w diagnostyce chorób hematoonkologicznych. Niemniej jednak, zaburzenia ekspresji genów, spowodowane

bezpośrednim uszkodzeniem materiału genetycznego czy też na drodze zaburzeń mechanizmów epigenetycznych, odgrywają również rolę w etiopatogenezie guzów litych, jak i innych schorzeń o etiologii genetycznej.

[KŚOZ]

Etiologia i patogeneza

Aberracje chromosomowe mogą dotyczyć zarówno zmiany struktury, jak i liczby chromosomów. Przykładem anomalii chromosomowych występujących w nowotworach układu krwiotwórczego są translokacje, aneuploidie i delecje. Translokacje powstają w wyniku przemieszczenia się fragmentu chromosomu w inne miejsce tego samego lub innego chromosomu i często prowadzą do powstania genów fuzyjnych. Przykładem są translokacje obejmujące geny czynników transkrypcyjnych kontrolujących hematopoezę. [Białopiotrowicz 2020]

Klasycznym przykładem genu fuzyjnego jest gen *BCR-ABL*, który powstaje na skutek przeniesienia onkogenu *ABL* (Abelson Murine Leukemia – mysia białaczka Abelsona) locus 9q34 w region *BCR* (Breakpoint Cluster Region) region protein, znajdujący się w prążku q11 chromosomu 22. Na skutek translokacji powstaje chromosom Filadelfia (Ph) oraz gen fuzyjny, który koduje białko p210 o podwyższonej aktywności kinazy tyrozynowej, biorące udział w licznych szlakach przekąźnikowych. Nadmierna aktywność kinazy powoduje zaburzenia regulacji cyklu komórkowego, różnicowania i dojrzewania komórki, a tym samym inicjuje proces kancerogenezy. Obecność genu fuzyjnego *BCR/ABL* i/lub chromosomu Filadelfia (Ph) jest markerem diagnostycznym przede wszystkim przewlekłej białaczki szpikowej (CML; chronic myeloid leukemia), ale także ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL; acute lymphoblastic leukemia). Wyniki badań z zastosowaniem technik molekularnych o dużej czułości (np. real time PCR) sugerują, iż transkrypt genu fuzyjnego *BCR/ABL* jest wykrywany aż w 98% przypadków CML oraz u 30-50% pacjentów z rozpoznaniem ALL. Kolejnym przykładem genu fuzyjnego jest *PML-RARA*, którego obecność stwierdza się w komórkach nowotworowych ostrej białaczki promielocytowej (APL; acute promyelocytic leukemia).

[KŚOZ]

Epidemiologia

W Polsce liczba chorych na nowotwory krwi wzrosła dwukrotnie w ciągu ostatnich 25 lat. [KŚOZ] Również w przypadku białaczek w ciągu ostatnich trzech dekad liczba zachorowań wzrosła ponad 2-krotnie. W Polsce w 2010 r. białaczki stanowiły 2% zachorowań, na nowotwory złośliwe. Liczba zachorowań na białaczki wykazuje wzrost zachorowań z wiekiem, przy czym w pierwszych latach życia utrzymuje się wyższa liczba zachorowań. Ryzyko zachorowania na białaczki wśród dzieci i młodych dorosłych utrzymuje się na poziomie około $4/10^5$, natomiast po 50 roku życia następuje wzrost ryzyka wraz z przechodzeniem do starszych grup wiekowych z maksimum w najstarszej grupie wiekowej. [onkologia.org.pl]

W 2010 r. białaczki stanowiły 2,8% zgonów nowotworowych u mężczyzn i 3,0% u kobiet w Polsce. Najwięcej zgonów z powodu białaczki występuje między 70 a 79 rokiem życia (około 33% zgonów). U dzieci poniżej 19 roku życia występuje około 2-3% zgonów. Ryzyko zgonu z powodu białaczek wzrasta wraz z wiekiem począwszy od szóstej dekady życia osiągając maksimum w ósmej-dziewiątej dekadzie życia (około $85/10^5$ u mężczyzn i około $40/10^5$ u kobiet). [onkologia.org.pl]

Umieralność z powodu białaczki zarówno u mężczyzn jak i kobiet charakteryzuje się spadkiem u dzieci i młodych dorosłych, a także u osób w średnim wieku (45-64 lat). U osób starszych (65 i więcej lat) po długoletnim wzroście ostatnich kilka lat przyniosło stabilizację umieralności. [onkologia.org.pl]

Ostre białaczki szpikowe dominują u dorosłych, a ostre białaczki limfoblastyczne częściej występują u dzieci i osób młodych. [Seferyńska 2014]

W tabelach poniżej przedstawiono dane KRN z lat 2014-2018 dotyczące zapadalności na białaczki oraz liczby zgonów z powodu białaczek w Polsce w latach 2014-2018. Największy udział wśród nowych przypadków białaczek stanowią białaczka limfatyczna i białaczka szpikowa.

Tabela 6. Zachorowania na białaczki wg Krajowego Rejestru Nowotworów (KRN) w latach 2014–2018 w Polsce

ICD-10	Typ nowotworu	2014	2015	2016	2017	2018
C91	Białaczka limfatyczna	1989	1883	1754	1801	1953

C92	Białaczka szpikowa	1276	1102	1096	1119	1176
C93	Białaczka monocytowa	66	81	71	71	72
C94	Inne białaczki określonego rodzaju	132	148	124	375	217
C95	Białaczka z komórek nieokreślonego rodzaju	66	82	62	57	77
C96	Inny i nieokreślony nowotwór złośliwy tkanki limfatycznej, krwiotwórczej i tkanek pokrewnych	71	137	143	76	87
Suma:		3600	3433	3250	3499	3582

Tabela 7. Zgony z powodu białaczek wg Krajowego Rejestru Nowotworów (KRN) w latach 2014–2018 w Polsce

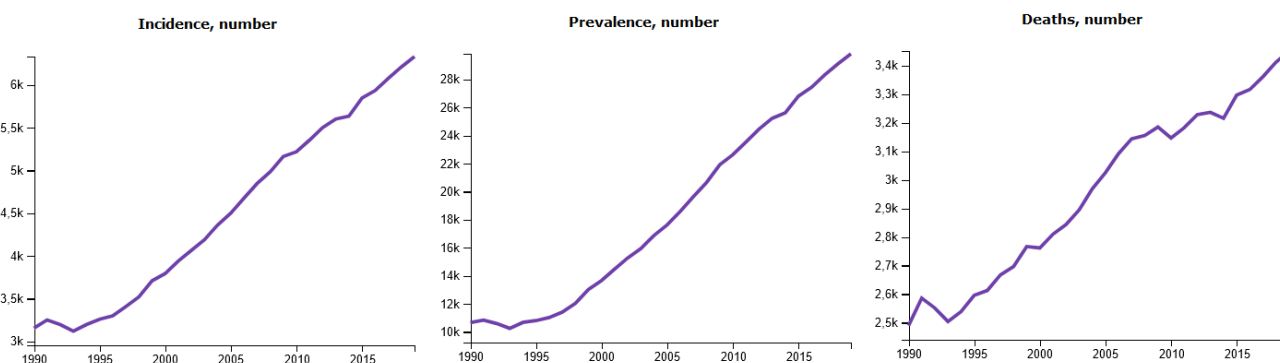
ICD-10	Typ nowotworu	2014	2015	2016	2017	2018
C91	Białaczka limfatyczna	1201	1279	1334	1284	1430
C92	Białaczka szpikowa	1339	1289	1331	1327	1316
C93	Białaczka monocytowa	75	69	70	75	82
C94	Inne białaczki określonego rodzaju	33	36	43	43	43
C95	Białaczka z komórek nieokreślonego rodzaju	119	120	116	115	103
C96	Inny i nieokreślony nowotwór złośliwy tkanki limfatycznej, krwiotwórczej i tkanek pokrewnych	144	141	111	124	103
Suma:		2911	2934	3005	2968	3077

Wg danych GBD liczba zachorowań na białaczki w Polsce sukcesywnie rośnie i w latach 2017-2019 wyniosła odpowiednio 6077, 6213 i 6333 osób. Ponadto w latach 2017-2019 w Polsce z powodu białaczek zmarło średnio 3,4 tys. osób - rocznie. Szczegóły przedstawiono poniżej.

Tabela 8. Parametry epidemiologiczne dla białaczek w latach 2017-2019 w Polsce wg danych GBD

Parametr	2017	2018	2019
Zapadalność	6077	6213	6333
Chorobowość	28323	29829	29102
Zgony	3412	3361	3451

Źródło: GBD



Rysunek 1. Wzrost zapadalności, chorobowości i liczby zgonów z powodu białaczek w Polsce na podstawie danych GBD (Źródło: GBD)

Główne czynniki prognostyczne

Istotnym wskaźnikiem odpowiedniego leczenia pacjentów chorych na CML (przewlekłą białaczkę szpikową; chronic myeloid leukemia), ALL (ostrą białaczkę limfoblastyczną; acute lymphoblastic leukemia) oraz inne nowotwory układu krwiotwórczego jest monitorowanie odpowiedzi na leczenie poprzez badanie chimeryzmu hematopoetycznego oraz minimalnej choroby resztkowej (MRD; minimal residual disease).

Chimeryzm hematopoetyczny to zjawisko współwystępowania w organizmie biorcy własnych komórek hematopoetycznych z komórkami dawcy. Monitorowanie chimeryzmu umożliwia ocenę przyjęcia przeszczepu, a przy odpowiedniej częstotliwości badań, także wczesne wykrywanie wznowy. [KŚOZ]

Natomiast minimalna choroba resztkowa to obecność małej liczby przetrwałych w organizmie (w trakcie leczenia lub w remisji) komórek nowotworowych. Ilość komórek nowotworowych w minimalnej chorobie resztkowej nie jest wystarczająca do wywołania objawów klinicznych, ale stanowi bazę do potencjalnego nawrotu choroby nowotworowej. Choroba resztkowa jest niewykrywalna standardowo stosowanymi metodami diagnostycznymi jak np. morfologia krwi i badanie szpiku. Chorobę resztkową można wykrywać metodami molekularnymi takimi jak RQ-PCR. [Bassan 2019] Poziom choroby resztkowej uznawany jest za nadrzędny czynnik prognostyczny w ostrej białaczce limfoblastycznej. [KŚOZ]

Znaczenie kliniczne choroby resztkowej i zasadność jej monitorowania jest przedmiotem wielu publikacji. W przeprowadzonym w 2019 r. przeglądzie systematycznym z metaanalizą na bazie 23 prac oryginalnych wykazano, że w przypadku pacjentów z B-ALL, u których choroba resztkowa była na niewykrywalnym poziomie, osiągnęto znacznie lepsze przeżycie wolne od nawrotu [HR=2,34; CI 95%: 1,9; 2,86] i przeżycie całkowite (HR=2,19; CI 95%: 1,63; 2,94). [Bassan 2019]

Dane z powyższej publikacji pokazują, że monitorowanie choroby resztkowej wiąże się z korzyściami dla pacjenta i pozwala wcześniej wykryć nawrót choroby (poprzez wykrycie utraty odpowiedzi molekularnej przed pojawieniem się objawów klinicznych).

Rokowanie

Białaczki i pokrewne nowotwory są chorobami cechującymi się wysoką śmiertelnością. Choroba zwykle przebiega w trzech fazach: przewlekłej, akceleracji i blastycznej, którą określa się przełomem blastycznym lub kryzą blastyczną. Proces nowotworowy może szerzyć się na węzły chłonne, wątrobę i śledzionę, dotyczy to przede wszystkim białaczek z linii limfoidalnej, ostrych i przewlekłych. W rozrostach z monocytów i monoblastów oprócz zajęcia wątroby i śledziony dochodzi do przerostu dziąseł (proces nowotworowy) i zmian w skórze. [KRN]

Postęp jaki dokonał się w diagnostyce i leczeniu tego typu nowotworów jest ogromny i przekłada się na wymierne rezultaty. Wg. danych dla populacji amerykańskiej przeżywalność 5-letnia poprawiła się czterokrotnie w ciągu ostatnich 50 lat. W latach 1960-1963 wynosiła zaledwie 14%, dane dla lat 2010-2016 przedstawiono w poniższej tabeli:

Tabela 9. Przeżycie pięcioletnie u pacjentów z białaczkami w latach 2010-2016 dla populacji USA.

Typ białaczki	Przeżycie pięcioletnie - średnia z lat 2010-2016
ALL w populacji ogólnej	72,1%
ALL w populacji do 15 roku życia	92,5%
ALL u dzieci do 5 roku życia	94,4%
AML w populacji ogólnej	29,8%
AML w populacji do 15 roku życia	70,6%
CLL w populacji ogólnej	88,6%
CML w populacji ogólnej	71,7%

Źródło: baza SEER

Wg danych KRN w Polsce wśród pacjentów, u których zdiagnozowano białaczki w latach 2000-2002 1-roczone wskaźniki przeżyć wynosiły 58,5% u mężczyzn i 59,6% u kobiet. Wśród mężczyzn zdiagnozowanych w latach 2003-2005 wskaźnik przeżyć 1-roczych wynosił 62,0%, wśród kobiet 61,9%. Przeżycia 5-letnie wśród pacjentów z białaczką w ciągu pierwszej dekady XXI poprawiły się znacząco: u mężczyzn z 32,9% do 39,4%, natomiast u kobiet z 35,2% do 40,3%. [onkologia.org.pl]

4.3. Oceniana technologia medyczna i technologie alternatywne

4.3.1. Opis wnioskowanej technologii medycznej

Real time PCR (RQ-PCR) jest to reakcja PCR z analizą w czasie rzeczywistym. Metoda ta pozwala na monitorowanie ilości kopii produktu w każdym cyklu reakcji, nawet przy bardzo niskich wyjściowych stężeniach matrycy. RQ-PCR umożliwia jednoczesną analizę oraz wizualizację produktu w trakcie trwania reakcji dzięki zastosowaniu wyznakowanych fluorescencyjnie związków interkalujących (np. SYBR Green jako przykład

detekcji niespecyficznnej) lub sond (np. sondy TaqMan, sondy typu molekularna latarnia, sonda HyProbes jako przykład detekcji specyficznej). W raporcie termin RQ-PCR stosowany jest jako równoznaczny z używanymi w literaturze naukowej określeniami: real time PCR, quantitative PCR, RT-qPCR.

Niewątpliwą zaletą techniki RQ-PCR jest jej wysoka czułość oraz możliwość analizy poziomu ekspresji genu lub genów w kilku lub nawet kilkunastu próbkach jednocześnie, co zdecydowanie skraca czas procedury diagnostycznej.

Analiza ekspresji genów w ujęciu ilościowym w chwili obecnej znajduje zastosowanie przede wszystkim w diagnostyce chorób hematologicznych.

Realizacja świadczenia odbywać się będzie przez placówki posiadające odpowiedni sprzęt (tj. termocykler dedykowany do real time PCR, wirówka preparacyjna, pipeta automatyczna, oprogramowanie) oraz zespół składający się z diagnostów laboratoryjnych ze specjalizacją z zakresu laboratoryjnej genetyki medycznej.

Procedura składa się z następujących etapów:

- pobranie krwi obwodowej/szpiku od pacjenta,
- izolacja DNA/RNA,
- przygotowanie mieszaniny reakcyjnej,
- przeprowadzenie reakcji real time PCR w dedykowanym aparacie do PCR z możliwością detekcji w czasie rzeczywistym,
- analiza wyników z wykorzystaniem dedykowanego oprogramowania,
- wypisanie wyniku.

Świadczenie będzie finansowane w całości ze środków publicznych w ramach ambulatoryjnej opieki specjalistycznej.

[KŚOZ]

4.3.2. Zastosowanie technologii Real time PCR (RQ-PCR) w praktyce klinicznej

Wiele nowotworów, w tym przede wszystkim białaczki oraz chłoniaki, cechuje się występowaniem charakterystycznych lub wysoce swoistych aberracji chromosomowych, które mogą prowadzić do powstawania genów fuzyjnych. Identyfikacja genów fuzyjnych w komórkach nowotworowych ma nie tylko wartość diagnostyczną, ale także może służyć do monitorowania efektów leczenia przeciwnowotworowego, zarówno klasyczną chemioterapią, jak też lekami celowanymi.

Zgodnie z rekomendacjami, technologia Real time PCR (RQ-PCR) o dużej czułości powinna być wdrożona do rutynowej diagnostyki molekularnej w celu wiarygodnego rozpoznawania nowotworów hematologicznych, precyzyjnej oceny odpowiedzi na zastosowaną terapię, oceny chimeryzmu przeszczepowego u pacjentów poddanych transplantacji, monitorowania choroby resztkowej w trakcie leczenia i po jego zakończeniu, a także wczesnego wykrywania (na poziomie molekularnym) wznowy choroby.

[KŚOZ]

4.3.2.1. Wskazania, których dotyczy zlecenie

Zgodnie z KŚOZ analiza ekspresji genu lub kilku genów (w tym genów fuzyjnych) przy użyciu metody Real-time PCR (RQ-PCR) - ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym ma docelowo dotyczyć diagnostyki następujących schorzeń:

- C91 – Białaczka limfatyczna;
- C92 – Białaczka szpikowa;
- C93 – Białaczka monocytowa;
- C94 – Inne białaczki określonego rodzaju;

- C95 – Białaczka z komórek nieokreślonego rodzaju;
- C96 – Inny i nieokreślony nowotwór złośliwy tkanki limfatycznej, układu krwiotwórczego i tkanek pokrewnych.

Jednocześnie założono, że opisywana technologia jest konieczna do zastosowanie w diagnostyce nowotworów hematologicznych oraz monitorowaniu skuteczności leczenia ukierunkowanego molekularnie w szczególności w rozpoznaniach wg ICD-10: **C92 Białaczka szpikowa wraz z rozszerzeniami**, gdzie jest wymagane wykonywanie badania metodą real time PCR do: diagnostyki translokacji oraz do cyklicznego monitorowania skuteczności leczenia głównie przewlekłej białaczki szpikowej (C92.1) z wykorzystaniem drogich leków inhibitorów kinaz, a także monitorowania odpowiedzi na leczenie poprzez badanie chimeryzmu hematopoetycznego oraz minimalnej choroby resztkowej.

4.3.3. Obecna praktyka kliniczna i technologie alternatywne

Obecnie w rutynowej diagnostyce do identyfikacji genów fuzyjnych stosuje się technikę fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH) i/lub RT-PCR. Powyższe metody to analizy jakościowe lub półilościowe, które pozwalają jedynie na potwierdzenie lub wykluczenie obecności genu. Zastosowanie reakcji real time PCR (RQ-PCR) umożliwia w krótkim czasie (3–4 dni) przeprowadzenie czułej analizy ilościowej poziomu transkryptu określonego genu fuzyjnego, co ma ogromne znaczenie kliniczne. Dokładne oznaczenie ilości genu fuzyjnego pozwala nie tylko na prawidłowe rozpoznanie kliniczne, ale także na wdrożenie właściwego algorytmu terapeutycznego oraz jego monitorowanie.

Zgodnie ze światowymi rekomendacjami badania molekularne, które są podstawowym elementem rutynowej opieki nad pacjentem z nowotworem hematologicznym, powinny być oparte na analizie ilościowej, a nie półilościowej lub jakościowej. Rutynowo stosowane metody w diagnostyce hematologicznej (klasyczny kariotyp i/lub FISH) mają nieporównywalnie niższą czułość diagnostyczną niż technika RQ-PCR (odpowiednio 1–10% dla klasycznego kariotypu, 0,2-5% dla FISH vs. 0,001% dla RQ-PCR). Ponadto w diagnostyce onkologicznej bardzo krótki czas trwania procedury jest kluczowym parametrem wartości testu diagnostycznego, a obecnie średni okres oczekiwania na wynik waha się w granicach 5–28 dni.

[KŚOZ]

4.3.4. Opinie ekspertów klinicznych

Przedstawione w niniejszym rozdziale opinie ekspertów zostały przygotowane bezpłatnie, zgodnie z aktualnymi przepisami prawnymi dotyczącymi wykonywania przez Agencję na zlecenie Ministra Zdrowia oceny technologii medycznych.

4.3.4.1. Skutki następstw choroby lub stanu zdrowia

Tabela 10. Skutki następstw choroby lub stanu zdrowia¹

Skutki następstw choroby lub stanu zdrowia	Prof. dr hab. Jan Styczyński Konsultant Krajowy w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej
Przedwczesny zgon	x
Niezdolność do samodzielnej egzystencji	x
Niezdolność do pracy	x
Przewlekłe cierpienie lub przewlekła choroba	x
Obniżenie jakości życia	x

¹ Wg Ustawy o świadczeniach.

4.3.4.2. Wpływ świadczenia na poprawę zdrowia

Tabela 11. Wpływ świadczenia na poprawę zdrowia obywateli - priorytety zdrowotne²

Wskaźniki epidemiologiczne	Prof. dr hab. Jan Styczyński Konsultant Krajowy w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej
Choroby układu krążenia	
Choroby nowotworowe	x
Choroby układu oddechowego	
Zapobieganie wypadkom i urazom oraz leczenie ich skutków	
Choroby psychiczne	
Choroby układu kostno-stawowego	
Choroby zakaźne	
Leczenie uzależnień	
Zapobieganie otyłości i cukrzycy	
Choroby środowiskowe	
Opieka nad matką, noworodkiem i dzieckiem do lat 3	
Choroby wieku rozwojowego	
Opieka długoterminowa	
Opieka geriatryczna	

Tabela 12. Wpływ świadczenia na poprawę zdrowia obywateli – wskaźniki epidemiologiczne.

Wskaźniki epidemiologiczne	Prof. dr hab. Jan Styczyński Konsultant Krajowy w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej
Zapadalność/Umieralność	W populacji pediatrycznej: C91 - Białaczka limfatyczna: zapadalność około 230-250 rocznie, umieralność około 10-15% C92 - Białaczka szp kowa: zapadalność około 50 rocznie, umieralność około 20% C93 - Białaczka monocytowa: wymieniono łącznie z C92 C94 - Inne białaczki określonego rodzaju: kazuistyka C95 - Białaczka z komórek nieokreślonego rodzaju: kazuistyka C96 - Inny i nieokreślony nowotwór złośliwy tkanki limfatycznej, układu krwiotwórczego i tkanek pokrewnych: kazuistyka (Powyższe dane są oszacowaniem własnym. Publikacja: Styczyński i wsp. <i>Pediatrics Polska</i> , 2018; 93 (6): 451-461.)
Chorobowość	-
Śmiertelność	-

4.3.4.3. Znaczenie dla zdrowia obywateli

Tabela 13. Znaczenie dla zdrowia obywateli

Istotność wnioskowanej technologii medycznej	Prof. dr hab. Jan Styczyński Konsultant Krajowy w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej
Ratująca życie i prowadząca do pełnego wyzdrowienia	x
Ratująca życie i prowadząca do poprawy stanu zdrowia	x
Zapobiegająca przedwczesnemu zgonowi	x
Poprawiająca jakość życia bez istotnego wpływu na jego długość	x

² Wg Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 21 sierpnia 2009 r. w sprawie priorytetów zdrowotnych (Dz.U. 2009, Nr 137, poz. 1126).

4.3.4.4. Interwencje stosowane w ocenianym wskazaniu

Tabela 14. Przegląd interwencji stosowanych w ocenianym wskazaniu

Ekspert	Treść opinii
1. Metody diagnostyczne/procedury stosowane obecnie w przedmiotowym wskazaniu	
Prof. dr hab. Jan Styczyński Konsultant Krajowy w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej	Badania metodą PCR są najskuteczniejszą standardową metodą, ale muszą być uzupełnione badaniami metodą cytometrii przepływowej.
2. Wskazania oraz metody diagnostyczne rekomendowane w wytycznych postępowania klinicznego	
Prof. dr hab. Jan Styczyński Konsultant Krajowy w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej	Badania metodą PCR są rekomendowaną standardową metodą, ale muszą być uzupełnione badaniami metodą cytometrii przepływowej. Referencje bibliograficzne: aktualnie stosowane europejskie programy terapeutyczne.
3. Procedura/metoda diagnostyczna, która w rzeczywistej praktyce medycznej najprawdopodobniej zostanie zastąpiona, całkowicie lub częściowo, przez wnioskowaną technologię, jeżeli zostanie ona objęta refundacją w przedmiotowym wskazaniu	
Prof. dr hab. Jan Styczyński Konsultant Krajowy w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej	Metody cytogenetyczne, FISH.

4.3.4.5. Stanowisko własne ekspertów ws. finansowania ocenianej technologii

Tabela 15. Opinie ekspertów dotyczące finansowania ocenianej technologii

Ekspert	Treść opinii
1. Czy procedura diagnostyczna powinna być finansowana ze środków publicznych?	
Prof. dr hab. Jan Styczyński Konsultant Krajowy w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej	Nie powinna być finansowana ze środków publicznych. W przedstawionej formie, projekt nie może dotyczyć populacji pediatrycznej, tj. do 18 rż, gdyż: 1) nie pokrywa panelu standardowo obecnie wymaganych badań (w standardach europejskich i w aktualnie prowadzonych programach terapeutycznych), nie obejmuje badania choroby resztkowej z wykorzystaniem TCR metodą PCR. 2) Minimalna liczba badań dla jednego pacjenta pediatrycznego wynosi 4, a w grupach wysokiego ryzyka – nawet do 10. 3) Projekt nie był konsultowany ze środowiskiem onkologii i hematologii dziecięcej. 4) Środowisko onkologii i hematologii dziecięcej od 2017 roku zabiega o wprowadzenie badania choroby resztkowej jako świadczenia gwarantowanego. W 2021 r. przeprowadzono w tej kwestii liczne spotkania z AOTMiT. 5) Przedstawiony koszt w punktu widzenia onkologii i hematologii dziecięcej jest istotnie niedoszacowany.

Ekspert	Treść opinii
2. Stanowisko własne ws. finansowania ze środków publicznych	
<p>Prof. dr hab. Jan Styczyński Konsultant Krajowy w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej</p>	<p>W przedstawionej formie, projekt nie może dotyczyć populacji pediatrycznej, tj. do 18 rż, gdyż:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) nie pokrywa panelu standardowo obecnie wymaganych badań (w standardach europejskich i w aktualnie prowadzonych programach terapeutycznych), nie obejmuje badania choroby resztkowej z wykorzystaniem TCR metodą PCR. 2) Minimalna liczba badań dla jednego pacjenta pediatrycznego wynosi 4, a w grupach wysokiego ryzyka – nawet do 10. 3) Projekt nie był konsultowany ze środowiskiem onkologii i hematologii dziecięcej. 4) Środowisko onkologii i hematologii dziecięcej od 2017 roku zabiega o wprowadzenie badania choroby resztkowej jako świadczenia gwarantowanego. W 2021 r. przeprowadzono w tej kwestii liczne spotkania z AOTMiT. 5) Przedstawiony koszt w punktu widzenia onkologii i hematologii dziecięcej jest istotnie niedoszacowany.

4.3.4.6. Mocne i słabe strony finansowania ocenianej technologii ze środków publicznych

Tabela 16. Opinie ekspertów dotyczące finansowania ocenianej technologii

Ekspert	Finansowanie ze środków publicznych:	
	Mocne strony	słabe strony
<p>Prof. dr hab. Jan Styczyński Konsultant Krajowy w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej</p>	<p>nie podano</p>	<p>W przedstawionej formie, projekt nie może dotyczyć populacji pediatrycznej, tj. do 18 rż, gdyż:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Projekt nie pokrywa panelu standardowo obecnie wymaganych badań (w standardach europejskich i w aktualnie prowadzonych programach terapeutycznych), nie obejmuje badania choroby resztkowej z wykorzystaniem TCR metodą PCR. • Minimalna liczba badań dla jednego pacjenta pediatrycznego wynosi 4, a w grupach wysokiego ryzyka – nawet do 10. • Projekt nie był konsultowany ze środowiskiem onkologii i hematologii dziecięcej. • Środowisko onkologii i hematologii dziecięcej od 2017 roku zabiega o wprowadzenie badania choroby resztkowej jako świadczenia gwarantowanego. W 2021 r. przeprowadzono w tej kwestii liczne spotkania z AOTMiT. • Przedstawiony koszt w punktu widzenia onkologii i hematologii dziecięcej jest istotnie niedoszacowany.

4.3.4.7. Komentarz AOTMiT do opinii prof. Styczyńskiego

W ramach Narodowej Strategii Onkologicznej realizowane było zadanie „Wprowadzenie finansowania ze środków publicznych (NFZ) działań na rzecz poprawy wyników leczenia dzieci i młodzieży z wykrytymi nowotworami, kontroli jakości opieki onkologicznej”. Celem tego zadania jest opracowanie rozwiązań legislacyjnych, które pozwolą na objęcie finansowaniem ze środków NFZ, działań na rzecz poprawy wyników leczenia dzieci i młodzieży z wykrytymi nowotworami oraz kontroli jakości opieki onkologicznej.

[Sprawozdanie NSO]

W ramach tego zadania, Agencja przygotowała raport analityczny pn. „Działania na rzecz poprawy wyników leczenia dzieci i młodzieży z wykrytymi nowotworami, kontroli jakości opieki onkologicznej”, na podstawie którego został przygotowany projekt rozporządzenia Ministra Zdrowia. Celem prac było m. in. wypracowanie z gronem interesariuszy systemu ochrony zdrowia koncepcji rozwiązań dotyczących organizacji kompleksowej opieki onkologicznej w zakresie nowotworów wieku dziecięcego. Agencja dokonała wieloaspektowej analizy obszaru związanego ze świadczeniami udzielanymi na rzecz pacjentów w zakresie nowotworów wieku dziecięcego.

Między innymi na podstawie opinii Konsultanta Krajowego w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej, zaprezentowano propozycję świadczenia monitorowania choroby resztkowej.

[BIP RCL – zał. do OSR]

Obecnie, tj. stan na 13.12.2021 r., projekt Rozporządzenia Ministra Zdrowia zmieniającego rozporządzenie w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu leczenia szpitalnego jest w trakcie konsultacji publicznych. Otrzymana opinia Konsultanta Krajowego w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej w dużej mierze odnosi się do rozwiązań wypracowanych w ramach realizacji prac nad ww. raportem. Propozycja ww. świadczenia zamieszczona została w rozdziale *Załączniki*. Niniejszy raport dotyczy zakwalifikowania jako świadczenia gwarantowanego w AOS na podstawie art. 31c ustawy o świadczeniach propozycji zgłoszonej w KŚOZ, formalnie są to więc dwie osobne sprawy, choć obie dotyczą diagnostyki hematoonkologicznej.

4.3.5. Rekomendacje i wytyczne kliniczne

W dniach 3.09.2021-8.09.2021 r. przeszukano strony polskich oraz zagranicznych i międzynarodowych towarzystw naukowych, organizacji i instytucji oraz internetowe strony wybranych organizacji zajmujących się HTA i EBM w celu odnalezienia aktualnych wytycznych praktyki klinicznej dotyczących stosowania RQ-PCR w procesie diagnostyczno-terapeutycznym białaczek. Wyszukiwania nie ograniczono do daty opublikowania wytycznych. Zastosowane w wyszukiwaniu słowa kluczowe obejmowały: *leukemia, guidelines, recommendations, diagnosis, białaczki, wytyczne*.

Ostatecznie w analizie uwzględniono łącznie 13 dokumentów, w których wskazane było zastosowanie RQ-PCR w procesie diagnostyczno-terapeutycznym białaczek. Dane bibliograficzne powyższych publikacji przedstawiono w załącznikach do niniejszego raportu. Najważniejsze informacje zawarte w odnalezionych dokumentach wytycznych klinicznych przedstawiono w tabelach poniżej.

Tabela 17. Przegląd interwencji wg wytycznych praktyki klinicznej

Organizacja, rok (kraj/region)	Rekomendowane interwencje
NCCN 2022 National Comprehensive Cancer Network (NCCN), 2022, USA	<p><u>Przewlekła białaczka szpikowa</u></p> <p>W wytycznych w zakresie badań laboratoryjnych m.in. wskazano badanie Ilościowa RT-PCR przy użyciu International Scale (IS) dla BCR-ABL1 (krew).</p> <p><u>Uwagi:</u></p> <p>Wszystkie rekomendacje są poziomu 2A, oznacza to jednomyślny konsensus grupy roboczej NCCN, iż rekomendacja odzwierciedla najlepszą praktykę kliniczną oraz zalecenia oparte są o dowody umiarkowanej jakości.</p>
NCCN 2022a National Comprehensive Cancer Network (NCCN), 2022, USA	<p><u>Dziecięca ostra białaczka limfoblastyczna</u></p> <p>Do najczęściej stosowanych metod oceny MRD należą testy cytometrii przepływowej specjalnie zaprojektowane do wykrywania nieprawidłowych immunofenotypów MRD, ilościowe testy łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym (RQ-PCR) (np. immunoglobulina o rearanżacji klonalnej [IG], receptora komórkowego T – T-cell [TCR]), ilościowe testy PCR z odwrotną transkryptazą (RT-qPCR) (np. BCR/ABL1) oraz testy oparte na NGS do wykrywania genów fuzyjnych lub klonalnych rearanżacji w loci IG i TCR (nie wymaga specyficznych starterów).</p> <p>Optymalna stratyfikacja ryzyka i planowanie leczenia wymagają badania limfoblastów szpiku lub krwi obwodowej pod kątem specyficznych nawracających nieprawidłowości genetycznych przy użyciu m.in. badanie RT-PCR wykrywające BCR-ABL1 w B-ALL (ilościowo lub jakościowo), w tym określenie wielkości transkryptu (tj. P190 vs. p210). W przypadku negatywnego wyniku BCR-ABL1 należy zachęcać do badania fuzji genów i mutacji związanych z BCR-ABL1- Ph-podobnym ALL.</p> <p><u>Uwagi:</u></p> <p>Wszystkie rekomendacje są poziomu 2A, oznacza to jednomyślny konsensus grupy roboczej NCCN, iż rekomendacja odzwierciedla najlepszą praktykę kliniczną oraz zalecenia oparte są o dowody umiarkowanej jakości.</p>

Organizacja, rok (kraj/region)	Rekomendowane interwencje
<p>NCCN 2022b National Comprehensive Cancer Network (NCCN), 2022, USA</p>	<p><u>Ostra białaczka szpikowa</u></p> <p>Do najczęściej stosowanych metod oceny MRD należą ilościowe testy łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym (RQ-PCR) (np. NPM1,2CBFB-MYH11, RUNX1-RUNX1T13) i wielokolorowe testy cytometrii przepływowej (MFC) zaprojektowane specjalnie do wykrywania nieprawidłowego immunofenotypu MRD. Próg definiowania próbek MRD + i MRD- zależy od techniki i podgrupy AML. Testy oparte na sekwencjonowaniu nowej generacji (NGS) do wykrywania zmutowanych genów (sekwencjonowanie ukierunkowane, 20–50 genów na panel) nie są rutynowo stosowane, ponieważ czułość testów opartych na PCR i cytometrii przepływowej przewyższają to, co osiągnięto konwencjonalnym NGS. Mutacje związane z hematopoezą klonalną o nieokreślonym potencjale (CHIP) i starzeniu (tj. DNMT3A, TET2, potencjalnie ASXL1) również nie są uważane za wiarygodne markery MRD.</p> <p><u>Uwagi:</u> Wszystkie rekomendacje są poziomu 2A, oznacza to jednomyślny konsensus grupy roboczej NCCN, iż rekomendacja odzwierciedla najlepszą praktykę kliniczną oraz zalecenia oparte są o dowody umiarkowanej jakości.</p>
<p>NCCN 2022c National Comprehensive Cancer Network (NCCN), 2022, USA</p>	<p><u>Ostra białaczka limfoblastyczna</u></p> <p>Najczęściej stosowane metody oceny MRD obejmują co najmniej 6-kolorowe testy cytometrii przepływowej specjalnie zaprojektowanej do wykrywania nieprawidłowych immunofenotypów MRD, testy ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (RQ-PCR) do wykrywania genów fuzyjnych (np. BCR-ABL1) i testy oparte na sekwencjonowaniu nowej generacji (NGS) do wykrywania rearanżacji klonalnych w genach łańcucha ciężkiego immunoglobuliny (Ig) i/lub genach receptora komórek T (TCR).</p> <p>Optymalna stratyfikacja ryzyka i planowanie leczenia wymagają badania limfoblastów szp ku lub krwi obwodowej pod kątem specyficznych nawracających nieprawidłowości genetycznych przy użyciu m.in. badania RT-PCR wykrywające BCR-ABL1 w B-ALL (ilościowo lub jakościowo), w tym określenie wie kości transkryptu (tj. P190 vs. p210).</p> <p><u>Uwagi:</u> Wszystkie rekomendacje są poziomu 2A, oznacza to jednomyślny konsensus grupy roboczej NCCN, iż rekomendacja odzwierciedla najlepszą praktykę kliniczną oraz zalecenia oparte są o dowody umiarkowanej jakości.</p>
<p>NIH 2021 National Institutes of Health, National Cancer Institute (NIH), 2021, USA</p>	<p><u>Ostra białaczka szpikowa</u></p> <p>W przedstawionych w wytycznych NIH kryteriach odpowiedzi wskazano, iż metoda RT-qPCR stosowana jest przy ocenie całkowitej remisji w celu potwierdzenia braku choroby resztkowej (CR_{MRD}).</p> <p><i>HCT</i></p> <p>Niektórzy pacjenci w drugiej remisji z ATO doświadczyli długotrwałego DFS po autologicznym przeszczepie komórek macierzystych i można to rozważyć u pacjentów w remisji molekularnej (ujemny wynik w badaniu ilościową reakcją łańcuchową polimerazy [PCR] w próbce szpiku). Pacjenci, u których nie dochodzi do remisji lub mają dowody minimalnej choroby resztkowej w ilościowej PCR na próbce szp ku po terapii ratującej, są rozważani pod kątem allogenicznego HCT.</p> <p><u>Uwagi:</u> Nie wskazano siły powyższych rekomendacji ani jakości dowodów.</p>
<p>NIH 2021a National Institutes of Health, National Cancer Institute (NIH), 2021, USA</p>	<p><u>Przewlekła białaczka szpikowa</u> <i>Nawracająca CML</i></p> <p>Wykrycie translokacji BCR/ABL za pomocą RT-PCR podczas przedłużających się remisji samo w sobie nie stanowi nawrotu. Jednak wykładniczy spadek w pomiarach ilościowych RT-PCR przez 3 do 12 miesięcy koreluje ze stopniem odpowiedzi cytogenetycznej, podobnie jak wykładniczy wzrost może być związany z pomiarem ilościowym RT-PCR, które są ściśle związane z nawrotem klinicznym.</p> <p><i>Terapia celowana TKI</i></p> <p>Prawie wszyscy pacjenci, u których doszło do progresji choroby na podstawie badania ilościowego BCR/ABL RT-PCR, mogą być z powodzeniem ponownie włączeni do leczenia za pomocą poprzednio stosowanego TKI.</p> <p><u>Uwagi:</u> Nie wskazano siły powyższych rekomendacji ani jakości dowodów.</p>
<p>ELN 2020 European LeukemiaNet (ELN), 2020, Europa</p>	<p><u>Przewlekła białaczka szpikowa</u></p> <p>Ilościowy PCR nie jest obowiązkowa w momencie diagnozy.</p> <p>Monitorowanie odpowiedzi powinno być przeprowadzane w miarę możliwości za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy.</p> <p><u>Uwagi:</u> Nie wskazano siły powyższych rekomendacji ani jakości dowodów.</p>
<p>PTOK 2020 Polskie Towarzystwo</p>	<p><u>Ostra białaczka szpikowa</u></p>

Organizacja, rok (kraj/region)	Rekomendowane interwencje
<p>Onkologii Klinicznej (PTOK), 2020, Polska</p>	<p>W przedstawionych w wytycznych PTOK kryteriach odpowiedzi wskazano, iż metoda RT-qPCR stosowana jest przy ocenie całkowitej remisji w celu potwierdzenia braku choroby resztkowej (CR_{MRD}).</p> <p>Wyniki ostatnich badań wskazują, że monitorowanie MRD (ilościową metodą polimerazy reakcji łańcuchowej z odwrotną transkrypcją [RT-qPCR reverse transcription quantitative polymerase chain reaction] lub wielokolorowej cytometrii przepływowej) po leczeniu indukującym i konsolidującym dostarcza istotnych informacji prognostycznych.</p> <p><u>Uwagi:</u> Nie wskazano siły powyższych rekomendacji ani jakości dowodów.</p>
<p>PTOK 2020a Polskie Towarzystwo Onkologii Klinicznej (PTOK), 2020, Polska</p>	<p><u>Ostra białaczka limfoblastyczna i chłoniaki limfoblastyczne</u></p> <p>W trakcie leczenia allo-HSCT i po nim należy często monitorować MRD metodą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (RQ-PCR, real-time quantitative polymerase chain reaction), optymalnie co 4–6 tygodni. Pierwsze oznaczenie MRD po allo-HSCT powinno być przeprowadzone już po 4 tygodniach. U chorych, u których przed allo-HSCT lub po nim stwierdza się obecność transkryptu BCR-ABL1, należy przeprowadzić badanie mutacji BCR-ABL1, w szczególności badanie na obecność mutacji T315I.</p> <p><u>Uwagi:</u> Nie wskazano siły powyższych rekomendacji ani jakości dowodów.</p>
<p>PTOK 2020b Polskie Towarzystwo Onkologii Klinicznej (PTOK), 2020, Polska</p>	<p><u>Przewlekła białaczka szpikowa</u></p> <p>W celu rozpoznania CML niezbędne jest wykrycie chromosomu Ph w badaniu konwencjonalnej cytogenetyki lub genu BCR/ABL1 metodą PCR lub FISH.</p> <p>Kryteria odpowiedzi molekularnej:</p> <ul style="list-style-type: none"> • odpowiedź większa (MMR, major molecular response, MR3) — poziom transkryptu genu BCR/ABL wyrażona w [IS] ≤ 0,1% po konwersji z użyciem charakterystycznego dla laboratorium CF odpowiada ≥ 3-krotnej redukcji w skali logarytmicznej lub przynajmniej 1000-krotnej redukcji poziomu transkryptu w stosunku do wystandaryzowanej, uśrednionej wartości u chorych w chwili rozpoznania w badaniu RQ-PCR • głęboka odpowiedź molekularna obejmuje: <ul style="list-style-type: none"> ○ odpowiedź molekularną MR4: wykrywalna liczba transkryptu genu BCR-ABL1 ≤ 0,01% — odpowiada ≥ 4-krotnej logarytmicznej redukcji poziomu transkryptu, lub BCR/ABL1 niewykrywalny, jednak w badanej próbce wykryto ≥ 10 tys. kopii genu ABL1 ○ odpowiedź molekularną MR4,5: wykrywalny poziom transkryptu genu BCR-ABL1 ≤ 0,0032% ○ odpowiedź ≥ 4,5-krotnej logarytmicznej redukcji poziomu transkryptu, lub BCR/ABL1 niewykrywalny, ale w badanej próbce wykryto ≥ 32 tys. kopii genu ABL1 ○ odpowiedź molekularną MR5: poziom transkryptu BCR-ABL1 ≤ 0,001% — odpowiada ≥ 5-krotnej logarytmicznej redukcji poziomu transkryptu, lub BCR/ABL1 niewykrywalny, ale w badanej próbce wykryto ≥ 100 tys. kopii genu ABL1 <p>Nieosiągnięcie EMR (zmniejszenie liczby transkryptu genu BCR/ABL1 do ≤ 10%) w pierwszych 3 miesiącach od rozpoczęcia leczenia TKI wiąże się z mniejszym odsetkiem kilkuletnich EFS, PFS i OS, znikomą szansą na osiągnięcie głębokiej odpowiedzi molekularnej (MR4 lub MR4,5) oraz zwiększonym ryzykiem transformacji do fazy akceleracji AP lub fazy blastycznej BP (IIA). U tych chorych zaleca się wykonanie badań RQ-PCR w dodatkowych terminach lub przeprowadzenie analizy czasu połowicznej redukcji liczby transkryptu (HT, halving time) w celu oceny dynamiki spadku transkryptu (IIIA).</p> <p>Wykonywanie badań laboratoryjnych w diagnostyce i ocenie skuteczności leczenia inhibitorami kinaz tyrozynowych (TKI, tyrosine kinase inhibitors): RQ-PCR co 3 miesiące</p> <p>Wykrywaniu i identyfikacji różnych typów transkryptu genu BCR/ABL1 służy metoda RT-PCR w odmianie multipleks. Materiałem badawczym mogą być krew obwodowa lub szp.k. Ze względu na istotne znaczenie rokownicze oceny dynamiki wczesnej odpowiedzi molekularnej (EMR, early molecular response) w chwili rozpoznania zaleca się wykonać także ilościowe badanie reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (RQ-PCR, real-time quantitative polymerase chain reaction).</p> <p><u>Uwagi:</u> Nie wskazano opisu jakości dowodów.</p>
<p>ASCO 2018 American Society of Clinical Oncology (ASCO), 2018, USA</p>	<p><u>Białaczka ostra</u></p> <p><i>Wybrane markery molekularne w przygotowaniu do wykrywania MRD</i></p> <p>W wytycznych ASCO wskazano, iż badanie ilościowe PCR NPM1 w czasie rzeczywistym jest lepszym narzędziem diagnostycznym w monitorowaniu MRD w tych warunkach.</p> <p>Niedawny konsensus grupy roboczej European LeukemiaNet MRD sugerował, że do wykrywania molekularnych MRD preferowane jest badanie ilościową PCR w czasie rzeczywistym w porównaniu z badaniem za pomocą NGS i emulsyjnego PCR (ang. droplet digital PCR).</p> <p><u>Uwagi:</u> Nie wskazano siły powyższych rekomendacji ani jakości dowodów.</p>

Organizacja, rok (kraj/region)	Rekomendowane interwencje
<p>ELN 2017 European LeukemiaNet (ELN), 2017, Europa</p>	<p><u>Ostra białaczka szpikowa</u> Do wykrywania MRD można zastosować m.in. techniki molekularne, w tym ilościową reakcję łańcuchową polimerazy w czasie rzeczywistym (RT-qPCR). Obecnie dostępne są standaryzowane testy RTqPCR do wykrywania zmian genetycznych związanych z AML. U około 60% młodszych osób dorosłych komórki białaczki dostarczają informacji dla markera molekularnego, który można śledzić za pomocą testów RT-qPCR opartych na RNA. W przedstawionych w wytycznych ELN kryteriach odpowiedzi wskazano, iż metoda RT-qPCR stosowana jest przy ocenie całkowitej remisji w celu potwierdzenia braku choroby resztkowej (CR_{MRD}). <u>Uwagi:</u> Nie wskazano siły powyższych rekomendacji ani jakości dowodów.</p>
<p>ESMO 2017 European Society for Medical Oncology (ESMO), 2017, Europa</p>	<p><u>Przewlekła białaczka szpikowa</u> Ilościowy RT-PCR (qRT-PCR) mierzący poziom transkryptów BCR-ABL1 jako BCR-ABL1 % w skali międzynarodowej (ang. International Scale, IS) oraz analiza mutacji BCR-ABL1 nie są wymagane na początku. Wyjściowa analiza mutacji u pacjentów z nowo rozpoznaną przewlekłą białaczką szpikową nie jest zalecana, ponieważ nie udowodniono, że dostarcza ona informacji na temat optymalnego wyboru leczenia i przewidywania wyn ku terapeutycznego. W celu oceny odpowiedzi qRT-PCR zalecane jest co 3 miesiące, a w przypadku monitorowania odpowiedzi oraz leczenia qRT-PCR rekomendowane jest co 4–6 tygodni w pierwszym roku po zaprzestaniu leczenia. <u>Uwagi:</u> Nie wskazano siły powyższych rekomendacji ani jakości dowodów.</p>

Podsumowanie

W ramach wyszukiwania wytycznych praktyki klinicznej odnaleziono i włączono do analizy 13 dokumentów: NCCN 2022, NCCN 2022a, NCCN 2022b, NCCN 2022c, NIH 2021, NIH 2021a, PTOK 2020, PTOK 2020a, PTOK 2020b, ASCO 2018, ELN 2017, ESMO 2017. Włączone do analizy wytyczne praktyki klinicznej dotyczące procesu diagnostyczno-terapeutycznego białaczek wskazują na:

- możliwość zastosowania m.in. technik molekularnych, w tym ilościową reakcję łańcuchową polimerazy w czasie rzeczywistym (RT-qPCR) do wykrywania lub oceny MRD (NCCN 2022a, NCCN 2022b, NCCN 2022c, ASCO 2018, ELN 2017);
- stosowanie metody ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym w trakcie leczenia allo-HSCT i po nim w celu monitorowania MRD optymalnie co 4-6 tygodni (PTOK 2020a);
- zastosowanie metody RT-qPCR w ocenie całkowitej remisji w celu potwierdzenia braku choroby resztkowej (NIH 2021, PTOK 2020, ELN 2017);
- możliwość użycia m.in. badania RT-PCR wykrywającego BCR-ABL1 w B-ALL (ilościowo lub jakościowo), w tym określenie wielkości transkryptu (tj. p190 vs. p210) w celu badania limfoblastów szpiku lub krwi obwodowej pod kątem specyficznych nawracających nieprawidłowości genetycznych, co jest wymagane w procesie optymalnej stratyfikacji ryzyka i planowania leczenia (NCCN 2022a, NCCN 2022c);
- wykorzystanie w zakresie badań laboratoryjnych m.in. badanie Ilościową RT-PCR przy użyciu International Scale (IS) dla BCRABL1 (NCCN 2022, PTOK 2020b);
- możliwość zastosowania badania ilościowego BCR/ABL RT-PCR w wykrywaniu progresji (NIH 2021a);
- wykorzystanie RQ-PCR w kontroli skuteczności leczenia (PTOK 2020b);
- możliwości zastosowania qRT-PCR w celu oceny odpowiedzi (zalecane jest co 3 miesiące), oraz monitorowania odpowiedzi i leczenia (co 4–6 tygodni w pierwszym roku po zaprzestaniu leczenia) (ESMO 2017).

4.3.6. Uzasadnienie wyboru technologii alternatywnych

Na podstawie przekazanej opinii eksperckiej, analizy wytycznych praktyki klinicznej, a także analizy problemu decyzyjnego stwierdzono, iż obecnie brak jest innej alternatywnej, równoważnej metody diagnostycznej dla ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym.

Uzasadnienie:

Zgodnie z opinią Konsultanta Krajowego w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej: „Badania metodą PCR są rekomendowaną standardową metodą, ale muszą być uzupełnione badaniami metodą cytometrii przepływowej.”

W wytycznych wymieniane są inne technologie oznaczania RNA/DNA w tych samych wskazaniach co RQ-PCR. Obecnie w rutynowej diagnostyce do identyfikacji genów fuzyjnych stosuje się technikę fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH) i/lub RT-PCR. Powyższe metody to analizy jakościowe lub półilościowe, które pozwalają jedynie na potwierdzenie lub wykluczenie obecności genu. Zastosowanie reakcji real time PCR (RQ-PCR) umożliwia w krótkim czasie (3–4 dni) przeprowadzenie czulej analizy ilościowej poziomu transkryptu określonego genu fuzyjnego, co ma ogromne znaczenie kliniczne. Dokładne oznaczenie ilości genu fuzyjnego pozwala nie tylko na prawidłowe rozpoznanie kliniczne, ale także na wdrożenie właściwego algorytmu terapeutycznego oraz jego monitorowanie.

[KŚOZ]

Badanie diagnostyczne za pomocą cytometrii przepływowej nie stanowi komparatora, natomiast jest narzędziem komplementarnym w procesie diagnostyki genetycznej. Inne metody genetyczne, takie jak FISH i RT-PCR, są analizami jakościowymi lub półilościowymi, które pozwalają jedynie na potwierdzenie lub wykluczenie obecności genu. Nowsze modyfikacje metody PCR, służące do oznaczeń ilościowych, są tworzone, jednak znajdują się na wczesnym etapie wdrażania do praktyki klinicznej (np. emulsyjny PCR – ddPCR), dlatego też stwierdzono, iż obecnie brak jest innej alternatywnej, równoważnej metody diagnostycznej dla badania za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym.

5. Analiza skuteczności i bezpieczeństwa

5.1. Opis metodyki

W celu odnalezienia badań pierwotnych i/lub wtórnych dotyczących analizy ekspresji genu lub kilku genów (w tym genów fuzyjnych) przy użyciu metody real time PCR (RQ-PCR), dokonano przeszukiwania systematycznego w następujących bazach publikacji medycznych MEDLINE, EMBASE oraz Cochrane. Wyszukiwanie przeprowadzono dnia 13.10.2021 r. Zastosowane strategie wyszukiwania oraz diagram selekcji badań zostały przedstawione w rozdziale *Załączniki*.

W poniższej tabeli przedstawiono kryteria włączenia publikacji do niniejszego opracowania.

Tabela 18. Kryteria selekcji badań do przedmiotowego przeglądu

PICOS	Kryteria włączenia	Kryteria wyłączenia
Populacja	- pacjenci z białaczkami, - pacjenci z białaczkami i innymi chorobami hematologicznymi	Nie uwzględniono badań, w których populacja osób poddana badaniom real time PCR (RQ-PCR) wynosi < 50 osób. Z uwagi na niewskazanie w KŚOZ rozpoznania C90, do analizy nie włączano badań, w których populacją badaną byli pacjenci ze szpiczakiem mnogim.
Interwencja	Analiz ekspresji genu lub kilku genów (w tym genów fuzyjnych) przy użyciu metody real-time PCR (RQ-PCR).	Z analizy wyłączono publikacje opisujące badania wyłącznie przy użyciu metody RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) bez oznaczenia ilościowego Q-PCR (Quantitative Polymerase Chain Reaction, real-time PCR). Z analizy wyłączono publikacje, które nie dotyczyły stosowania badania RQ-PCR w celach diagnostycznych w warunkach klinicznych.
Komparator	- brak komparatora (kwalifikowano badania uwzględniające dowolny komparator)	Brak
Punkty końcowe	- czułość, swoistość i inne istotne w kontekście zastosowania RQ-PCR w diagnostyce i monitorowaniu przebiegu białaczki/chorób hematologicznych, - zgodność pomiędzy wynikami uzyskanymi metodą RQ PCR a innymi metodami stosowanymi w diagnostyce i monitorowaniu chorób hematologicznych, - w przypadku odnalezienia innych istotnych punktów końcowych, zostaną one włączone do analizy	Brak
Typ badania	W przypadku nieodnalezienia przeglądów systematycznych z metaanalizą i przeglądów systematycznych bez metaanalizy włączone zostaną badania pierwotne o najwyższym poziomie wiarygodności. Gdyby nie odnaleziono badań komparatywnych z wnioskowaniem o skuteczności i bezpieczeństwie, do analizy zostałyby włączone prospektywne badania obserwacyjne bez grupy kontrolnej. Gdyby nie odnaleziono badań obserwacyjnych do analizy zostałyby włączone inne badania oraz opisy serii przypadków. Włączono publikacje pełnotekstowe dostępne w postaci pełnych tekstów w języku polskim oraz angielskim.	Nie włączano publikacji dostępnych wyłącznie w postaci abstraktów konferencyjnych.

5.2. Opis badań włączonych do przeglądu

Po analizie pełnych tekstów do opracowania włączono łącznie 23 publikacje:

- 21 badań jednoramiennych (rodzaj badań: IV zgodnie z Klasyfikacją doniesień naukowych AOTMiT),
- 2 badania komparatywne (rodzaj badań: IIIB zgodnie z Klasyfikacją doniesień naukowych AOTMiT).

Szczegóły opis badań uwzględnionych w przeglądzie przedstawiono w rozdziale *Załączniki*. Wyniki włączonych do przeglądu badań zostały przedstawione w *Rozdziale 5.3*.

W związku z tym, iż w znacznej większości analizowanych badań jednoramiennych (18/21 badań) próbki materiału genetycznego pacjentów były poddawane badaniom za pomocą dwóch lub więcej metod diagnostycznych, w tabeli zawierającej wyniki punktów końcowych, w zakresie interwencji raportowano oba wskazane w publikacji badania diagnostyczne.

5.2.1. Zasady interpretacji wybranych punktów końcowych w chorobach nowotworowych układu krwiotwórczego uzyskanych przy pomocy RQ-PCR

Szybki postęp w zrozumieniu molekularnych podstaw chorób nowotworowych zaowocował powstaniem nowych terapii i znacznym rozbudowaniem dostępnej diagnostyki. Spowodował jednak również problemy w zapisie wyników badań molekularnych oraz w ich interpretacji oraz porównaniu danych pochodzących z różnych laboratoriów. Kluczowe stało się stworzenie standardów, które pozwoliłyby na ujednoczenie wykonywania badań i zasad zapisów wyników. W przypadku chorób nowotworowych układu krwiotwórczego istnieją standardy wykonywania, ujednoczona terminologia i zasady interpretacji danych oznaczeń molekularnych w poszczególnych typach nowotworów.

Niezbędnym krokiem, który umożliwił porównywanie wyników pomiędzy laboratoriami, było opracowanie protokołów laboratoryjnych i standardów wykonywania oznaczeń ilościowych za pomocą metody PCR. Kluczową rolę, zwłaszcza w przypadku ALL, pełnią wytyczne konsorcjum EURO-MRD. Doprecyzowują one techniczne aspekty wykonywania tego typu badania, co pozwala na uzyskanie powtarzalnych i spójnych wyników np. w przypadku określa MRD u dzieci z ALL w oparciu o klonalne rearanżacje genów kodujących immunoglobuliny (Ig) lub białka receptorowe limfocytów T (TCR) badaniem IG/TCR-qPCR.

[Van der Helden 2007]

W celu raportowania wyników uzyskanych przy użyciu RQ-PCR w diagnostyce białaczek, przede wszystkim CML, opracowano tzw. skalę międzynarodową IS (ang. The International Scale). Jest to skala logarytmiczna, w której wyznacza się wartość bazową oznaczonego produktu badanego genu referencyjnego na 100%, a następnie stopień redukcji ilości produktu względem wartości bazowej. Przykładowo wynik 0,1% odpowiada 3-krotnej redukcji ilości produktu i jest określany jako większa odpowiedź molekularna MMR (ang. Major Molecular Response).

W poniższej tabeli zestawiono często stosowane terminy związane z raportowaniem wyników pochodzących z oznaczeń RQ-PCR w chorobach nowotworowych układu krwiotwórczego.

Tabela 19. Wyjaśnienie terminów związanych z diagnostyką molekularną chorób nowotworowych układu krwiotwórczego

Termin	Skrót/symbol	Wyjaśnienie
Całkowita odpowiedź hematologiczna	CHR (ang. Complete Hematologic Responses)	Liczba leukocytów $< 10 \times 10^9/L$; brak niedojrzałych komórek; liczba płytek krwi $< 450 \times 10^9/L$; brak obrzęku śledziony.
Odpowiedź cytogenetyczna	CyR (ang. Cytogenetic Response)	Redukcja występowania komórek w chromosomem filadelfia (Ph+) wśród co najmniej 20 komórek metafazowych (chromosom filadelfia obecny w 1%–35% komórek).
Całkowita odpowiedź cytogenetyczna	CCyR (ang. Complete Cytogenetic Response)	Brak komórek Ph+ wśród co najmniej 20 komórek metafazowych.
Większa odpowiedź molekularna	MMR (ang. Major Molecular Response)	U pacjenta z CML występuje co najmniej 3-krotna redukcja poziomu transkryptu BCR-ABL w skali logarytmicznej.
Całkowita odpowiedź molekularna	CMR (ang. Complete Molecular Response)	U pacjenta z CML występuje co najmniej 4,5-krotna redukcja poziomu transkryptu BCR-ABL w skali logarytmicznej.

Termin	Skrót/symbol	Wyjaśnienie
Kappa Cohena	K (ang. Cohen's kappa)	Określa stopień zgodności dwukrotnych pomiarów tej samej zmiennej w różnych warunkach. Pomiaru tej samej zmiennej może dokonać dwóch różnych sędziów (odtworzalność) lub jeden sędzia może dokonać pomiaru dwukrotnie (powtarzalność). Współczynnik kappa wyznacza się dla zależnych zmiennych kategoryalnych, a jego wartość zawiera się w przedziale od -1 do 1. Wartość 1 oznacza pełną zgodność, wartość 0 oznacza zgodność na poziomie takim samym jaki powstałby dla losowego rozłożenia danych w tabeli kontyngencji. [PQStat]

[Bauer 2012]

5.3. Wyniki

5.3.1. Wyniki punktów końcowych w badaniach dotyczących diagnostyki nowotworów hematologicznych

Tabela 20. Wyniki w zakresie punktów końcowych w badaniach dotyczących diagnostyki nowotworów hematologicznych

	Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
Punkty końcowe związane z parametrami badania genetycznego	Zgodność analiz F-qRT-PCR i cytogenetycznych w wykrywaniu obecności genów fuzyjnych	Lyu 2017 <i>Badanie dwuramienne</i>	AML, ALL, CLL, CML, MDS lub inne niebiałaczkowe choroby hematologiczne, w tym chłoniaki	F-qRT-PCR, cytogenetyczna analiza rearanżacji w chromosomach <u>Kohorta ewaluacyjna:</u> pacjenci z AML, n=108 <u>Kohorta walidacyjna:</u> pacjenci z AML oraz z innym schorzeniem hematologicznym, n=345	99,1% (AML, n=108) 98,8% (n=345)	całkowita zgodność pomiędzy F-qRT-PCR a bad. cytogenetycznymi zgodność pomiędzy F-qRT-PCR a bad. cytogenetycznymi określona przez sumę przypadków zgodnych PCR-/Cyto (198) i PCR+/Cyto+ (143) jako stosunek do całkowitej liczby przypadków (345)
	Czułość	Kumar 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	AML	qPCR, sekwencjonowanie Sanger, pyrosekwencjonowanie	qPCR: 95%, Pyrosekwencjonowanie: 90%, Sekwencjonowanie Sangera: 80%	czułość trzech analizowanych metod
		Lyu 2017 <i>Badanie dwuramienne</i>	AML, ALL, CLL, CML, MDS lub inne niebiałaczkowe choroby hematologiczne, w tym chłoniaki	F-qRT-PCR, cytogenetyczna analiza rearanżacji w chromosomach <u>Kohorta ewaluacyjna:</u> pacjenci z AML, n=108 <u>Kohorta walidacyjna:</u> pacjenci z AML oraz z innym schorzeniem hematologicznym, n=345	F-qRT-PCR vs. bad. cytogenetyczne: 100% (AML, n=108)	porównanie czułości F-qRT-PCR i bad. cytogenetycznego
	Swoistość	Kumar 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	AML	qPCR, sekwencjonowanie Sanger, pyrosekwencjonowanie	qPCR: 100%, Pyrosekwencjonowanie: 100%, Sekwencjonowanie Sangera: 95%	swoistość trzech analizowanych metod
		Lyu 2017 <i>Badanie dwuramienne</i>	AML, ALL, CLL, CML, MDS lub inne niebiałaczkowe choroby hematologiczne, w tym chłoniaki	F-qRT-PCR, cytogenetyczna analiza rearanżacji w chromosomach <u>Kohorta ewaluacyjna:</u> pacjenci z AML, n=108 <u>Kohorta walidacyjna:</u> pacjenci z AML oraz z innym schorzeniem hematologicznym, n=345	F-qRT-PCR vs. bad. cytogenetyczne: 97,1% (AML, n=108)	porównanie swoistości F-qRT-PCR i bad. cytogenetycznego

	Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
Punkty końcowe związane z fuzją/translokacją	Minimalny limit detekcji mutacji	Kumar 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	AML	qPCR, sekwencjonowanie Sanger, pyrosekwencjonowanie	qPCR: 0,1%–1%, Pyrosekwencjonowanie: 1%–5%, Sekwencjonowanie Sangera: 20%–30%	minimalny limit detekcji mutacji przez 3 metody
	Wykrycie mutacji	Kumar 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	AML	qPCR, sekwencjonowanie Sanger, pyrosekwencjonowanie	qPCR: 30,90% (51/165), Pyrosekwencjonowanie: 31,51% (52/165), Sekwencjonowanie Sangera: 27,87% (46/165)	liczba i procent mutacji wykrytych przez 3 metody
	Wykrycie translokacji genu	Lyu 2017 <i>Badanie dwuramienne</i>	AML, ALL, CLL, CML, MDS lub inne niebiałaczkowe choroby hematologiczne, w tym chłoniaki	F-qRT-PCR, cytogenetyczna analiza rearanżacji w chromosomach <u>Kohorta ewaluacyjna:</u> pacjenci z AML, n=108 <u>Kohorta walidacyjna:</u> pacjenci z AML oraz z innym schorzeniem hematologicznym, n=345	F-qRT-PCR: 69,4%, bad. cytogenetyczne: 68,5%	porównanie wykrycia translokacji genu za pomocą F-qRT-PCR i bad. cytogenetycznego
	Całkowite wykrycie fuzji genów	Lyu 2017 <i>Badanie dwuramienne</i>	AML, ALL, CLL, CML, MDS lub inne niebiałaczkowe choroby hematologiczne, w tym chłoniaki	F-qRT-PCR, cytogenetyczna analiza rearanżacji w chromosomach <u>Kohorta ewaluacyjna:</u> pacjenci z AML, n=108 <u>Kohorta walidacyjna:</u> pacjenci z AML oraz z innym schorzeniem hematologicznym, n=345	F-qRT-PCR: 53,7%, bad. cytogenetyczne: 52,9% (białaczki), obie metody: 9,1% (bez białaczki)	całkowite wykrycie fuzji genów metodą F-qRT-PCR, bad. cytogenetycznym w białaczce i obiema metodami u pacjentów bez białaczki
	Wykrycie genu fuzyjnego	Lyu 2017 <i>Badanie dwuramienne</i>	AML, ALL, CLL, CML, MDS lub inne niebiałaczkowe choroby hematologiczne, w tym chłoniaki	F-qRT-PCR, cytogenetyczna analiza rearanżacji w chromosomach <u>Kohorta ewaluacyjna:</u> pacjenci z AML, n=108 <u>Kohorta walidacyjna:</u> pacjenci z AML oraz z innym schorzeniem hematologicznym, n=345	97,3% (CML), 69,4% (AML), 33,3% (ALL), 9,1% (MDS), 0% (CLL)	wykrycie genu fuzyjnego metodą F-qRT-PCR

5.3.2. Podsumowanie wyników badań w zakresie diagnostyki nowotworów hematologicznych

W ramach wyszukiwania systematycznego odnaleziono łącznie dwa badania pierwotne: jedno badanie jednoramienne **Kumar 2018**, w którym populacją byli pacjenci z ostrą białaczką szpikową oraz jedno badanie dwuramienne **Lyu 2017**, z bardziej zróżnicowaną populacją pacjentów obejmującą ostrą białaczkę szpikową, ostrą białaczkę limfoblastyczną, przewlekłą białaczkę limfoblastyczną, przewlekłą białaczkę szpikową, zespołami mielodysplastycznymi lub innymi niebiałaczkowymi chorobami hematologicznymi, w tym chłoniakami, odnoszące się do zastosowania badania RQ-PCR w diagnostyce wstępnej.

W badaniu **Lyu 2017** oceniano zgodność analiz F-qRT-PCR i cytogenetycznych w wykrywaniu obecności genów fuzyjnych, która wyniosła 99,1%. Zastosowanie metody F-qRT-PCR pozwala na szybkie i precyzyjne wykrycie fuzji genów powszechnie spotykanych w białaczkach z porównywalną dokładnością do konwencjonalnych metod cytogenetycznych. W zakresie wyników dotyczących czułości, w badaniu **Kumar 2018**, w którym porównywano qPCR, pyrosekwencjonowanie oraz sekwencjonowanie Sanger, czułość wynosiła odpowiednio: 95%, 90%, 80%, co oznacza, że RQ-PCR było metodą najbardziej czułą z spośród badanych. W badaniu **Lyu 2017** czułość oceniana była pomiędzy dwiema metodami: F-qRT-PCR a cytogenetyczną analizą rearanżacji w chromosomach, która wyniosła 100%. Cytogenetyczna analiza rearanżacji jest metodą mniej czułą, a qRT-PCR może wykazywać lepszą skuteczność oraz czułością w diagnostyce. W jednym z badań (**Kumar 2018**) oceniano również swoistość dla trzech analizowanych metod, która wyniosła: qPCR – 100%, pyrosekwencjonowanie – 100% i sekwencjonowanie Sanger – 95%. Pod względem swoistości wszystkie trzy metody wykazały wysoką i zbliżoną do siebie specyficzność. Równie wysoki wynik w zakresie swoistości pomiędzy dwiema metodami: F-qRT-PCR i badaniem cytogenetycznym, uzyskano w badaniu **Lyu 2017** i wyniósł on 97,1%.

W publikacji **Kumar 2018** raportowano wyniki punktów końcowych związanych z minimalnym limitem detekcji mutacji oraz wykryciem mutacji. Minimalny limit detekcji mutacji określony za pomocą 3 metod wynosił odpowiednio: qPCR: 0,1%–1%, pyrosekwencjonowanie: 1%–5%, sekwencjonowanie Sangera: 20%–30%. Granica wykrywania mutacji przez qPCR wynosiła 0,1%–1%, która była najniższa ze wszystkich trzech technik, co wiąże się z tym, iż qPCR okazał się najlepszą techniką do wykrywania minimalnej choroby resztkowej w porównaniu z pyrosekwencjonowaniem, który ma granicę wykrywania 1%–5%. W zakresie wykrywania mutacji, wyniki były następujące: qPCR: 30,90% (51/165), pyrosekwencjonowanie: 31,51% (52/165), sekwencjonowanie Sangera: 27,87% (46/165).

W publikacji **Lyu 2017** porównano odsetek wykrycia translokacji genu, który zbadano za pomocą dwóch metod: F-qRT-PCR oraz cytogenetyczną analizą rearanżacji. Translokacje genów wykryte za pomocą F-qRT-PCR w populacji pacjentów z ostrą białaczką szpikową zdiagnozowano u 69,4% kohorty pacjentów, co było porównywalne do 68,5% zdiagnozowanych na podstawie analizy cytogenetycznej. Punkty końcowe dotyczące wykrycia genów fuzyjnych były oceniane w badaniu **Lyu 2017**. Raportowano całkowite wykrycie fuzji genów u pacjentów z białaczką i zdrowych z użyciem F-qRT-PCR i cytogenetycznej analizy rearanżacji w chromosomach. Całkowitą fuzję genów wykryto metodą F-qRT-PCR u 53,7% testowanych pacjentów, w porównaniu z 52,9% pacjentów z białaczką, u których zastosowano badanie cytogenetyczne. 9,1% wartość wykrycia fuzji genów uzyskano obiema metodami u pacjentów bez białaczki. Dane te pokazują, iż zastosowanie metody F-qRT-PCR opartej na wielu fuzjach genowych jako skutecznej jednoetapowej procedury diagnostycznej może stanowić alternatywę dla długich konwencjonalnych procedur diagnostycznych wymagających analizy cytogenetycznej. W zakresie wykrywania genów fuzyjnych (badanie **Lyu 2017**), w których celu użyto metody F-qRT-PCR, najliczniej fuzje genów obserwowano u pacjentów z CML z częstotliwością 97,6%, następnie AML (69,4%), ALL (33,3%) i MDS (9,1%). W żadnym z 15 przypadków pacjentów z CLL nie wykryto genów fuzyjnych.

Podsumowując, punkt końcowy dotyczący zgodności analiz ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym i cytogenetycznych w wykrywaniu obecności genów fuzyjnych w badaniach odnoszących się do zastosowania metody RQ-PCR w diagnostyce wstępnej białaczek, głównie ostrej białaczki szpikowej, został poddany analizie w jednej publikacji (**Lyu 2017**). Na podstawie wspomnianego wcześniej badania można wywnioskować, iż RQ-PCR pozwala na szybkie i precyzyjne wykrycie fuzji genów powszechnie spotykanych w białaczkach z porównywalną dokładnością do konwencjonalnych metod cytogenetycznych. W dwóch analizowanych badaniach (**Kumar 2018**, **Lyu 2017**) przedstawiono również wyniki dotyczące czułości, które świadczą o tym, iż RQ-PCR może wykazywać wyższą czułość w diagnostyce (**Kumar 2018**, **Lyu 2017**).

W zakresie swoistości porównanie trzech metod takich jak RQ-PCR, sekwencjonowanie Sanger, pyroseqwencjonowanie, wskazało iż, wszystkie trzy metody wykazały wysoką i zbliżoną do siebie specyficzną (Kumar 2018), a w przypadku RQ-PCR kontra konwencjonalne metody cytogenetyczne uzyskano równie wysoki wynik (Lyu 2017).

W jednej z publikacji (Lyu 2017) przedstawiono również wyniki dotyczące detekcji całkowitej fuzji genów, które wskazują na to, iż odsetek wykrywania był wyższy w sytuacji, w której zastosowano metodę RQ-PCR w porównaniu do badania cytogenetycznego. Dodatkowo, w jednej z publikacji (Kumar 2018) wskazano również, iż minimalny limit detekcji mutacji był najniższy w przypadku metody RQ-PCR.

U pacjentów z ostrą białaczką szpikową badanie za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym pozwala na szybkie i precyzyjne wykrycie fuzji genów powszechnie spotykanych w białaczce, a także wykazuje się lepszą czułością oraz wysoką swoistością.

5.3.3. Wyniki punktów końcowych w badaniach dotyczących monitorowania minimalnej choroby resztkowej

Tabela 21. Wyniki w zakresie punktów końcowych w badaniach dotyczących monitorowania minimalnej choroby resztkowej

	Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
Pacjenci z ALL						
Punkty końcowe związane z parametrami badania genetycznego	Zgodność	Modvig 2021 <i>Badanie jednoramienne</i>	BCP-ALL	IG/TCR-QPCR, FCM	$\kappa=0,77$ (CI 0,69–0,84), n=331 FCMdet/PCRDet=81,2% PCRDet/FCMdet=94,1% 18,1%	wokół poziomu odcięcia stratyfikacji 10^{-3} w dniu 29. w dniu 29. odsetek pacjentów z MRD wykrytym metodą FCM wśród pacjentów z MRD wykrytym metodą PCR w dniu 29. odsetek pacjentów z MRD wykrytym metodą PCR wśród pacjentów z MRD wykrytym metodą FCM ogólny odsetek niezgodnych przypadków
		Thorn 2021 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL (dzieci)	RQ-PCR, FCM	84%	zgodność wyniku RQ-PCR i FCM MRD w 29 dniu, n=178
		Theunissen 2017 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL BCP	RQ-PCR, FCM	74% (169/227) 18% (41/227) 4% (10/227) 3% (7/227)	FCM+/PCR+ FCM-/PCR- FCM-/PCR+ FCM+/PCR-
		Della-Starza 2016 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL	RQ-PCR, ddPCR	88% (124/141), p=0,94	-
		Denys 2013 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL (dzieci)	RQ PCR, FC	39,2% (219/559) ponad trzykrotna różnica – 20% (44/219) ponad 10-krotna różnica – 8% (7/219)	próbki były dobrze skorelowane w próbkach dodatnich; obie metody -
		Garand 2013 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL	IG/TCR-QPCR, MFC	96% 84% $r^2 = 0,87$	ogólna zgodność jakościowa zgodność wyników pozytywnych silna korelacja wartości MRD $\geq 0,01\%$
		Gaipa 2012	ALL (dzieci)	RQ PCR, FC	80% (2160/2701)	ogólna zgodność

	Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
		<i>Badanie jednoramienne</i>			86% (405/471) 70% (787/1115) 87% (968/1115)	w 15. dniu w 33.dniu w 78. dniu
	Odsetek niezgodnych przypadków	Della-Starza 2016 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL	RQ-PCR, ddPCR	3% (4/141) 9% (13/141)	ddPCR+, RQ-PCR- ddPCR-, RQ-PCR+
	Wartość predykcyjna dodatnia FCM w stosunku do PCR	Gaipa 2012 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL (dzieci)	RQ PCR, FC	98% 74% 77%	w 15. dniu w 33.dniu w 78. dniu
	Wartość predykcyjna ujemna FCM w stosunku do PCR	Gaipa 2012 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL (dzieci)	RQ PCR, FC	22% 69% 87%	w 15. dniu w 33.dniu w 78. dniu
	Korelacja między poziomami PCR-MRD a FCM-MRD	Modvig 2021 <i>Badanie jednoramienne</i>	BCP-ALL	IG/TCR-QPCR, FCM	r=0,77; p<0,0001 ; n=153 r=0,83; p<0,0001 ; n=183	w dniu 15. w dniu 29.
		Modvig 2019 <i>Badanie jednoramienne</i>	T-ALL z MRD	FCM, RT-qPCR	r=0,85; p<0,0001 ; n=115 zgodność: średnia 65% r=0,73; p<0,0001 ; n=80 zgodność: 82%	w dniu 15. w dniu 29.
Punkty końcowe związane z minimalną chorobą resztkową	Wystąpienie niewykrywalnego MRD (ang. undetectable MRD)	Modvig 2021 <i>Badanie jednoramienne</i>	BCP-ALL	IG/TCR-QPCR, FCM	37,2% (123/331)	w dniu 29. przez FCM i/lub PCR
	Obecność MRD	Garand 2013 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL	IG/TCR-QPCR, MFC	IG/TCR-QPCR: 86% (205/238) MFC: 94% (223/238)	obecność markera MRD o czułości 0,01%
	Mediana wartości MRD	Thorn 2021 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL (dzieci)	IG/TCR RQ-PCR, FCM	RQ-PCR: 1,26% (B-ALL), 0,20% (T-ALL) FCM: 0,05% (B-ALL), 0,01% (T-ALL) RQ-PCR: 0,02% (B-ALL), 0,03% (T-ALL) FCM: 0,01% (B-ALL), 0,01% (T-ALL)	w 15. dniu w 29. dniu

	Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
Punkty końcowe związane z nawrotem choroby	5-letnia skumulowana częstość występowania nawrotu (CIR _{5y})	Modvig 2021 <i>Badanie jednoramienne</i>	BCP-ALL	IG/TCR-QPCR, FCM	9,5% (CI 7,8–11,3%) 3,2% (CI 1,9–6,85%) 4,9% (CI 0–11,8%) 2,2% (CI 0–6,4%) 0	całkowita pacjenci z wykrywalnym MRD w 29. dniu (n=123) pacjenci z wykrywalnym MRD w dniu 29. obiema metodami (n=62); FCM-MRD czułość 6×10^{-5} / 8×10^{-5} , PCR-MRD czułość 1×10^{-5} / 5×10^{-4} dla dwóch pacjenci z wykrywalnym FCM-MRD, ale wykrywalnym PCR-MRD (n=48) pacjenci z wykrywalnym FCM-MRD, ale wykrywalnym PCR-MRD (n=13)
	Skumulowana częstość występowania nawrotu (CIR)	Modvig 2019 <i>Badanie jednoramienne</i>	T-ALL z MRD	FCM, RT-qPCR	14,1% (95% CI: 10–19) 6,3% (95% CI: 2,1–11%) 22,5% (95% CI: 15–30%)	całkowite, n=274 pacjenci średniego ryzyka w 29. dniu, n=136/274 pacjenci wysokiego ryzyka lub kwalifikowani do transplantacji komórek krwiotwórczych (HSCT) w 15. lub 29. dniu, n=134/274
	Ryzyko nawrotu (współczynnik ryzyka dla nawrotu choroby)	Modvig 2019 <i>Badanie jednoramienne</i>	T-ALL z MRD	FCM, RT-qPCR	FCM-MRD $\geq 10^{-3}$: HR=3,55 (95% CI: 1,4–9,0); p=0,008 vs PCR-MRD $\geq 10^{-3}$: HR=5,6 (95% CI: 2,0–16); p=0,001	w dniu 29.
	Wartość predykcyjna dla nawrotu	Modvig 2019 <i>Badanie jednoramienne</i>	T-ALL z MRD	FCM, RT-qPCR	FCM-MRD $\geq 10^{-3}$: 92,2% PCR-MRD $\geq 10^{-3}$: 95,8%	- -
	Współczynnik ryzyka dla dowolnego zdarzenia (śmierć, nawrót choroby, wtórny nowotwór złośliwy)	Modvig 2019 <i>Badanie jednoramienne</i>	T-ALL z MRD	FCM, RT-qPCR	FCM-MRD $\geq 10^{-3}$: HR=2,9 (95% CI: 1,4–5,8); n=188; p=0,0036 vs. PCR MRD $\geq 10^{-3}$: HR=3,8 (95% CI: 1,8–8,3); n=171; p=0,0008	w dniu 29.

	Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
Punkty końcowe związane z przeżyciem	5-letnie przeżycie wolne od zdarzeń (EFS _{5y})	Modvig 2021 <i>Badanie jednoramienne</i>	BCP-ALL	IG/TCR-QPCR, FCM	86,1%	całkowite
		Modvig 2019 <i>Badanie jednoramienne</i>	T-ALL z MRD	FCM, RT-qPCR	74,8% (95% CI: 70–80) 88,5% (95% CI: 83–94%) 62,9% (95% CI: 55–72%)	ogółem (n=274) pacjenci średniego ryzyka (IR) w 29. dniu, n=136/274 pacjenci wysokiego ryzyka (HR) lub kwalifikowani do (HSCT) w 15. lub 29. dniu, n=134/274
		Gaipa 2012 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL (dzieci)	RQ PCR, FC	91,6%	przypadki zgodne z ujemnym wynikiem dla MRD (n=564) w 33. dniu
					50,9%	przypadki zgodne z dodatnim wynikiem dla MRD (n=223) w 33. dniu
					77,1% vs 50,9% p<0,001	niezgodne przypadki FCM- i PCR+ w 33. dniu zgodne przypadki FCM+ i PCR+ w 33. dniu
81,9% vs 91,6% p=0,02	negatywne przypadki PCR MRD niezgodnie dodatnie wartości FCM MRD (80 pacjentów) w 33. dniu zgodne przypadki, które miały ujemny wynik FCM MRD w 33. dniu					
Pacjenci z AML						
Punkty końcowe związane z parametrami badania genetycznego	Zgodność	Ouyang 2016 <i>Badanie jednoramienne</i>	CBF-AML	MFC, qRT-PCR	$\kappa=0,041$ $\kappa=0,083$ $\kappa=0,164$	n=44; po fazie indukcji n=108; w fazie konsolidacji n=107; w fazie follow-up
		Zhang 2014 <i>Badanie jednoramienne</i>	AML1/ETO AML (dzieci) w fazie indukcji	RQ-PCR, RT-PCR	89,1% (296/332)	wszystkie 36 niezgodnych próbek dało wynik negatywny na obecność transkryptu w oznaczeniu RT-PCR a pozytywny w oznaczeniu RQ-PCR
PLC		Willekens 2016	AML	RQ-PCR	70% (52/74)	krew obwodowa

Analiza ekspresji genu lub kilku genów (w tym genów fuzyjnych) przy użyciu metody Real-time PCR WS.430.4.2018 (RQ-PCR) - ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym.

	Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
	Całkowita odpowiedź molekularna	<i>Badanie jednoramienne</i>			30% (22/74)	szpik kostny
	Średni czas od remisji do całkowitej odpowiedzi molekularnej	Willekens 2016 <i>Badanie jednoramienne</i>	AML	RQ-PCR	2,5 mies.	-
	Średnia liczba kopii transkryptu badanego genu w momencie diagnozy	Zhang 2014 <i>Badanie jednoramienne</i>	AML1/ETO AML (dzieci)	RQ-PCR	30 464 (zakres 516–184 138)	-
Punkty końcowe związane z nawrotem choroby	4-letnie CIR	Willekens 2016 <i>Badanie jednoramienne</i>	AML	RQ-PCR	33,3% (95%CI: 24,4–44,4) 26,6% 51,2% SHR (Specific Hazard Ratio)=0,25 p=0,001	ogólne u pacjentów, którzy uzyskali całkowitą odpowiedź molekularną u pacjentów, którzy nie uzyskali całkowitej odpowiedzi molekularną -
	5-letnie CIR	Zhang 2014 <i>Badanie jednoramienne</i>	AML1/ETO AML (dzieci) w stadium remisji	RQ-PCR, RT-PCR	RQ-PCR: 58,8±5,5% vs 13,3 ± 0,8% p=0,0018	dla pacjentów z liczbą kopii transkryptu powyżej 306 dla pacjentów z liczbą kopii transkryptu poniżej 306
	Nawrót	Zhang 2014 <i>Badanie jednoramienne</i>	AML1/ETO AML (dzieci)	RQ-PCR, RT-PCR	22,6% (14/62)	-
	Ryzyko nawrotu	Ouyang 2016 <i>Badanie jednoramienne</i>	CBF-AML	MFC, qRT-PCR	qRT-PCR <0,01%: 0% (0/8) qRT-PCR 0,01%–0,1%: 0% (0/7) qRT-PCR 0,1%–1%: 28% (7/25) qRT-PCR 1%–10%: 33% (5/15) qRT-PCR >10%: 50% (2/4)	wynik qRT-PCR wyrażony w procentach to stosunek ilości transkryptu genów fuzyjnych RUNX1/RUNX1T1 i CBFβ/MYH11 do transkryptu ABL1
	Całkowita remisja	Zhang 2014 <i>Badanie jednoramienne</i>	AML1/ETO AML (dzieci)	RQ-PCR, RT-PCR	96,8% (60/62)	-

Analiza ekspresji genu lub kilku genów (w tym genów fuzyjnych) przy użyciu metody Real-time PCR WS.430.4.2018 (RQ-PCR) - ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym.

	Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
Punkty końcowe związane z przeżyciem	5-letni DFS	Zhang 2014 <i>Badanie jednoramienne</i>	AML1/ETO AML (dzieci)	RQ-PCR, RT-PCR	64,4±6,7%	-
	Szacunkowe 4-letnie OS	Willekens 2016 <i>Badanie jednoramienne</i>	AML	RQ-PCR	83,4% (95%CI: 74,0–89,7)	-
	Całkowite przeżycie	Zhang 2014 <i>Badanie jednoramienne</i>	AML1/ETO AML (dzieci)	RQ-PCR, RT-PCR	65,6±6,5%	-
Pacjenci z CLL						
Punkty końcowe związane z parametrami badania genetycznego	Zgodność	Raponi 2014 <i>Badanie jednoramienne</i>	CLL	ASO IgH RQ-PCR, FC MRD	81,9% (199/243) 77,3% (143/185) 22,7% (42/185)	FC MRD+/PCR MRD+ lub FC MRD-/PCR MRD- FC MRD-/PCR MRD- FC MRD-/PCR MRD+
	Czułość FC w porównaniu do PCR	Raponi 2014 <i>Badanie jednoramienne</i>	CLL	ASO IgH RQ-PCR, FC MRD	96,5%	-
	Swoistość FC w porównaniu do PCR	Raponi 2014 <i>Badanie jednoramienne</i>	CLL	ASO IgH RQ-PCR, FC MRD	77,2%	-
	Wartość predykcyjna dodatnia FC	Raponi 2014 <i>Badanie jednoramienne</i>	CLL	ASO IgH RQ-PCR, FC MRD	57,1%	-
	Wartość predykcyjna ujemna FC	Raponi 2014 <i>Badanie jednoramienne</i>	CLL	ASO IgH RQ-PCR, FC MRD	98,6%	-
Punkty końcowe związane z minimalną chorobą resztkową	Wystąpienie MRD	Raponi 2014 <i>Badanie jednoramienne</i>	CLL	ASO IgH RQ-PCR, FC MRD	50% (49/98) 44,9% (44/98)	ASO IgH RQ-PCR+ z ilościowym zakresem ASO IgH RQ-PCR+ poza ilościowym zakresem
	Mediana wartości MRD	Raponi 2014 <i>Badanie jednoramienne</i>	CLL	ASO IgH RQ-PCR, FC MRD	$1,3 \times 10^{-3}$ (zakres: $2,6 \times 10^{-1} - 1 \times 10^{-4}$)	całkowita mediana
		Raponi 2014	CLL		63,2% (31/49)	poziom MRD $>10^{-4}$

	Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
	Poziom detekcji MRD	<i>Badanie jednoramienne</i>		ASO IgH RQ-PCR, FC MRD	36,7% (18/49)	poziom MRD=10 ⁻⁴
Punkt końcowe związane z przeżyciem	Przeżycie wolne od progresji (PFS)	Raponi 2014 <i>Badanie jednoramienne</i>	CLL	ASO IgH RQ-PCR, FC MRD	PB MRD+ (n=29) vs. PB MRD- (n=11): 57,5% vs. 100% p=0,030 BM MRD+ (n=28) vs. PB MRD- (n=11): 56,1% vs. 100% p=0,024	po 36 miesiącach po 36 miesiącach
Pacjenci z CML						
Punkty końcowe związane z parametrami badania genetycznego	Zgodność	Cortés 2020 <i>Badanie dwuramienne</i>	CML	qPCR, ddPCR	98,7%; n=37 κ=0,94 (95% CI: 0,90–0,98); p<0,001 95,5%; n=40 (≥MR ³) κ=0,81 (95% CI: 0,68–0,94); p<0,001 18% (9/50) – wynik niezgodny p=0,5 (test McNemara)	odsetek próbek badanych qPCR i ddPCR odsetek próbek z ≥MR ³ badanych qPCR i ddPCR zgodność czułości wykrywania BCR/ABL (qPCR i ddPCR)
		Wang 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML-CP	ddPCR, RT-qPCR	R ² ≥0,99* Brak statystycznej różnicy między wartościami obliczonymi i rzeczywistymi (p>0,05).	zgodność wyników ddPCR i RT-qPCR (analiza czułości i korelacji) * kwadrat współczynnika korelacji liniowej (im wyższa wartość, tym silniejsza korelacja, przyjmuje wartości: od -1 do 1)
	ICCa – bezwzględny współczynnik korelacji wewnątrzklasowej i współczynnik korelacji zgodności Lin'a	Cortés 2020 <i>Badanie dwuramienne</i>	CML	qPCR, ddPCR	n=28 ICCa=0,868 (95% CI: 0,734–0,937); p<0,001 ; (wysoka rzetelność pomiaru) współczynnik korelacji zgodności Lin'a=0,863 n=18 (≥MR ³): ICCa=0,743 (95% CI: 0,430–0,896); p<0,001 ; (wysoka rzetelność pomiaru) współczynnik korelacji zgodności Lin'a=0,734	- „0” oznacza brak zgodności, „1” całkowita zgodność

Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
Korelacja między RT-qPCR i dPCR dla ABL1, BCR-ABL1, % BCR-ABL1/ABL1 i % BCR-ABL1/ABL1 IS.	Franke 2020 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	RT qPCR, ddPCR	<p>n=230</p> <p>Mediana liczby kopii:</p> <p>1. ABL1 (CN): dPCR: 59,350 (7,690–176,000) vs. RT-qPCR: 53,537 (4,013–250,800) Korelacja: 0,85</p> <p>2. BCR-ABL1 (CN): dPCR: 12,25 (0–2,050) vs. RT-qPCR: 10,45 (0–1,529) Korelacja: 0,81</p> <p>Mediana stosunku: %BCR-ABL1/ABL1: dPCR: 0,022% (0%–2,783%) vs. RT-qPCR: 0,019% (0%–6,881%) Korelacja: 0,61</p> <p>Wartości skorygowane na skalę międzynarodową: Mediana %BCR-ABL1/ABL1 IS: RT-qPCR: 0,014 (0–2,380) Korelacja: 0,83</p> <p>23% (n=53) stosunek BCR-ABL1/ABL1 >0,1% (dPCR) vs 25% (n=57) przed konwersją do IS 17% (n=39) po konwersji do IS (RT-qPCR)</p>	-

	Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
Punkty końcowe związane z fuzją/translokacją	Granica wykrywalności (próg)	Franke 2020 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	RT-qPCR, ddPCR	BCR-ABL1/ABL1: 0,0032% (IS) lub mniej zarówno metodą dPCR, jak i RT-qPCR dla >77% próbek	-
	Liczba wystąpień wyników (wykrywalnych transkryptów BCR-ABL) odpowiedzi molekularnej <MR ³	Arpinati 2013 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	RT Q-PCR	1 wystąpienie: 55,8% (29/52) 2 wystąpienia: 32,7% (17/52) ≥3 wystąpień: 11,5% (6/52) 83% (52/63) 17% (11/63)	- min. 1 raz wykrywalny poziom transkryptów, ze stosunkiem BCR-ABL/ABL <0,1% zdefiniowanym jako <MR ³ (remisja molekularna <0,1%), trwałe, niewykrywalne transkrypty BCR-ABL
	Wykrywalność choroby resztkowej przez poziom ekspresji BCR/ABL	Wang 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML-CP (choroba w fazie przewlekłej)	ddPCR, RT-qPCR	RT-qPCR: 100% ujemne ddPCR: 18,03% (11/61) dodatnie, 81,97% (50/61) ujemne wskaźnik wykrywalności: p<0,01 RT-qPCR i ddPCR (MR ^{3,5}): 9,84% (6/61)	poziom wykrywalności BCR/ABL(P210) w RT-qPCR i ddPCR wykrywalność BCR/ABL(P210) (wyniki pozytywne)
	Czas pojawienia się pierwszego dodatniego wyniku	Wang 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML-CP	ddPCR, RT-qPCR	Czas wykrycia pozytywnego wyniku za pomocą dd-PCR nastąpił o 3 miesiące wcześniej niż przez RT-qPCR. 40% (4/10)	- liczba próbek, w których czas wykrycia pozytywnego wyniku był różny dla ddPCR i RT-qPCR
Punkty końcowe związane z odpowiedzią molekularną	Utrata odpowiedzi molekularnej MR ^{4,5}	Wang 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML-CP	ddPCR, RT-qPCR	13,2% (10/76) – spadek z MR ^{4,5} do MR ^{4,0}	liczba próbek, w których odnotowano spadek odpowiedzi molekularnej (4- lub 4,5-krotna logarytmiczna redukcja poziomu transkryptu)
	Czas do pojawienia się pierwszej odpowiedzi molekularnej <MR ³ (mierzony w latach po transplantacji)	Arpinati 2013 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	RT Q-PCR	19,2% (10/52) <1 roku 26,9% (14/52): 1–5 lat 53,9% (28/52): >5 lat	liczba pacjentów w różnym czasie po transplantacji

Analiza ekspresji genu lub kilku genów (w tym genów fuzyjnych) przy użyciu metody Real-time PCR WS.430.4.2018 (RQ-PCR) - ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym.

	Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
Punkty końcowe związane z nawrotem choroby	Nawrót choroby	Arpinati 2013 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	RT Q-PCR	11,5% (6/52)	pacjenci z nawrotem choroby to osoby z grupy <MR3. Żaden z pacjentów z przetrwałymi niewykrywalnymi transkryptami nie miał nawrotu. Mediana czasu obserwacji wyniosła 2142 dni (zakres:1419-3746)
	Prawdopodobieństwo nawrotu choroby	Arpinati 2013 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	RT Q-PCR	15,8% p=0,19	-

5.3.4. Podsumowanie wyników badań dotyczących monitorowania minimalnej choroby resztkowej

Populacja pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną

Odnaleziono łącznie osiem jednoramiennych badań pierwotnych: Modvig 2021, Thorn 2021, Modvig 2019, Theunissen 2017, Della-Starza 2016, Denys 2013, Garand 2013, Gaipa 2012, w których populacją byli pacjenci z ostrą białaczką limfoblastyczną, odnoszących się do zastosowania badania RQ-PCR w wykrywaniu minimalnej choroby resztkowej, w ramach wyszukiwania systematycznego.

W zakresie wyników dotyczących zgodności pomiędzy IG/TCR-QPCR a FC w badaniu **Modvig 2021** współczynnik kappa Cohena wyniósł $\kappa=0,77$ (95%CI: 0,69–0,84), w przypadku którego wartość wynosząca 1 oznacza pełną zgodność. W publikacji **Garand 2013** ogólna zgodność jakościowa wyniosła 96%, a wartości MRD uzyskane za pomocą IG/TCR-QPCR oraz MFC były silnie skorelowane, o czym mówi współczynnik r^2 , który wyniósł $r^2=0,87$. W publikacjach **Thorn 2021**, **Theunissen 2017** oraz **Gaipa 2012** badano zgodność pomiędzy RQ-PCR a FC, a wyniki były następujące, odpowiednio: 84%, 74% (próbki FCM+/PCR+) oraz 80%. W badaniu **Denys 2013**, w którym porównywano zgodność pomiędzy FC i RQ-PCR, 39,2% (219/559) próbek było dobrze skorelowane. W jednym badaniu (**Della-Starza 2016**) badano zgodność pomiędzy RQ-PCR a ddPCR, która wyniosła 88% ($p=0,94$). W publikacji **Gaipa 2012** badano wartość predykcyjną dodatnią FCM w odniesieniu do RQ-PCR w dniu 15., 33. oraz 78., która wyniosła odpowiednio: 98%, 74% i 77% oraz wartość predykcyjną ujemną FCM w stosunku do PCR w dniu 15., 33. oraz 78., która wyniosła odpowiednio: 22%, 69% i 87%. Dodatkowo, w badaniu **Modvig 2021** oraz **Modvig 2019** raportowano również wyniki w zakresie korelacji między poziomami PCR-MRD a FCM-MRD w dniu 15. oraz 29. W publikacji **Modvig 2021** wyniki były następujące: $r=0,77$; $p<0,0001$; (w dniu 15.) oraz $r=0,83$; $p<0,0001$ (w dniu 29.), natomiast w publikacji **Modvig 2019**: $r=0,85$; $p<0,0001$; (w dniu 15.) oraz $r=0,73$; $p<0,0001$ (w dniu 29.). Wyniki dotyczące korelacji między poziomami PCR-MRD a FCM-MRD zarówno w badaniu **Modvig 2021**, jak i w badaniu **Modvig 2019**, były istotne statystycznie.

W trzech badaniach (**Modvig 2021**, **Garand 2013**, **Thorn 2021**) raportowano wyniki dla punktów końcowych dotyczących minimalnej choroby resztkowej. Wystąpienie niewykrywalnego MRD (ang. undetectable MRD) zbadane w publikacji **Modvig 2021** wyniosło 37,2% w dniu 29 metodą IG/TCR-QPCR. Obecność MRD (**Garand 2013**) określona za pomocą metody IG/TCR-QPCR wyniosła 86%, a za pomocą MFC – 94%. Mediana wartości MRD zbadana w publikacji **Thorn 2021**, w zależności od zastosowanej metody, wyniosła w 15. dniu RQ-PCR: 1,26% (B-ALL), 0,20% (T-ALL) i FCM: 0,05% (B-ALL), 0,01% (T-ALL), a w dniu 29. – RQ-PCR: 0,02% (B-ALL), 0,03% (T-ALL) i FCM: 0,01% (B-ALL), 0,01% (T-ALL).

Podsumowując, w siedmiu odnalezionych badaniach dotyczących zastosowania metody RQ-PCR w monitorowaniu minimalnej choroby resztkowej w ostrej białaczce limfoblastycznej (Modvig 2021, Thorn 2021, Theunissen 2017, Della-Starza 2016, Denys 2013, Garand 2013, Gaipa 2012) analizowano punkt końcowy związany ze zgodnością wyników pomiędzy dwiema metodami. W sześciu z nich porównywano wyniki RQ-PCR z FC. Wnioski płynące z tej analizy są następujące:

- obie metody w połączeniu zapewniają dokładne monitorowanie wszystkich pacjentów (Modvig 2021),
- korelacja między poziomami PCR-MRD a FCM-MRD jest wysoka (Modvig 2021, Modvig 2019),
- istotne jest wykonywanie FCM-MRD i PCR-MRD w połączeniu, aby stale oceniać wartość obu (Modvig 2021),
- zarówno RQ-PCR jak i FC są cennymi narzędziami klinicznymi w monitorowaniu pacjentów z ALL (Thorn 2021, Theunissen 2017, Garand 2013),
- RQ-PCR i FC są wysoce komplementarnymi strategiami wykrywania MRD w ALL (Garand 2013, Gaipa 2012),
- badanie MRD metodą cytometrii przepływowej jest co najmniej tak czułe, jak obecne metody MRD oparte na PCR przy zmierzeniu wystarczającej liczby komórek (Theunissen 2017),
- przy niskich poziomach MRD, badanie za pomocą PCR w porównaniu do FC cechuje się niższym progiem detekcji (Denys 2013).

W jednym z badań (Della-Starza 2016) porównywano wyniki RQ-PCR z ddPCR i udokumentowano, iż ddPCR ma czułość i dokładność co najmniej porównywalną z RQ-PCR.

Badanie za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym stanowi cenne narzędzie kliniczne w monitorowaniu minimalnej choroby resztkowej u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną. RQ-PCR, jak również FC, niezależnie dostarczają ważnych informacji w procesie monitorowania pacjentów. W połączeniu, obie metody (RQ-PCR i FC) zapewniają dokładne monitorowanie wszystkich pacjentów. Jednakże, przy niskich poziomach MRD badanie za pomocą PCR w porównaniu do FC cechuje się niższym progmem detekcji.

Populacja pacjentów z ostrą białaczką szpikową

Odnaleziono trzy badania jednoramienne: Ouyang 2016, Willekens 2016 i Zhang 2014, w których badaną populację stanowili pacjenci z ostrą białaczką szpikową.

Punkt końcowy dotyczący zgodności technik stosowanych w celu wykrycia minimalnej choroby resztkowej oceniano w dwóch badaniach. W badaniu **Ouyang 2016** nie zaobserwowano zgodności między metodami (MFC i qRT-PCR) w próbkach poindukcyjnych szpiku kostnego, o czym świadczy niska wartość współczynnika Kappa na poziomie 0,041 (n=44), zaś niewielka zgodność pojawiła się w próbkach uzyskanych w fazie konsolidacji (n=108; $\kappa=0,083$) oraz w próbkach w fazie follow-up (n=107; $\kappa=0,164$). Zgodność wszystkich badanych próbek była niska ($\kappa=0,152$).

Zgodność między wynikami uzyskanymi metodami RQ-PCR i RT-PCR była badana w populacji pacjentów badania **Zhang 2014**. Wyniki były zgodne w 296 próbkach, co stanowiło 89,1% ogółu badanych próbek (oba wyniki uzyskane zarówno za pomocą RQ-PCR i RT-PCR były pozytywne w 209 próbkach, a negatywne w 87 próbkach). Rozbieżności wystąpiły w 36 próbkach, które dały wynik negatywny na obecność transkryptu w oznaczeniu RT-PCR, zaś pozytywny w RQ-PCR.

W publikacji **Willekens 2016** jednym z badanych punktów końcowych była całkowita odpowiedź molekularna. Spośród 94 pacjentów włączonych do badania i ocenianych pod koniec leczenia, w analizie przeprowadzonej za pomocą RQ-PCR, 70% (52/74) z nich uzyskało całkowitą odpowiedź molekularną we krwi obwodowej w porównaniu z 30% pacjentów (22/74), którzy uzyskali powyższą odpowiedź w szpiku kostnym. Drugim badaniem punktem końcowym był średni czas od remisji do całkowitej odpowiedzi molekularnej, który wyniósł 2,5 miesiąca (mediana). U pacjentów, którzy uzyskali całkowitą odpowiedź molekularną, 4-letni CIR wyniósł 26,6%, a u pacjentów, którzy nie uzyskali całkowitej odpowiedzi molekularnej 51,2%.

Badania, w których punktem końcowym był nawrót choroby, skupiały się głównie na raportowaniu wyników związanych z oceną ryzyka nawrotu choroby (**Ouyang 2016**) oraz 4- i 5-letnim CIR (**Willekens 2016**, **Zhang 2014**). Badane w **Ouyang 2016** wystąpienie nawrotu ostrej białaczki szpikowej na podstawie stanu minimalnej choroby resztkowej (MRD) osiągnęło istotność statystyczną w obu zastosowanych metodach. Wykrycie MRD za pomocą qRT-PCR osiągnęło istotność statystyczną na poziomie $p=0,035$, a z użyciem wieloparametrowej cytometrii przepływową (MFC) $p<0,001$.

W publikacji **Willekens 2016**, w całej kohorcie 94 pacjentów, szacowany 4-letni CIR wynosił 33,3% (95%CI: 24,4–44,4), a 4-letni szacowany OS wynosił 83,4% (95%CI: 74,4–89,7). W przypadku 5-letniego CIR (**Zhang 2014**), wynik przedstawiono uwzględniając różną liczbę kopii transkryptu i przedstawiał się on następująco: $58,8\pm 5,5\%$ (pacjenci z liczbą kopii powyżej 306) vs $13,3\pm 0,8\%$ (pacjenci z liczbą kopii poniżej 306). Był to wynik istotny statystycznie o wartości $p=0,0018$.

Podsumowując, punkt końcowy związany ze zgodnością wyników pomiędzy dwiema metodami był analizowany w dwóch odnalezionych badaniach dotyczących zastosowania metody RQ-PCR w monitorowaniu minimalnej choroby resztkowej w ostrej białaczce szpikowej (Ouyang 2016, Zhang 2014). W jednym z nich (Ouyang 2016), w którym porównywano wyniki uzyskane za pomocą FC i RQ-PCR, nie zaobserwowano zgodności między metodami, o czym świadczy niska wartość współczynnika Kappa. Całkowita zgodność między metodami jest niska, natomiast dostarczają one komplementarnych informacji na temat MRD wśród pacjentów z AML. Z kolei w innym badaniu (Zhang 2014) porównano RQ-PCR i RT-PCR, a wyniki między próbkami były zgodne. Na tej podstawie można stwierdzić, iż zarówno RT-PCR, jak i RQ-PCR mogą być stosowane do wykrywania MRD w AML, choć RQ-PCR wykrywa więcej przypadków występowania choroby resztkowej.

W jednej z publikacji (Willekens 2016), w którym pacjenci byli leczeni cytarabiną oraz w którym raportowano wyniki dotyczące odpowiedzi molekularnej, wykazano iż przy analizie za pomocą RQ PCR większy odsetek pacjentów uzyskało całkowitą odpowiedź molekularną we krwi obwodowej niż w szpiku kostnym.

Dodatkowo, w jednym z analizowanych badań (Ouyang 2016), prawdopodobieństwo nawrotu ostrej białaczki szpikowej na podstawie stanu minimalnej choroby resztkowej wykryte za pomocą RQ-PCR, osiągnęło istotność statystyczną, co oznacza, że istnieje związek między wykryciem MRD a nawrotem choroby.

U pacjentów z ostrą białaczką szpikową badanie za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym może być stosowane do wykrywania minimalnej choroby resztkowej w AML. Obie metody RQ-PCR i cytometria przepływowa, dostarczają komplementarnych informacji na temat MRD.

Populacja pacjentów z przewlekłą białaczką limfoblastyczną

Odnaleziono jedno jednoramienne badanie pierwotne: **Raponi 2014**, w którym populację badaną stanowili pacjenci z przewlekłą białaczką limfoblastyczną. Zgodne wyniki dla metody FC i allelo-specyficznej dla łańcuchów ciężkich immunoglobulin reakcji łańcuchowej polimerazy ASO IgH RQ-PCR uzyskano dla 199 spośród 243 przebadanych próbek (81,9%). Czulość metody FC w porównaniu do PCR wynosiła 96,5% natomiast specyficzność 77,2%. Spośród 98 pacjentów z chorobą resztkową metoda ASO IgH RQ-PCR pozwoliła na ilościowe oznaczenie u 49 pacjentów (50%), a jakościowe u 44 (44,9%). Mediana wartości MRD wynosiła $1,3 \times 10^{-3}$ (zakres: $2,6 \times 10^{-1} - 1 \times 10^{-4}$) przy poziomie MRD $>10^{-4}$ dla 63,2% badanych (31/49) i MRD równym lub mniejszym 10^{-4} dla 63,2% badanych. Przeżycie wolne od progresji w badanej populacji przy medianie czasu obserwacji wynoszącej 27 miesięcy (2,7–55,6) wynosiło po 36 miesiącach 61,9% (95%CI: 50,9–76,4). Przeżycie wolne od progresji było znacząco lepsze w przypadku pacjentów bez wykrytej choroby resztkowej względem pacjentów z chorobą resztkową (100% vs 57,5% dla oznaczenia RQ-PCR materiału z krwi obwodowej ($p=0,030$) i 100% vs 56,1% dla próbek szpiku kostnego ($p=0,024$)).

Podsumowując, w jednym odnalezionym badaniu (Raponi 2014) odnoszącym się do zastosowania metody RQ-PCR w monitorowaniu minimalnej choroby resztkowej w przewlekłej białaczce limfoblastycznej analizowano punkt końcowy dotyczący zgodności między FC a allelo-specyficznej dla łańcuchów ciężkich immunoglobulin reakcją łańcuchową polimerazy ASO IgH RQ-PCR. Wynik dla tego punktu końcowego okazał się być dość wysoki (81,9%), co świadczy o dobrej zgodności tych dwóch metod. We wcześniej wspomnianej publikacji oceniano również wykrycie minimalnej choroby resztkowej i wskazano, iż ASO IgH RQ-PCR jest badaniem bardziej czułym niż FC dla poziomów MRD poniżej 10^{-4} . Badanie za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym, jak również za pomocą cytometrii przepływowej są odpowiednimi metodami do detekcji MRD i przewidywania progresji choroby u pacjentów z przewlekłą białaczką limfoblastyczną.

Populacja pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową

Odnaleziono łącznie cztery badania pierwotne w tym trzy badania jednoramienne: **Arpinati 2013**, **Wang 2018**, **Franke 2020** oraz jedno dwuramienne: **Cortés 2020**, w których populacje stanowili pacjenci z przewlekłą białaczką szpikową.

Między metodami RQ PCR a ddPCR wykazano 98,7% zgodności ($\kappa=0,94$ (95%CI: 0,90–0,98); $p<0,001$) w badaniu **Cortés 2020**. Poziom korelacji między wynikami RQ-PCR a ddPCR w badaniu **Wang 2018** wyniósł $R^2 \geq 0,99$ a w badaniu **Franke 2020** korelacja wyniku RQ-PCR z ddPCR w skali międzynarodowej (IS) wyniosła: 0,85 dla transkryptu BCR-ABL1, 0,81 dla ABL1, 0,61 dla %BCR-ABL1/ABL1 i 0,83 dla %BCR-ABL1/ABL1. W badaniu **Wang 2018** czas wykrycia pozytywnego wyniku był różny dla ddPCR i RT-qPCR w 40% przypadków, przy czym średni czas wykrycia pozytywnego wyniku za pomocą dd-PCR nastąpił o 3 miesiące wcześniej niż przez RT-qPCR. Metoda dd-PCR pozwoliła również na wykrycie MRD u większego odsetka osób badanych. U 18% pacjentów, u których RT-qPCR dał wynik ujemny, stwierdzono obecność choroby resztkowej metodą ddPCR.

W badaniu **Franke 2020** granica wykrywalności ilości transkryptu BCR-ABL1 względem ABL wynosiła 0,0032% (IS) lub mniej zarówno metodą dPCR, jak i RT-qPCR dla $>77\%$ próbek. W badaniu **Arpinati 2013** po allogenicznym przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych zanotowano min. 1 raz wykrywalny poziom transkryptów, ze stosunkiem BCR-ABL/ABL $<0,1\%$ zdefiniowanym jako $<MR^3$ (remisja molekularna $<0,1\%$) u 83% pacjentów, a u 17% transkrypt BCR-ABL był trwale niewykrywalny.

Mierzony metodą RT Q-PCR czas do pojawienia się pierwszej odpowiedzi molekularnej <MR³ po allogenicznym przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych w badaniu **Arpinati 2013** wynosił poniżej jednego roku w 19,2% przypadków, od 1 do 5 lat w 26,9% oraz powyżej 5 lat w 53,9%.

Ryzyko nawrotu choroby w zestawieniu z wynikiem monitorowania choroby resztkowej za pomocą RT Q-PCR badano w pracy **Arpinati 2013**. Nawrót choroby wystąpił w 11,5% przypadków, były to osoby z odpowiedzią molekularną <MR³, u żadnego pacjenta z niewykrywalnym poziomie transkryptu BCL-ABL nie wystąpił nawrót. Mediana czasu obserwacji wyniosła 2142 dni (zakres: 1419–3746). Prawdopodobieństwo nawrotu choroby oszacowane poprzez analizę Kaplana-Meiera wynosiło 15,8%.

Podsumowując, punkt końcowy związany ze zgodnością wyników pomiędzy RQ-PCR a ddPCR był analizowany w trzech z odnalezionych badań (Wang 2018, Cortés 2020, Franke 2020) dotyczących zastosowania metody RQ-PCR w monitorowaniu minimalnej choroby resztkowej u pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową. Wskazano, iż zgodność pomiędzy tymi dwiema metodami jest bardzo wysoka, przy czym metod ddPCR pozwala na wykrycie choroby resztkowej średnio 3 miesiące wcześniej niż przez RQ-PCR. Na tej podstawie można stwierdzić, iż zarówno RQ-PCR, jak i ddPCR mogą być stosowane do wykrywania MRD w CML.

Zastosowanie RQ-PCR w ocenie ryzyka nawrotu choroby badano w pracy Arpinati 2013. Wykazano, iż występowanie nawrotu choroby było powiązane z poziomem odpowiedzi molekularnej.

5.3.5. Wyniki punktów końcowych w badaniach dotyczących monitorowania terapii celowanej TKI

Tabela 22. Wyniki w zakresie punktów końcowych w badaniach dotyczących monitorowania terapii celowanej TKI

	Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
Pacjenci z ALL						
Punkty końcowe związane z parametrami badania genetycznego	Zgodność	Cazzaniga 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL	RQ-PCR IG/TR, RQ-PCR BCR/ABL1	69% 71% 65% p=0,03 (TP1), p=0,001 (TP2) szacowana średnia różnica: 0,25 (SD=0,66) 0,43 (SD=0,73)	całkowita zgodność TP2 TP3 średnie różnice wyników BCR/ABL1 w porównaniu z IG/TR były znacznie większe, co oznacza, że wartości BCR/ABL1 miały tendencję być wyższe niż IG/TR TP1 TP2
	Odsetek pacjentów z wysoce dodatnim MRD	Cazzaniga 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL	RQ-PCR IG/TR, RQ-PCR BCR/ABL1	IG/TR: 78% (TP1), 14% (TP4) BCR/ABL1: 80% (TP1), 57% (TP4)	- -
Punkty końcowe związane z minimalną chorobą resztkową	Brak MRD (ang. MRD negativity)	Cazzaniga 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL	RQ-PCR IG/TR, RQ-PCR BCR/ABL1	IG/TR: 10% (TP1), 57% (TP4) vs. BCR/ABL1: 13% (TP1), 30% (TP4) Ryzyko niepowodzenia: HR=0,50, 95%CI (0,19–1,38), p=0,1811 70% (7/10) 13% (7/54)	W TP2 pacjenci z niskim poziomem MRD w TP1 (negatywność osiągnięta w TP2) pacjenci z wysokim poziomem MRD w TP1 (negatywność osiągnięta w TP2)

Analiza ekspresji genu lub kilku genów (w tym genów fuzyjnych) przy użyciu metody Real-time PCR WS.430.4.2018 (RQ-PCR) - ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym.

	Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
Punkty końcowe związane z fuzją/ translokacją	Nosicielstwo wariantu p190 BCR/ABL1	Cazzaniga 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL	RQ-PCR IG/TR, RQPCR BCR/ABL1	IG/TR: 56,7% (51/90) BCR/ABL1: 67,2% (41/61)	TP1 TP1
	Nosicielstwo wariantu p210	Cazzaniga 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL	RQ-PCR IG/TR, RQ-PCR BCR/ABL1	IG/TR: 6,7% (6/90) BCR/ABL1: 11,5% (7/61)	- TP1
	Prawdopodobieństwo braku BCR/ABL w dowolnym punkcie czasowym	Cazzaniga 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL	RQ-PCR IG/TR, RQPCR BCR/ABL1	GR: 25%, PR: 3% GR: 37%, PR: 4% GR: 60%, PR: 10% GR: 50%, PR: 20%	TP1 (przed ekspozycją na imatyn b) TP2 (po ekspozycji na imatynib) TP3 TP4
	Prawdopodobieństwo braku IG/TR w dowolnym punkcie czasowym	Cazzaniga 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL	RQ-PCR IG/TR, RQPCR BCR/ABL1	GR: 18%, PR: 4%, p=0,0368 GR: 39%, PR: 16%, p=0,0533 GR: 60%, PR: 36%, p=0,1429 GR: 70%, PR: 46%, p=0,1350 GR – pacjenci o dobrym rokowaniu (ang. good-risk) PR – pacjenci o słabym rokowaniu (ang. poor-risk)	TP1 (przed ekspozycją na imatyn b) TP2 (po ekspozycji na imatynib) TP3 TP4
Punkt końcowy związane z przeżyciem	5-letnie przeżycie wolne od zdarzeń	Cazzaniga 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL	RQ-PCR IG/TR, RQ-PCR BCR/ABL1	62,0 (SE=4,3)	pacjenci, którzy otrzymali imatynib, (n=128)

	Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
Punkt końcowy związany z nawrotem choroby	Skumulowane 5-letnie wystąpienie nawrotu	Cazzaniga 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	ALL	RQ-PCR IG/TR, RQ-PCR BCR/ABL1	36,4 (SE=15,4) 35,2 (SE=5,9) 0,0 vs. 35,3 (5,4) p=0,0368 nie zaobserwowano nawrotu u pacjentów z brakiem MRD w TP1 14,3 (SE=9,8) 36,4 (SE=15,5) 42,9 (SE=21,6)	pacjenci z MRD $<5 \times 10^{-4}$ (n=11) pacjenci z MRD $\geq 5 \times 10^{-4}$ (n=70) pacjenci MRD-ujemni pacjenci MRD-dodatni u pacjentów z brakiem MRD w TP2 u pacjentów z brakiem MRD w TP3 u pacjentów z brakiem MRD w TP4
Pacjenci z CML						
Punkty końcowe związane z parametrami badania genetycznego	Korelacja między poziomem ekspresji genu fuzyjnego BCR-ABL a postępem choroby CML	Pan 2021 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	qPCR	r=0,617; p=0,009	korelacja między poziomem ekspresji genu fuzyjnego BCR-ABL a postępem choroby CML (<i>poziomy ekspresji genów fuzyjnych BCR-ABL były dodatnio związane z postępem choroby CML</i>)
Punkty końcowe związane z fuzyją/translokacją	Mediana czasu pojawienia się pierwszego dodatniego wyniku PCR	Pan 2021 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	qPCR	3,5 mies. (95% CI: 3,0–4,7) 9 mies. (95% CI: 4,3–17,7) 2,9 mies. (95% CI: 2,0–3,1) 9 mies. (95% CI: 4,1–13,1)	ogółem od pierwszego pozytywnego wyniku Q-RT-PCR do nawrotu choroby PCR+ (pacjenci z nawrotem choroby) PCR+ (pacjenci bez nawrotu choroby)
	Poziom ekspresji genu fuzyjnego BCR-ABL	Pan 2021 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	qPCR	31,24±4,97% 96,12±4,17% 82,73±4,69% p<0,001 56,12±4,31% 11,25±3,28%; p<0,001 3,04±1,34%; p<0,001 1,14±0,78%; p<0,001 0,041±0,003%; p<0,001	odsetek pacjentów w przewlekłym stadium odsetek pacjentów w ostrym stadium odsetek pacjentów w fazie akceleracji przed leczeniem imatynibem po 3 mies. leczenia imatynibem po 6 mies. leczenia imatynibem po 9 mies. leczenia imatynibem po 12 mies. leczenia imatynibem

	Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
Punkty końcowe związane z odpowiedzią molekularną	Mediana (zakres) czasu do potwierdzonej MR ^{4,5}	Berdeja 2019 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	RQ-PCR, dPCR	8,3 mies. (1,9–17,5) 11,3 mies. (3,2–16,6) 8,0 mies. (1,9–17,5)	wszyscy pacjenci, którzy osiągnęli potwierdzoną MR ^{4,5} (n=34) pacjenci, którzy osiągnęli oraz stracili potwierdzoną MR ^{4,5} (n=6) pacjenci, którzy osiągnęli oraz nie stracili potwierdzonej MR ^{4,5} (n=28)
	Mediana (zakres) czasu trwania potwierdzonej MR ^{4,5}	Berdeja 2019* <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	RQ-PCR, dPCR	13,9 mies. (4,6–20,3) 5,8 mies. (5,3–13,6) 14,0 mies. (4,6–20,3)	wszyscy pacjenci, którzy osiągnęli potwierdzoną MR ^{4,5} (n=34) pacjenci, którzy osiągnęli oraz stracili potwierdzoną MR ^{4,5} (n=6) pacjenci, którzy osiągnęli oraz nie stracili potwierdzonej MR ^{4,5} (n=28)
	Skumulowany odsetek potwierdzonej odpowiedzi molekularnej MR ^{4,5}	Berdeja 2019 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	RQ-PCR, dPCR	26,6% (34/128)	po 24 miesiącach u pacjentów leczonych nilotyn bem
	Utrata potwierdzonej MR ^{4,5}	Berdeja 2019 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	RQ-PCR, dPCR	17,6% (6/34)	-
	Mediana (zakres) czasu do uzyskania MMR	Berdeja 2019 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	RQ-PCR, dPCR	RQ-PCR	wszyscy pacjenci, którzy osiągnęli MMR (n=94) pacjenci, którzy osiągnęli oraz stracili MMR (n=13) pacjenci, którzy osiągnęli oraz nie stracili MMR (n=81)
					5,6 mies. (0,9–18,1) 8,4 mies. (0,9–18,1) 5,6 mies. (0,9–16,8)	
		Mori 2015 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	Q-RT-PCR, ddPCR	2,1 mies. (95% CI: 1,8–3,1)	po wznowieniu leczenia imatynibem
	Mediana (zakres) czasu trwania MMR	Berdeja 2019* <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	RQ-PCR, dPCR	16,5 mies. (0–21,1) 3,15 mies. (0,5–19,4) 16,6 mies. (0–21,1)	wszyscy pacjenci, którzy osiągnęli MMR (n=94) pacjenci, którzy osiągnęli oraz stracili MMR (n=13) pacjenci, którzy osiągnęli oraz nie stracili MMR (n=81)
Skumulowany odsetek większej	Berdeja 2019	CML	RQ-PCR, dPCR	73,4% (94/128)	po 24 miesiącach u pacjentów leczonych nilotyn bem	

	Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
	odpowiedzi molekularnej MMR	<i>Badanie jednoramienne</i>				
	Utrata potwierdzonej MMR	Berdeja 2019 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	RQ-PCR, dPCR	13,8% (13/94)	-
	Wskaźnik całkowitej odpowiedzi cytogenetycznej (CCyR)	Berdeja 2019* <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	RQ-PCR, dPCR	72,7% 86,9%	wszyscy pacjenci pacjenci, u których oceniono odpowiedź cytogenetyczną (n=107)
	Oznaczenie odsetka pacjentów w stanie głębokiej i bardzo głębokiej odpowiedzi molekularnej w momencie zakończenia leczenia kinazami tyrozynowymi TKI	Bernardi 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	RT-qPCR	RT-qPCR: MR ^{4.0} – 41% (45/111) MR ^{4.5.5.0} – 59% (66/111)	-
	Porównanie czułości oznaczenia odsetka pacjentów w stanie trwałej, głębokiej i bardzo głębokiej odpowiedzi molekularnej metodą RT-qPCR oraz dPCR	Bernardi 2018 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	RT-qPCR, dPCR	RT-qPCR: MR ^{4.0} – 20% (9/45), MR ^{4.5.5.0} – 23% (15/66); p=0,8100 dPCR: MR ^{4.0} – 48% (12/25) MR ^{4.5.5.0} – 14% (12/86); p=0,0003	-
Punkty końcowe związane z nawrotem choroby	Częstość nawrotów choroby	Mori 2015 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	Q-RT-PCR, ddPCR	36% 100%	>45 lat, dPCR- <45 lat, dPCR+
	Liczba pacjentów bez nawrotu choroby	Mori 2015 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	Q-RT-PCR, ddPCR	51,9% (56/108)	u pacjentów z wynikiem ujemnym (16/56) oraz u pacjentów z wynikiem dodatnim PCR ale bez utraty MMR (40/56)
	Odsetek pacjentów z nawrotem choroby	Mori 2015 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	Q-RT-PCR, ddPCR	48,1% (52/108) (95% CI: 38,4–58)	-
	Odsetek pacjentów, u których nastąpił nawrót choroby w ciągu pierwszych 9 miesięcy	Mori 2015 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	Q-RT-PCR, ddPCR	73,1%	-

Analiza ekspresji genu lub kilku genów (w tym genów fuzyjnych) przy użyciu metody Real-time PCR WS.430.4.2018 (RQ-PCR) - ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym.

	Punkt końcowy	Publikacja	Jednostka chorobowa	Interwencja	Wyniki	Komentarz
	Skumulowane prawdopodobieństwo nawrotu choroby	Mori 2015 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	Q-RT-PCR, ddPCR	52% (95% CI: 42–63)	-
Punkty końcowe związane z przeżyciem	Przeżycie wolne od choroby po leczeniu imatynibem (średni czas)	Pan 2021 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	qPCR	5,15±2,32 mies. 14,28±5,96 mies. 21,64±6,98 mies. F=26,14; p<0,001 wystąpiły istotne różnice statystyczne pomiędzy grupami (F=26,14; p<0,001)	grupa wysokiego poziomu grupa średniego poziomu grupa niskiego poziomu
	Wskaźnik zadowolenia z efektu leczniczego	Pan 2021 <i>Badanie jednoramienne</i>	CML	qPCR	63,16% (12/19) 40,74% (11/27) 14,29% (2/14) p=0,041	grupa wysokiego poziomu grupa średniego poziomu grupa niskiego poziomu
*W publikacji Berdeja w przypadku pacjentów, którzy nie utracili odpowiedzi, datę ostatniej dawki badanego leku wykorzystano jako datę końcową analizy czasu trwania odpowiedzi.						

5.3.6. Podsumowanie wyników badań dotyczących monitorowania terapii celowanej TKI

Populacja pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną

Odnaleziono jedno jednoramienne badanie pierwotne: **Cazzaniga 2018**, w którym populację stanowili pacjenci pediatryczni z ostrą białaczką limfoblastyczną i chromosomem Filadelfia (Ph+). Głównymi punktami końcowymi analizowanymi w badaniu były: zgodność, brak MRD, nosicielstwo wariantów oraz 5-letnie przeżycie. Ogólna zgodność między dwoma oznaczeniami: RQ-PCR IG/TR i RQ-PCR BCR/ABL1 wyniosła 69%, w różnych punktach czasowych przyjęła wartości zbliżone do siebie wahające się od 65% do 71%. Przy czym wartości BCR/ABL1 miały tendencję być wyższe niż IG/TR (szacowana średnia różnica wynosiła 0,25 (SD=0,66, p=0,03) w TP1 (ang. time point) i 0,43 (SD=0,73; p=0,001) w TP2.

Punkt końcowy związany z minimalną chorobą resztkową odnosił się do zbadania odsetka pacjentów z wysoce dodatnim MRD. Odsetek ten wykazywał tendencję spadkową w czasie, zarówno w grupie IG/TR, jak i BCR/ABL1 oraz osiągnął odpowiednio wartości: spadek z 78% (TP1) do 14% (TP4) oraz z 80% (TP1) do 57% (TP4).

Brak minimalnej choroby resztkowej MRD był oceniany w próbkach pacjentów zarówno za pomocą IG/TR, jak i BCR/ABL1 i zauważalny był jego wzrost w czasie. W przypadku IG/TR wartość ta wzrosła o 47% (z 10% w TP1 do 57% w TP4), zaś w BCR/ABL1 oszacowano wzrost o 17% (z 13% w TP1 do 30% w TP4). Zdecydowana większość przypadków, bo aż 70%, która osiągnęła wynik ujemny w TP2, to pacjenci z niskim MRD (7/10), w porównaniu z pacjentami z wysokim MRD, u których odsetek osiągnięcia ujemnego wyniku wyniósł 13% (7/54). Wyniki te wskazują, iż zarówno pacjenci z niskim, jak i wysokim poziomem MRD mają duże ryzyko nawrotu.

W powyższym badaniu oceniano również brak transkryptu IG/TR oraz BCR/ABL w dowolnym punkcie czasowym liczone jako prawdopodobieństwo. Wyniki pokazały, iż biorąc do analizy grupy pacjentów z różnym rokowaniem, było ono wyższe w populacji rokującej dobrze. Wartości pokazujące wyższość prawdopodobieństwa braku IG/TR w grupie o dobrym rokowaniu w porównaniu z grupą o słabym rokowaniu wynosiły odpowiednio: 18% vs 4% w okresie TP1 (przed jakąkolwiek ekspozycją na imatynib, p=0,0368), 39% vs 16% w TP2 (po ekspozycji na imatynib, p=0,0533), 60% vs 36% (p=0,1429) w TP3 i 70% vs 46% w TP4 (p=0,1350). Podobne proporcje i zależności pojawiły się, gdy poddano analizie prawdopodobieństwo braku BCR/ABL, uzyskując analogiczne do powyższych wyniki: 25% vs 3% (TP1 (przed ekspozycją na imatynib), 37% vs 4% w TP2 (po ekspozycji na imatynib), 60% vs 10% w TP3 oraz 50% vs 20% w TP4.

W zakresie punktów końcowych związanych z przeżyciem i nawrotem choroby, raportowano wyniki w grupie pacjentów otrzymujących imatynib dotyczące 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń, które wyniosło 62,0 (SE=4,3). Skumulowane 5-letnie wystąpienie nawrotu było badane na grupie 90 osób z IG/TR MRD. Wyniki w tym zakresie pokazały, iż u osób z MRD ujemnym nie nastąpił żaden nawrót (w TP1), podczas gdy u 11 z MRD5×10^{-4} i 70 z MRD $\geq 5 \times 10^{-4}$ wystąpiła zbliżona skumulowana 5-letnia częstość wystąpienia nawrotu wynosząca odpowiednio: 36,4 (SE=15,4) i 35,2 (SE=5,9). Analizując kolejne punkty czasowe, pacjenci, którzy osiągnęli ujemny wynik MRD w TP2, mieli niskie ryzyko nawrotu wynoszące 14,3 (SE=9,8), podczas gdy ci, którzy osiągnęli ujemny wynik MRD w późniejszym terminie, wykazywali wyższe ryzyko nawrotu porównywalne z pacjentami z dodatnim MRD na każdym poziomie czasowym. Monitorowanie MRD obiema metodami może być wykorzystywane do pomiaru odpowiedzi na leczenie. Na podstawie danych z badania można stwierdzić, że monitorowanie IG/TR MRD wydaje się być bardziej wiarygodne. Wczesny negatywny wynik MRD jest wysoce predykcyjny dla uzyskania pomyślnego wyniku. Im wcześniej osiągnięta zostanie negatywny wynik, tym lepsze rokowanie.

Podsumowując, w jednym odnalezionym badaniu (Cazzaniga 2018) odnoszącym się do monitorowania MRD w oparciu o transkrypt IG/TR i/lub BCR/ABL1, analizowano punkty końcowe dotyczące głównie zgodności i braku MRD. Wyniki obrazujące zgodność między dwiema metodami RQ-PCR IG/TR i RQ-PCR BCR/ABL1 dowodzą, iż obie metody stosowane w monitorowaniu choroby resztkowej są dobrze skorelowane ze sobą, na ogólnym poziomie 69%, jednak zauważalna jest lekka tendencja na korzyść monitorowania z użyciem IG/TR. Rozważając w analizie populacyjnej obecność minimalnej choroby resztkowej, wyniki uzyskane obiema metodami wskazują, iż zarówno niski, jak i wysoki poziom MRD dają duże ryzyko nawrotu choroby.

Populacja pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową

Odnaleziono cztery badania jednoramienne: Mori 2015, Bernardi 2018, Berdeja 2019, Pan 2021, dotyczące monitorowania terapii celowanej TKI, w których populacje stanowili pacjenci z przewlekłą białaczką szpikową.

W badaniu **Pan 2021** korelacja między poziomem ekspresji genu fuzyjnego BCR-ABL a postępem choroby wynosiła $r=0,617$ ($p=0,009$). Poziom ekspresji genu fuzyjnego kształtował się w zależności od natężenia choroby nowotworowej: $31,24\pm 4,97\%$ u pacjentów w przewlekłym stadium, $96,12\pm 4,17\%$ u pacjentów w ostrym stadium, $82,73\pm 4,69\%$ u pacjentów w fazie akceleracji ($p<0,001$); oraz od etapu leczenia z wykorzystaniem TKI: $56,12\pm 4,31\%$ przed leczeniem imatynibem, $11,25\pm 3,28\%$; po 3 miesiącach leczenia imatynibem $3,04\pm 1,34\%$ ($p<0,001$). Średni czas przeżycia wolnego od choroby po leczeniu imatynibem wynosił $5,15\pm 2,32$ miesiąca w grupie z wysokim poziomem transkryptu, $14,28\pm 5,96$ miesiąca w grupie pośredniej i $21,64\pm 6,98$ miesiąca w grupie niskiego ryzyka ($p<0,001$).

W badaniu **Bernardi 2018**, w którym dokonano oznaczenia odsetka pacjentów w stanie głębokiej i bardzo głębokiej odpowiedzi molekularnej w momencie zakończenia leczenia kinazami tyrozynowymi TKI za pomocą RT-qPCR, u 41% wystąpiła odpowiedź $MR^{4,0}$, a u 59% odpowiedź $MR^{4,5-5,0}$. Porównanie czułości oznaczenia odsetka pacjentów w stanie trwałej, głębokiej i bardzo głębokiej odpowiedzi molekularnej metodą RT-qPCR oraz ddPCR wykazało dla RT-qPCR odpowiedź $MR^{4,0}$ w 20% przypadków, a $MR^{4,5-5,0}$ w 23% przypadków ($p=0,8100$), natomiast dla dPCR odpowiedź $MR^{4,0}$ w 48% przypadków i $MR^{4,5-5,0}$ w 14% przypadków ($p=0,0003$). Wskazywałoby to na większą czułość metody ddPCR.

W badaniu **Berdeja 2019** oceniano głęboką odpowiedź molekularną w ciągu dwóch lat u pacjentów z nowo zdiagnozowaną przewlekłą białaczką szpikową leczonych nilotinibem. Mediana czasu do osiągnięcia potwierdzonej $MR^{4,5}$ wynosiła 8,3 miesiące (zakres: 1,9–17,5) dla wszystkich pacjentów, którzy osiągnęli potwierdzoną $MR^{4,5}$, 11,3 miesiąca (3,2–16,6), w przypadku pacjentów którzy osiągnęli oraz stracili potwierdzoną $MR^{4,5}$ oraz 8,0 miesiąca (zakres: 1,9–17,5) u pacjentów którzy osiągnęli oraz nie stracili potwierdzonej $MR^{4,5}$. Mediana czasu trwania potwierdzonej odpowiedzi $MR^{4,5}$ w wyżej wymienionych grupach wynosiła odpowiednio: 13,9 miesiąca (4,6–20,3), 5,8 miesiąca (5,3–13,6), 14,0 miesiąca (4,6–20,3). Skumulowany odsetek potwierdzonej odpowiedzi molekularnej $MR^{4,5}$ po 24 miesiącach wynosił 26,6%. Utrata potwierdzonej $MR^{4,5}$ wystąpiła u 17,6% pacjentów.

Nawrót choroby w badaniu **Mori 2015**, zdefiniowany jako utrata remisji molekularnej w dwóch kolejnych badaniach RT-qPCR gdzie ilość transkryptu BCR-ABL1/ABL1 wyniosła powyżej 0,1%, wystąpił u 48,1% (95% CI: 38,4–58) pacjentów przy czasie obserwacji wynoszącym do 36 miesięcy (średnio 21,6). Skumulowane prawdopodobieństwo nawrotu choroby wyniosło 52% (95%CI: 42–63).

Podsumowując w populacji pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową, u których stosowano leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej, punkty końcowe powiązane z oznaczeniami metodą RQ-PCR dotyczyły porównania oznaczeń metodą RQ-PCR i ddPCR, monitorowania efektów leczenia i głębokiej odpowiedzi molekularnej w czasie i detekcji nawrotu choroby poprzez oznaczenie molekularne.

W badaniu Pan 2021 wykazano, iż istnieje korelacja między poziomem ekspresji genu fuzyjnego BCR-ABL a postępem choroby. Poziom ekspresji genu fuzyjnego kształtował się w zależności od natężenia choroby nowotworowej. Średni czas przeżycia wolnego od choroby po leczeniu imatynibem był najwyższy u osób w grupie niskiego ryzyka. Oznaczanie transkryptu genu fuzyjnego za pomocą RQ-PCR jest przydatne w ocenie przebiegu choroby i pozwala oceniać efektywność leczenia imatinibem.

W badaniach nad głęboką i bardzo głęboką odpowiedzią molekularną MR^4 i $MR^{4,5-5,0}$ po leczeniu TKI, metoda RQ-PCR jest traktowana jako standard (Berdeja 2019). Używana jest jako metoda referencyjna w zestawieniu z innymi oznaczeniami. Porównanie RQ-PCR z nowszą metodą ddPCR (Bernardi 2018) wykazało, że ddPCR pozwala na dokładniejsze rozróżnienie głębokiej odpowiedzi molekularnej MR^4 i bardzo głębokiej odpowiedzi molekularnej $MR^{4,5-5,0}$ niż RQ-PCR.

W przypadku monitorowania nawrotu molekularnego choroby za pomocą RQ-PCR, po 36 miesiącach trwania badania Mori 2015, nawrót taki nastąpił u prawie połowy pacjentów. Najczęściej nawrót obserwowano w pierwszych dziewięciu miesiącach po zakończeniu leczenia imatinibem.

5.4. Badania zarejestrowane w bazie ClinicalTrials.gov

W dniu 7.12.2021 r. dokonano wyszukiwania w bazie ClinicalTrials.gov badań dotyczących stosowania RQ-PCR w białaczkach. W wyszukiwaniu użyto następujących słów kluczowych: *real time pcr, Polymerase Chain Reaction, qPCR, Real-Time Polymerase Chain Reaction, Leukemia*. Odnaleziono 175, z czego 5 dotyczyło analizowanej interwencji, tj. ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym. W żadnym z odnalezionych badań nie były dostępne wyniki.

Tabela 23. Badania zarejestrowane w bazie ClinicalTrials.gov dotyczące stosowania RQ-PCR w białaczkach

Badanie	Tytuł	Status	Populacja	Interwencja
NCT04215822	Ekspresja genu PHF19 i delecja genu EZH2 w ostrej białaczce szpikowej <i>PHF19 Gene Expression and EZH2 Gene Deletion in Acute Myeloid Leukemia</i>	Brak rekrutacji	AML	Test diagnostyczny: badanie cytogenetyczne (FISH) – delecja genu EZH2; Real time PCR – ekspresja genu PHF 19
NCT03267485	Ekspresja genu TET1 w ostrej białaczce <i>Expression of TET1 Gene in Acute Leukaemia</i>	Nieznany	Ostra białaczka	Urządzenie: real time PCR
NCT00686218	Panobinostat (LBH589) i mesylan imatinibu w leczeniu pacjentów z wcześniej leczoną przewlekłą białaczką szpikową <i>Panobinostat (LBH589) and Imatinib Mesylate in Treating Patients With Previously Treated Chronic Phase Chronic Myelogenous Leukemia</i>	Ukończone (Brak wyników)	CML	Lek: mesylan imatinibu Lek: panobinostat Genetyczne: reakcja łańcuchowa polimerazy Genetyczne: analiza ekspresji białek Genetyczne: western blotting Inne: cytometria przelywowa Inne: laboratoryjna analiza biomarkerów Inne: badanie farmakologiczne
NCT00462657	Wczesne rozpoznanie aspergilozy u pacjentów z wysokim ryzykiem zakażenia grzybiczego spowodowanego leczeniem raka hematologicznego lub innej choroby <i>Early Diagnosis of Aspergillosis in Patients at High Risk of Fungal Infection Caused by Treatment for Hematologic Cancer or Other Disease</i>	Nieznany	Choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (ang Graft Versus Host Disease) Infekcja Białaczka Zespoły mielodysplastyczne Nowotwory mielodysplastyczne / mieloproliferacyjne	Genetyczne: reakcja łańcuchowa polimerazy Inne: płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe (ang. bronchoalveolar lavage) Inne: technika immunoenzymatyczna Inne: laboratoryjna analiza biomarkerów Procedura: bronchoskopia Procedura: postępowanie w powikłaniach terapii
NCT04150471	Ocena długoterminowej wykonalności zmniejszenia dawki dazatynibu u pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową w fazie przewlekłej <i>Assess Long-term Feasibility of Reduced Dose Dasatinib in Chronic Phase Chronic Myeloid Leukemia Patients</i>	Rekrutacja	CML	Inne: RQ-PCR (ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym) RNA Analysis

5.5. Ograniczenia dotyczące analizy skuteczności

Ograniczenia dotyczące populacji:

- Wyszukiwanie ograniczono do publikacji, w których badana była populacja co najmniej 50 pacjentów.
- Niejasne zasady wybierania pacjentów do badania i często szczątkowe informacje odnośnie kryteriów włączenia i wyłączenia.

Ograniczenia dotyczące interwencji:

- Na wynik badania RQ-PCR wpływ ma jakość użytych odczynników, kalibracja sprzętu i warunki przechowywania próbek.
- Badanie RQ-PCR jest długą i złożoną procedurą laboratoryjną obejmującą pobieranie próbek od pacjentów, izolację materiału genetycznego, syntezę cDNA z obecnego w próbkach RNA (odwrotna transkrypcja), analizę kinetyki reakcji łańcuchowej polimerazy w celu oszacowania ilości badanego transkryptu w próbce. Każde laboratorium posiada własne protokoły laboratoryjne co do wykonywania powyższych etapów i metodykę wyliczania końcowego wyniku ilościowego PCR na bazie zaprojektowanego schematu pomiarów i uzyskanych odczytów w wyniku monitorowania przyrastania produktu reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (real time PCR). Pomimo podejmowania szeregu działań w tym zakresie standaryzacja pomiarów i porównywanie wyników uzyskanych w różnych laboratoriach jest wciąż dużym wyzwaniem.

Ograniczenia dotyczące punktów końcowych:

- Ze względu na różne zastosowanie badania RQ-PCR, tj. diagnostyka wstępna, MRD, TKI, analizowane w badaniach punkty końcowe są bardzo zróżnicowane.
- Brak analizy statystycznej w większości badań i oceny istotności statystycznej różnic w analizowanych punktach końcowych.
- Większość badań nie przedstawia parametrów trafności diagnostycznej analizowanej interwencji, ani też nie przedstawia wystarczających danych do oszacowanie czułości, specyficzności i wartości predykcyjnych testu lub badania te nie były zaplanowane pod kątem oceny tych punktów końcowych.
- Słabym punktem wielu publikacji jest brak definicji punktów końcowych/różne definicje punktów końcowych, np. zgodność.

Ograniczenia dotyczące typu badania:

- Zdecydowana większość odnalezionych badań w ramach analizy klinicznej są to badania bez grupy kontrolnej (21/23 badań), co ogranicza możliwości wnioskowania.
- Przeprowadzanie oznaczeń w jednym ośrodku przy badaniach jednoramienny powoduje ryzyko selektywnej publikacji wyników przez autorów w celu udowodnienia stawianej hipotezy.
- Podmioty publikujące badania to ośrodki kliniczne o różnym profilu i charakterystycznej dla danego ośrodka populacji pacjentów. Uzyskiwane wyniki mogą nie być porównywalne pomiędzy ośrodkami.

5.6. Analiza bezpieczeństwa

5.6.1. Informacje w zakresie bezpieczeństwa odnalezione w wyniku przeglądu systematycznego

W ramach analizy klinicznej nie odnaleziono punktów końcowych odnoszących się do bezpieczeństwa ocenianego badania genetycznego RQ-PCR.

5.6.2. Dodatkowe informacje w zakresie bezpieczeństwa

W dniach 8-10.12.2021 r. przejrano około 2000 Komunikatów Bezpieczeństwa dotyczących wyrobów medycznych wydanych przez Prezesa URPL w latach 2017–2021 (<http://urpl.gov.pl/pl/wyroby-medyczne/komunikaty-bezpieczenstwa>) oraz przeszukano następujące bazy danych dotyczące bezpieczeństwa:

- baza FDA dotycząca bezpieczeństwa wyrobów medycznych MAUDE – Manufacturer and User Facility Device Experience
- International Medical Devices Database – <https://medicaldevices.icij.org/>
- bazę brytyjską dotyczącą notatek bezpieczeństwa – <https://www.gov.uk/drug-device-alerts>

W Komunikatach Bezpieczeństwa URPL odnaleziono jedną notatkę bezpieczeństwa dotyczącą metody real time PCR firmy Biomerieux z dnia 17.01.2017 r. dotyczącą ograniczeń w używaniu zestawu BK Virus R-gene. Przy wykrywaniu wirusów za pomocą przedmiotowego zestawu w połączeniu z systemem SmartCycler 2.0 otrzymywano wyniki fałszywie ujemne, gdy badane były próbki o niskiej wirēmii.

[URPL]

W bazie MAUDE prowadzonej przez FDA zidentyfikowano 369 zdarzeń niepożądanych związanych z oznaczeniami RQ-PCR, zgrupowanych w bazie pod hasłem Real Time Nucleic Acid Amplification System. 217 zdarzeń dotyczyło wystąpienia błędu podczas wykonywania pomiaru, 66 otrzymania wyniku fałszywie pozytywnego, 45 wystąpienia wycieku z probówek lub urządzenia, 41 innych zdarzeń związanych z procedurą (np. zwarcie instalacji elektrycznej, samozapłon analizatora, zacięcie pokrywy). Dane z bazy FDA w kontekście niniejszego raportu należy traktować jedynie informacyjnie. Nie są to informacje odnoszące się do bezpieczeństwa diagnostyki z użyciem metody w analizowanych jednostkach chorobowych lecz zdarzenia zgłaszane przez użytkowników sprzętu i odczynników stosowanych w procedurze real time PCR (user experience). W dodatku procedura ta znajduje zastosowanie w różnych obszarach diagnostyki, w tym poza onkologią.

W bazie International Medical Devices Database odnaleziono jedną uwagę umieszczoną na stronie Ministerstwa Zdrowia Włoch dotyczącą bezpieczeństwa z dnia 10.07.2017 r. związaną z następującymi odczynnikami: Ipsogen bcr-abl1 mbcr is-mmr kit, Ipsogen bcr-abl1 mbcr is-mmr dx kit, Ipsogen bcr-abl1 mbcr rgq rt-pcr kit, Is-mmr calibrator, których producentem jest firma QIAGEN. Uwaga dotyczyła wykrycia błędu oznakowania w kalibracji IS Cal dla składnika kalibratora IS-MMR zestawu Ipsogen BCR-ABL1 Mbcr IS-MMR, Ipsogen BCR-ABL1 Mbcr IS-MMR DX i Ipsogen BCR-ABL1 Mbcr RGQ RT-PCR.

[Salute]

W brytyjskiej bazie odnaleziono notatkę bezpieczeństwa (ang. Field Safety Notices) z dnia 8.04.2020 r. informującą o zidentyfikowaniu ryzyka fałszywego pozytywnego wyniku mutacji w rzadkich przypadkach, wynikającego z artefaktu fluorescencji w następujących odczynnikach firmy QIAGEN: EGFR RGQ PCR Kit, EGFR Plasma RGQ PCR Kit.

[Drug Device Alerts]

Przeprowadzona analiza bezpieczeństwa wykazała, że istnieje ryzyko uzyskiwania nieprawidłowych wyników w badaniu RQ-PCR. Odnalezione notatki bezpieczeństwa pokazują, że sytuacja taka może się zdarzyć w wyniku stosowania wadliwych odczynników.

6. Przegląd analiz ekonomicznych

W niniejszym opracowaniu odstępiono od przeprowadzenia formalnej analizy ekonomicznej z uwagi na:

- brak jednego ustalonego protokołu wykonywania tego typu badań;
- różnorodność sprzętu używanego przez laboratoria przeprowadzające badanie za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym tzn. laboratoria różnią się możliwościami w zakresie szybkości, ilości i kosztów przeprowadzanych badań;
- różnorodność odczynników używanych przez laboratoria przeprowadzające badanie za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym;
- różne wskazania do stosowania RQ-PCR w procesie diagnostyczno-leczniczym białaczek zidentyfikowanych podczas Analizy Klinicznej, tj. diagnostyka wstępna, monitorowanie minimalnej choroby resztkowej, monitorowanie terapii celowanej TKI.
- szeroką populację kwalifikującą się do wnioskowanego świadczenia.

Jednocześnie, analiza wymagałaby przyjęcia szeregu założeń dotyczących ewentualnych efektów klinicznych ocenianej technologii w dłuższym horyzoncie czasowym. Ponadto diagnostyka molekularna stanowi uzupełnienie dotychczasowego postępowania diagnostycznego a nie alternatywę. W opinii analityków Agencji, na chwilę obecną, dostępnych jest zbyt mało danych, aby móc przeprowadzić wiarygodne oszacowania w ramach analizy ekonomicznej.

Z uwagi na powyższe postanowiono poszukać analiz ekonomicznych dotyczących stosowania badania RQ-PCR w diagnostyce i/lub monitorowaniu pacjentów chorych na białaczkę. W pierwszej kolejności poszukiwano analiz dotyczących państw o podobnym PKB do Polski [AOTMiT PKB]. W przypadku braku odnalezienia takich analiz wyszukiwanie poszerzono o analizy dotyczące innych państw.

W ramach przeprowadzonego w dniu 13.10.2021 r. wyszukiwania systematycznego baz publikacji medycznych, odnaleziono trzy publikacje dotyczące kosztów stosowania badania RQ-PCR u osób chorych na białaczkę: Jabbour 2018, Kumar 2018 oraz Lyu 2017. Analizy dotyczyły odpowiednio: USA, Indii i Chin. Z powodu braku odnalezienia analiz ekonomicznych dla państw o podobnym PKB do Polski, do niniejszej analizy włączono powyższe publikacje.

W poniższej tabeli przedstawiono wyniki analiz ekonomicznych odnalezionych w ramach przeprowadzonego wyszukiwania.

Tabela 24. Wyniki analiz ekonomicznych dotyczących kosztów związanych z badaniem RQ-PCR

Badanie	Wyniki
<p>Jabbour 2018</p> <p><u>Kraj:</u> USA</p> <p><u>Cel:</u> oszacowanie potencjalnego wpływu monitorowania pacjentów z CML i braku monitorowania na koszty opieki zdrowotnej.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Populacją byli pacjenci z przewlekłą białaczką szpikową (CML) z progresją choroby. • Na podstawie danych szacunkowych zawartych w opublikowanej literaturze progresja choroby występuje u 0,35% pacjentów z monitorowaniem i 5,12% pacjentów bez monitorowania, a roczny koszt progresji CML wynosi 136 308 USD na rok na jednego pacjenta. • W analizie stwierdzono, że roczne całkowite koszty opieki zdrowotnej, w tym koszty związane z progresją CML i testami monitorującymi RT-qPCR (trzy testy rocznie), wynoszą 1 142 USD w przypadku pacjentów z monitorowaniem i 6 982 USD w przypadku pacjentów bez monitorowania (różnica 5 840 USD). • Z monitorowaniem mogą wiązać się także inne koszty opieki zdrowotnej, takie jak dodatkowe badania laboratoryjne, coroczna ocena naczyń i wizyty lekarskie, więc całkowity koszt usług monitorowania może być wyższy niż tylko koszt testów RT-qPCR. • W hipotetycznej kohorcie 100 pacjentów z CML, osiągnięcie 100% wskaźnika monitorowania wiązało się z całkowitymi oszczędnościami kosztów w wysokości 584 005 USD w porównaniu z 0% wskaźnikiem monitorowania. • Oszczędność kosztów pozostała niezmienna zarówno w jedno-, jak i wielowariantowych analizach wrażliwości. <p>Średni kurs dolara amerykańskiego (USD) wg NBP na dzień 1.12.2021 r. wyniósł 1 USD=4,1051 PLN. [NBP]</p>
<p>Kumar 2018</p> <p><u>Kraj:</u> Indie</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Populacją byli pacjenci z ostrą białaczką szpikową (AML). • Koszt przeprowadzenia jednego badania real time PCR oceniono na 4000 rupii indyjskich (61 USD)

Badanie	Wyniki
<p><u>Cel:</u> porównanie skuteczności trzech technik molekularnych w wykrywaniu mutacji NPM1 w próbkach krwi obwodowej i szpiku kostnego</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Koszty pirosekwencjonowania – 2500 rupii indyjskich (38 USD) • Koszty sekwencjonowania Sangera – 1500 rupii indyjskich (23 USD) <p>Średni kurs rupii indyjskiej wg NBP na dzień 1.12.2021 r. wynosił 100 INR=5,3414 PLN. [NBP]</p>
<p>Lyu 2017</p> <p><u>Kraj:</u> Chiny</p> <p><u>Cel:</u> opis badania przesiewowego opartego na qRT-PCR w czasie rzeczywistym, umożliwiającą wykrycie 22 genów fuzyjnych powszechnie występujących w białaczkach.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Populacją byli pacjenci z ostrą białaczką szpikową (AML), ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL), zespołami mielodysplastycznymi (MDS), przewlekłą białaczką limfocytową (CLL), przewlekłą białaczką szpikową (CML). • Koszt qRT-PCR dla pojedynczego genu fuzyjnego oszacowano na 55,38 USD • Koszt panelu F-qRT-PCR dla 22 genów fuzyjnych – 253,85 USD • Koszt analizy cytogenetycznej - 132,31 USD • Koszt FISH dla BCR/ABL - 165,63 USD • Koszt panelu FISH dla MDS – 406,54 USD • qRT-PCR jest szybką i kosztowo efektywną metodą wykrywania genów fuzyjnych <p>Średni kurs dolara amerykańskiego (USD) wg NBP na dzień 1.12.2021 r. wynosił 1 USD=4,1051 PLN. [NBP]</p>

Podsumowanie

W zakresie stosowania badania RQ-PCR odnaleziono trzy publikacje opisujące wyniki analiz efektywności kosztowe: Jabbour 2018, Kumar 2018 oraz Lyu 2017.

W publikacji Jabbour 2018 szacowano potencjalny wpływ monitorowania pacjentów z CML i braku monitorowania na koszty opieki zdrowotnej. W analizie stwierdzono, że roczne całkowite koszty opieki zdrowotnej, w tym koszty związane z progresją CML i testami monitorującymi RT-qPCR (trzy testy rocznie), wynoszą 1 142 USD (4693,62 PLN) w przypadku pacjentów z monitorowaniem i 6 982 USD (28 696,02 PLN) w przypadku pacjentów bez monitorowania (różnica 5 840 USD; 24 002,4 PLN). Z monitorowaniem mogą wiązać się także inne koszty opieki zdrowotnej, takie jak dodatkowe badania laboratoryjne, coroczna ocena naczyń i wizyty lekarskie, więc całkowity koszt usług monitorowania może być wyższy niż tylko koszt testów RT-qPCR.

W badaniu Kumar 2018 porównywano skuteczność trzech technik molekularnych (RQ-PCR, sekwencjonowanie Sangera oraz pirosekwencjonowanie) w wykrywaniu mutacji NPM1 w próbkach krwi obwodowej i szpiku kostnego u pacjentów z ostrą białaczką szpikową (AML). W zakresie wyników dotyczących kosztów dane były następujące: koszt jednej reakcji RQ-PCR oceniono na 4000 rupii indyjskich (61 USD; 250,71 PLN), sekwencjonowania Sangera – 23 USD (94,53 PLN), a pirosekwencjonowania – 38 USD (156,18 PLN).

W publikacji Lyu 2017 dokonano opisu metody przesiewowej opartej na ilościowej reakcji PCR (qRT-PCR) w czasie rzeczywistym, umożliwiającą wykrycie 22 genów fuzyjnych powszechnie występujących w białaczkach. W badaniu koszt qRT-PCR dla pojedynczego genu fuzyjnego oszacowano na 55,38 USD (227,61 PLN), panelu 22 genów fuzyjnych – 253,85 USD (1043,32 PLN), analizy cytogenetycznej – 132,31 USD (543,79 PLN), FISH dla BCR/ABL – 165,63 USD (około 680,74 PLN), a panelu FISH dla MDS – 406,54 USD (1670,88 PLN). Zgodnie z uzyskanymi wynikami RQ-PCR jest szybką i efektywną kosztowo metodą wykrywania genów fuzyjnych.

Ograniczenia badań zidentyfikowane przez Analityków Agencji:

- zróżnicowana waluta w poszczególnych badaniach: Jabbour 2018, Lyu 2017 – USD (dolar amerykański), Kumar 2018 – INR (rupia indyjska);
- różne kraje, w których przeprowadzono badania: Jabbour 2018 – USA, Kumar 2018 – Indie, Lyu 2017 – Chiny;
- poszczególne badania charakteryzują się bardzo zróżnicowanymi populacjami: Jabbour 2018 – CML, Kumar 2018 – AML, Lyu 2017 – AML, ALL, MDS, CLL, CML.

Według analityków Agencji wyciągnięcie zbiorczych wniosków może budzić zastrzeżenia, ze względu na wyżej wymienione ograniczenia poszczególnych publikacji oraz fakt, że żadna z publikacji nie odnosi się do kraju o zbliżonym PKB do Polski [AOTMiT PKB].

7. Analiza wpływu finansowania świadczenia opieki zdrowotnej ze środków publicznych na system ochrony zdrowia

7.1. Aktualny stan finansowania badań genetycznych w chorobach nowotworowych

7.1.1. Ambulatoryjna Opieka Specjalistyczna

Aktualny wykaz i warunki realizacji badań genetycznych w zakresie ambulatoryjnej opieki specjalistycznej określa rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 6 listopada 2013 r. w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu ambulatoryjnej opieki specjalistycznej (Dz. U. z 2016 r. poz. 357, z późn. zm.). Zgodnie z załącznikiem nr 2 do ww. rozporządzenia w części „M” wśród świadczeń gwarantowanych w zakresie badań diagnostycznych ujęta jest metoda PCR wraz z jej modyfikacjami. Wskazane świadczenia gwarantowane mogą być wykonywane m.in.: w ramach kompleksowej diagnostyki genetycznej chorób nowotworowych. Szczegóły przedstawiono w tabeli poniżej. Całość części M załącznika nr 2 do rozporządzenia przedstawiono w rozdziale *Załączniki*.

Należy jednocześnie zaznaczyć, że w świetle przepisów ww rozporządzenia, jest możliwe wykonywanie badania PCR i jego modyfikacji, jednakże obecne warunki realizacji badania genetycznego nie precyzują metod diagnostycznych oraz wskazań klinicznych do ich stosowania, szczególnie w kompleksowej diagnostyce genetycznej chorób nowotworowych.

Tabela 25. Badania genetyczne w ramach ambulatoryjnej opieki specjalistycznej [Rozporządzenie Ministra Zdrowia w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu ambulatoryjnej opieki specjalistycznej, zał. nr 2]

Lp	Kod Klasyfikacji Badań Laboratoryjnych	Nazwa świadczenia gwarantowanego	Warunki realizacji świadczeń
M. Badania genetyczne			
913	Brak kodu	Klasyczne badania cytogenetyczne (techniki prążkowe - prążki GTG, CBG, Ag-NOR, QFQ, RBG i wysokiej rozdzielczości HRBT z analizą mikroskopową chromosomów)	1. Poradnia genetyczna z medycznym laboratorium diagnostycznym wpisanym do ewidencji Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych lub medyczne laboratorium diagnostyczne wpisane do ewidencji Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych
914	Brak kodu	Cytogenetyczne badania molekularne (obejmuje analizę FISH – hybrydyzacja in situ z wykorzystaniem fluorescencji – do chromosomów metafazowych i prometafazowych oraz do jąder interfazowych z sondami molekularnymi centromerowymi, malującymi, specyficznymi, telomerowymi, Multicolor-FISH)	2. Personel: 1) lekarz specjalista w dziedzinie genetyki klinicznej oraz diagnosta laboratoryjny ze specjalizacją w dziedzinie laboratoryjnej genetyki medycznej, w przypadku prenatalnej i postnatalnej diagnostyki genetycznej chorób nienowotworowych oraz nowotworów dziedzicznych lub 2) diagnosta laboratoryjny ze specjalizacją w dziedzinie laboratoryjnej genetyki medycznej w przypadku diagnostyki genetycznej nabytych zmian nowotworowych lub innych chorób niewymienionych w pkt 1.
915	Brak kodu	Badania metodami biologii molekularnej (PCR i jej modyfikacje, RFLP, SSCP, HD, sekwencjonowanie i inne) dobranymi w zależności od wie kości i rodzaju mutacji	3. Wyposażenie w sprzęt i aparaturę medyczną: 1) m kroskop; 2) termocykler; 3) wirówka preparacyjna; 4) pipeta automatyczna; 5) sprzęt niezbędny do analizy kwasów nukleinowych.
916	brak kodu	Badania biochemiczne lub enzymatyczne	4. Kryteria kwalifikacji osób wymagających udzielenia świadczenia: 1) w ramach badań prenatalnych dla kobiet w ciąży, (...) 2) <u>w kompleksowej diagnostyce genetycznej chorób nowotworowych;</u> 3) w kompleksowej diagnostyce genetycznej chorób nienowotworowych z uwzględnieniem cytogenetycznych badań molekularnych (...)

Źródło: Obwieszczenie Ministra Zdrowia z dnia 25 stycznia 2016 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Zdrowia w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu ambulatoryjnej opieki specjalistycznej.

Link: <http://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/DocDetails.xsp?id=WDU20160000357>

Świadczenia gwarantowane wymienione w ww. rozporządzeniu dla diagnostyki chorób nowotworowych realizowane są w ambulatoryjnej opiece specjalistycznej oraz w ramach świadczeń kontraktowanych odrębnie.

Produktami rozliczeniowymi w ramach których możliwa jest realizacja diagnostycznych badań genetycznych w chorobach nowotworowych w AOS jest:

- Kompleksowa diagnostyka genetyczna chorób nowotworowych (kod produktu: 5.10.00.0000041)
- Wykrywanie RNA/DNA za pomocą badań molekularnych (PCR/PFGE) (kod produktu: 5.03.00.0000021)

W tabeli poniżej przedstawiono wycenę ww. produktów (wartość punktowa produktu rozliczeniowego).

Tabela 26. Produkty rozliczeniowe w diagnostyce genetycznej chorób nowotworowych w ramach AOS

Kod produktu	Nazwa produktu	Wartość punktowa produktu rozliczeniowego	Warunki realizacji
5.10.00.0000041	Kompleksowa diagnostyka genetyczna chorób nowotworowych	532,51	świadczenie wykonywane w trybie ambulatoryjnym
5.03.00.0000021	Wykrywanie RNA/ DNA za pomocą badań molekularnych (PCR/ PFGE)	309	zał. Nr 2 I Rozporządzenia AOS

Źródło: Zarządzenie Prezesa NFZ Nr 167/2019/DSOZ z dnia 29 listopada 2019 r. w sprawie określenia warunków zawierania i realizacji umów w rodzaju świadczenia zdrowotne kontraktowane odrębnie; Link: <https://www.nfz.gov.pl/zarzadzenia-prezesa/zarzadzenia-prezesa-nfz/zarzadzenie-nr-1672019dsoz,7081.html>

Zarządzenia Prezesa NFZ Nr 129/2021/DSOZ z dnia 09 lipca 2021 r. zmieniającego zarządzenie w sprawie określenia warunków zawierania i realizacji umów o udzielanie świadczeń opieki zdrowotnej w rodzaju ambulatoryjna opieka specjalistyczna, Link: <https://www.nfz.gov.pl/zarzadzenia-prezesa/zarzadzenia-prezesa-nfz/zarzadzenie-nr-1292021dsoz,7390.html>

7.1.2. Leczenie Szpitalne

Diagnostyka genetyczna chorób nowotworowych finansowana w ramach lecznictwa szpitalnego podzielona jest na badania proste, złożone i zaawansowane, w zależności od złożoności użytych technik biologii molekularnej.

Wykaz badań genetycznych możliwych do rozliczenia w ramach lecznictwa szpitalnego określa załącznik nr 7 do zarządzenia Prezesa NFZ Nr 55/2021/DSOZ w sprawie określenia warunków zawierania i realizacji umów w rodzaju leczenie szpitalne oraz leczenie szpitalne – świadczenia wysokospecjalistyczne (tekst ujednoczony ogłoszony dnia 5 sierpnia 2021 r.)

Metoda RQ-PCR została wyszczególniona w kategorii prostych badań genetycznych jako metoda do analizy ekspresji / obecności genu lub kilku genów (w tym genów fuzyjnych) oraz została uwzględniona jako jedna z metod PCR służących do analizy jednej lub kilku mutacji wykrywanych w od jednego do 6 ampikonów. Ponadto metoda RQ-PCR została uwzględniona również w kategorii złożonych badań genetycznych jako jedna z metod PCR służących do analiza kilkudziesięciu mutacji z wykorzystaniem 2 - 3 prostych zestawów diagnostycznych lub jednego złożonego zestawu diagnostycznego do oceny statusu co najmniej 2 - 3 genów.

Warto zwrócić uwagę, iż refundacja w ramach umowy leczenie szpitalne diagnostycznych badań genetycznych w chorobach nowotworowych jest zależna od rodzaju postawionego rozpoznania według kodu ICD-10. W przypadku białaczek refundacja jest ograniczona do kodów: C91.0 Ostra białaczka limfoblastyczna, C91.1 Przewlekła białaczka limfocytowa, C92.0 Ostra białaczka szpikowa, C92.1 Przewlekła białaczka szpikowa, C93.1 Przewlekła białaczka monocytowa.

Tabela 27. Wykaz badań genetycznych w chorobach nowotworowych możliwych do rozliczenia w ramach lecznictwa szpitalnego

Wykaz badań genetycznych w chorobach nowotworowych (ICD-10: C15 – C20, C25, C34, C38, C40, C41, C43, C47, C48, C49, C50, C54, C56, C57, C61, C64, C67, C69, C70, C71, C72, C73, C74, C78.6, C82, C83, C85, C88, C90.0, C90.1, C90.2, C91.0, C91.1, C92.0, C92.1, C93.1, D33, D45, D46, D47, D76- - z rozszerzeniami do pięciu znaków)		
Lp.	Zakres badań genetycznych	Kategoria szczegółowa
1.	Proste badanie genetyczne	1.1. Analiza kariotypu w komórkach nowotworowych przy użyciu jednej metody prążkowej
		1.2. FISH ² /ISH ³ (fluorescencyjna hybrydyzacja in situ) do komórek nowotworowych z zastosowaniem jednej sondy DNA lub sondy z zestawem kontrolnym

		1.3. Prosty test - badanie molekularne Analiza jednej lub kilku mutacji wykrywanych w od jednego do 6 amplikonów przy użyciu reakcji PCR¹⁾ / sekwencjonowania Sangera / prostych zestawów diagnostycznych lub analiza ekspresji / obecności genu lub kilku genów (w tym genów fuzyjnych) przy użyciu metody real-time PCR (RQ-PCR) .		
2.	Złożone badanie genetyczne	2.1. Analiza kariotypu w komórkach nowotworowych przy użyciu dwu lub kilku metod prążkowych		
		2.2. Analiza kariotypu w komórkach nowotworowych przy użyciu jednej metody prążkowej z równoległą analizą FISH ²⁾ z użyciem 1-2 zestawów sond lub z prostym badaniem molekularnym		
		2.3 FISH ²⁾ /ISH ³⁾ do komórek nowotworowych z zastosowaniem zestawu sond (od 2 do 3 zestawów sond)		
		2.4. FISH ²⁾ do komórek nowotworowych z zastosowaniem zestawu sond (od 1 do 2 sond) z równoległą analizą kariotypu lub z prostym badaniem molekularnym		
		2.5. C-Ig-FISH ²⁾ (<i>Cytoplasmic Immunoglobulin FISH</i>) ocena statusu kilku genów w wyodrębnionej populacji plazmocytoz (zestaw sond zgodnie z zaleceniami klinicznymi)		
		2.6. Złożony test - badanie molekularne Analiza 6-40 amplikonów metodą sekwencjonowania Sangera lub NGS lub analiza kilkudziesięciu mutacji przy użyciu prostej reakcji PCR¹⁾ z wykorzystaniem 2 - 3 prostych zestawów diagnostycznych lub jednego złożonego zestawu diagnostycznego do oceny statusu co najmniej 2 - 3 genów lub badanie mutacji dynamicznych lub analiza duplikacji/delecji lub analiza metylacji		
		3.	Zaawansowane badanie genetyczne	3.1. Analiza kariotypu w komórkach nowotworowych przy użyciu jednej metody prążkowej z równoległymi badaniami analizą FISH z użyciem >2 zestawów sond lub z badaniem molekularnym (2 proste lub 1 złożone badanie molekularne)
				3.2. FISH/ISH ^{2),3)} do komórek nowotworowych z zastosowaniem zestawu co najmniej 4 zestawów sond lub z zastosowaniem co najmniej 3 ⁴⁾ zestawów sond z równoległym badaniem molekularnym
				3.3. Test zaawansowany - badanie molekularne Profil ekspresji genów GEP (Gene Expression Profiling) - różne zestawy diagnostyczne dedykowane poszczególnym nowotworom lub sekwencjonowanie NGS (powyżej 40 amplikonów)

¹⁾ - badanie metodą PCR lub modyfikacjami tej metody (RT-PCR, RQ-PCR, nested-PCR, real time PCR i inne)

²⁾ - oznaczenie FISH użyte w tabeli oznacza fluorescencyjną hybrydyzację in situ

³⁾ - oznaczenie ISH użyte w tabeli oznacza niefluorescencyjną hybrydyzację in situ (np. CISH, SISH i metody pokrewne)

⁴⁾ trzech zestawów diagnostycznych identyfikujących niezależne molekularne markery predykcyjne, o ile w równoległym badaniu nie stwierdzono klinicznie istotnych wariantów genetycznych

Źródło: Obwieszczenie Prezesa NFZ w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu zarządzenia Nr 55/2021/DSOZ Prezesa NFZ z dnia 31 marca 2021 r. w sprawie określenia warunków zawierania i realizacji umów w rodzaju leczenie szpitalne oraz leczenie szpitalne – świadczenia wysokospecjalistyczne z dnia 5 sierpnia 2021 r., Link: <https://www.nfz.gov.pl/zarzadzenia-prezesa/zarzadzenia-prezesa-nfz/obwieszczenie-prezesa-nfz,7402.html>

Produkty rozliczeniowe do powyższych kategorii ujęte są w katalogu 1c do sumowania w umowie leczenia szpitalnego [Zarządzenie Prezesa NFZ nr 55/2021/DSOZ]. Produkty przedstawiono w tabeli poniżej.

Tabela 28. Produkty rozliczeniowe w diagnostyce genetycznej chorób nowotworowych w ramach leczenia szpitalnego

Kod produktu	Nazwa produktu	Wartość punktowa
5.53.01.0005001	Podstawowe badanie genetyczne w chorobach nowotworowych	649
5.53.01.0005002	Złożone badanie genetyczne w chorobach nowotworowych	1 298
5.53.01.0005003	Zaawansowane badanie genetyczne w chorobach nowotworowych	2 434

Źródło: Obwieszczenie Prezesa NFZ z dnia 5 sierpnia 2021 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu zarządzenia Nr 55/2021/DSOZ Prezesa NFZ z dnia 31 marca 2021 r. w sprawie określenia warunków zawierania i realizacji umów w rodzaju leczenie szpitalne oraz leczenie szpitalne – świadczenia wysokospecjalistyczne; Link: <https://www.nfz.gov.pl/zarządzenia-prezesa/zarządzenia-prezesa-nfz/obwieszczenie-prezesa-nfz,7402.html>

Zgodnie z załącznikiem 1c powyższe produkty można rozliczyć w dacie hospitalizacji (tryb realizacji świadczeń: tryb jednodniowy, hospitalizacja), podczas której pobrano materiał do badania, nie wcześniej niż po otrzymaniu jego wyniku. Można je sumować z grupami JGP (Jednorodne Grupy Pacjentów) wskazanymi w katalogu 1a oraz z produktem 5.52.01.0001511 Badanie genetyczne materiału archiwalnego z katalogu 1b – kat. produktów odrębnych [Zarządzenie Prezesa NFZ nr 55/2021/DSOZ ze zm.]. Produkt 5.52.01.0001511 Badanie genetyczne materiału archiwalnego, umożliwia rozliczenie badań genetycznych bez hospitalizacji z materiału utwalonego w postaci bloczków parafinowych czy preparatów cytologicznych dostarczonych z innego ośrodka lub pobranych od pacjenta w trakcie wcześniejszej hospitalizacji, w sytuacji konieczności modyfikacji ustalonego planu leczenia. Wartość punktowa świadczenia wynosi 0.

Obecnie powyższe produkty rozliczeniowe dostępne są w ramach 15 zakresów świadczeń wskazanych w załączniku 1c, w tym m.in.: chirurgia dziecięca; chirurgia onkologiczna / chirurgia onkologiczna specjalistyczna / chirurgia onkologiczna dla dzieci; hematologia; onkologia i hematologia dziecięca; onkologia kliniczna/ onkologia kliniczna specjalistyczna.

Ponadto badania genetyczne w chorobach nowotworowych finansowane są w pakiecie onkologicznym, wraz z produktem o kodzie: 5.52.01.0001511 Badanie genetyczne materiału archiwalnego. Warunkiem jaki musi być spełniony, aby świadczenia były finansowane, jest spójność rozpoznania ICD-10 z listy z załącznika nr 7 zgodnie z rozpoznaniem pakietowym oraz wygenerowana karta Diagnostyki i Leczenia Onkologicznego (DiLO). Tym samym badania genetyczne w ramach karty DiLO mogą być finansowane wyłącznie w przypadku kodów ICD-10: C91.0, C91.1, C 92.0, C92.1, C93.1.

7.1.2.1. Programy Lekowe

Zgodnie z tekstem ujednoliconym Zarządzenia Nr 162/2020/DGL Prezesa Narodowego Funduszu Zdrowia, opublikowanym dnia 28 października 2021 r., w sprawie określenia warunków zawierania i realizacji umów w rodzaju leczenie szpitalne w zakresie programy lekowe, w przypadku programów lekowych dotyczących leczenia chorób hematoonkologicznych badania genetyczne wykonywane w trakcie kwalifikacji do programu lekowego finansowane są w ramach odpowiedniego ryczałtu diagnostycznego (§ 23 ust. 4). Obecnie obowiązująca wycena ryczałtów na diagnostykę przedstawiona jest w Załączniku 2 (1I) Katalog ryczałtów do Zarządzenia Prezesa NFZ Nr 190/2021/DGL.

Ponadto, zgodnie z § 26. ust. 2 w przypadkach uzasadnionych medycznie dopuszczalne jest łączne rozliczanie świadczeń z katalogu ryczałtów ze świadczeniami zawartymi w Zarządzeniu Prezesa NFZ w sprawie określenia warunków zawierania i realizacji umów w rodzaju leczenie szpitalne oraz leczenie szpitalne – świadczenia wysokospecjalistyczne, w tym m.in. w:

- katalogu produktów odrębnych określonym w załączniku nr 1b (w tym Badanie genetyczne materiału archiwalnego, kod produktu 5.52.01.0001511),
- katalogu produktów do sumowania określonym w załączniku nr 1c (w tym Podstawowe badanie genetyczne w chorobach nowotworowych, kod produktu 5.53.01.0005001; Złożone badanie genetyczne w chorobach nowotworowych, kod produktu 5.53.01.0005002; Zaawansowane badanie genetyczne w chorobach nowotworowych, kod produktu: 5.53.01.0005003).

Jednocześnie warto wspomnieć, że zgodnie z Obwieszczeniem Ministra Zdrowia z dnia 21 października 2021 r. w sprawie wykazu refundowanych leków, środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego oraz wyrobów medycznych na 1 listopada 2021 r. wśród obowiązujących programów lekowych dotyczących leczenia

białaczek badanie molekularne PCR na obecność genu BCR-ABL jest wymagane przy kwalifikacji do leczenia: dazatynibem, nilotynibem, bosutynibem ponatynibem w ramach programu lekowego B.14 „Leczenie chorych na przewlekłą białaczkę szpikową (ICD-10 C 92.1)”, natomiast badanie molekularne PCR metodą ilościową na obecność BCR-ABL we krwi lub szpiku jest wymagane przy kwalifikacji i w trakcie monitorowania leczenia dazatynibem oraz ponatynibem w ramach programu lekowego B.65 „Leczenie chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ICD-10 C91.0)”. Diagnostyka w powyższych programach lekowych rozliczana jest odpowiednio świadczeniami o kodzie 5.08.08.0000020 Diagnostyka w programie leczenia chorych na przewlekłą białaczkę szpikową (ryczałt roczny 7 008,96 zł) i kodzie 5.08.08.0000073. Diagnostyka w programie leczenia chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (dazatynib, ponatynib, blinatumomab, inotuzumab ozogamycyny) (ryczałt roczny 9 196,80 zł).

7.1.3. Zestawienie produktów rozliczeniowych służących do finansowania badań genetycznych chorób nowotworowych ze środków NFZ

W poniższej tabeli zestawiono produkty rozliczeniowe służące do diagnostyki genetycznej chorób nowotworowych, w ramach których jest możliwość rozliczenia badania PCR, wraz z kwotą refundacji. Przyjęto, że wartość punktu wynosi 1 zł.

Badanie RQ-PCR zostało wyszczególnione wyłącznie w ramach świadczeń szpitalnych, jednakże zapisy świadczeń w AOS nie wskazują na brak możliwości rozliczenia również RQ-PCR. W przypadku programów lekowych dotyczących leczenia chorób hematologicznych badania genetyczne wykonywane w trakcie kwalifikacji do programu lekowego finansowane są w ramach odpowiedniego ryczałtu diagnostycznego.

Należy również zwrócić uwagę, że refundacja w ramach umowy leczenie szpitalne diagnostycznych badań genetycznych w chorobach nowotworowych w przypadku białaczek jest ograniczona do kodów ICD-10: C91.0 Ostra białaczka limfoblastyczna, C91.1 Przewlekła białaczka limfocytowa, C92.0 Ostra białaczka szpikowa, C92.1 Przewlekła białaczka szpikowa, C93.1 Przewlekła białaczka monocytowa.

Tabela 29. Zestawienie produktów rozliczeniowych w diagnostyce genetycznej chorób nowotworowych, w ramach których jest możliwość rozliczenia badania PCR

Kod produktu	Nazwa produktu	Warunki realizacji	Wartość
5.10.00.0000041	Kompleksowa diagnostyka genetyczna chorób nowotworowych	AOS	532,51 zł
5.03.00.0000021	Wykrywanie RNA/DNA za pomocą badań molekularnych (PCR/PFGE) – materiał pobrany podczas porady	AOS	309 zł
5.53.01.0005001	Podstawowe badanie genetyczne w chorobach nowotworowych	Leczenie szpitalne	649 zł
5.53.01.0005002	Złożone badanie genetyczne w chorobach nowotworowych	Leczenie szpitalne	1 298 zł

Źródło: opracowanie własne AOTMiT

7.2. Działania realizowane w ramach Narodowej Strategii Onkologicznej

7.2.1. Programy realizowane w ramach Narodowej Strategii Onkologicznej

Programy kontroli jakości w diagnostyce i opiece nad dziećmi chorymi na nowotwory złośliwe, a także oceny jakości życia i stanu zdrowia dzieci i młodzieży po zakończonym leczeniu przeciwnowotworowym są obecnie finansowane z budżetu Ministra Zdrowia w ramach Narodowej Strategii Onkologicznej (budżet NSO wydatki bieżące, nr zadania w NSO: 21.4.)

Program kontroli jakości w diagnostyce ostrej białaczki u dzieci

Celem programu kontroli jakości w diagnostyce ostrej białaczki u dzieci była poprawa wyników leczenia dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną i ostrą białaczką szpikową przez:

- zastosowanie bardziej intensywnego leczenia u dzieci z cechami rokującymi niekorzystnie;
- zredukowanie intensywności chemioterapii u pacjentów, u których z dużą wiarygodnością można wykluczyć obecność cech rokujących niekorzystnie;

- zmniejszenie toksyczności i późnych następstw leczenia oraz obniżenie kosztów leczenia przez dostosowanie intensywności leczenia do indywidualnej oceny pacjentów.

Dla osiągnięcia założonych celów programu wykorzystywano strategię postępowania opartą na ocenie minimalnej choroby resztkowej, oznaczanej równocześnie przy pomocy metody cytofluorometrycznej i technik molekularnych, co daje szansę na zmniejszenie toksyczności i redukcję kosztów leczenia białaczki u dzieci. Równocześnie, prowadzono centralne weryfikacje wyników badań cytomorfologicznych krwi obwodowej i szpiku oraz badań cytogenetycznych komórek białaczkowych u każdego pacjenta.

[Sprawozdanie NSO]

Tabela 30. Lista realizatorów Programu kontroli jakości w diagnostyce ostrej białaczki u dzieci na lata 2020–2021

L.p.	Nazwa i adres oferenta	Przyznane środki	
		2020	2021
1.	Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie, 30-663 Kraków, ul. Wielicka 265	417 900,00 zł	417 900,00 zł

Źródło: BIP RCL – zał. 2. do OSR

7.2.2. **Wprowadzenie finansowania ze środków publicznych (NFZ) działań na rzecz poprawy wyników leczenia dzieci i młodzieży z wykrytymi nowotworami, kontroli jakości opieki onkologicznej**

Celem tego zadania w ramach NSO jest opracowanie rozwiązań legislacyjnych, które pozwolą na objęcie finansowaniem ze środków NFZ, działań na rzecz poprawy wyników leczenia dzieci i młodzieży z wykrytymi nowotworami oraz kontroli jakości opieki onkologicznej. W ramach tego zadania, Agencja przygotowała raport analityczny pn. „Działania na rzecz poprawy wyników leczenia dzieci i młodzieży z wykrytymi nowotworami, kontroli jakości opieki onkologicznej”, na podstawie którego został przygotowany projekt rozporządzenia Ministra Zdrowia.

[Sprawozdanie NSO]

Świadczenia dotyczące badań MRD dotychczas były finansowane w ramach Narodowego Programu Zwalczenia Chorób Nowotworowych, które kończy się wraz z rokiem 2021. Świadczenie MRD zgodnie z dotychczasowymi ustaleniami jest obecnie standardem postępowania na świecie i powinno być finansowane przez NFZ jako świadczenie gwarantowane.

Realizacja zadania w ramach programu ukierunkowana jest na kontrolę jakości w diagnostyce ostrej białaczki u dzieci, którego celem jest poprawa wyników leczenia dzieci z ostrymi białaczkami, poprzez zastosowanie bardziej intensywnego leczenia, szczególnie u dzieci z cechami niekorzystnymi rokowniczo, a także przez zredukowanie intensywności chemioterapii u dzieci, u których z dużą wiarygodnością można wykluczyć obecność cech niekorzystnych rokowniczo.

Dla osiągnięcia założonych celów, konieczne jest wykorzystanie strategii postępowania opartej na ocenie MRD, oznaczanej równocześnie przy pomocy metody cytofluorometrycznej i technik molekularnych, co daje szansę na zmniejszenie toksyczności i redukcję kosztów leczenia białaczki u dzieci z równocześnie, prowadzoną centralną weryfikacją wyników badań cytomorfologicznych krwi obwodowej i szpiku oraz badań cytogenetycznych komórek białaczkowych u każdego pacjenta.

[BIP RCL – zał. 2. do OSR]

7.2.2.1. **Projekt rozporządzenia Ministra Zdrowia zmieniającego rozporządzenie w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu leczenia szpitalnego**

AOTMiT w ramach opracowania analitycznego „Działania na rzecz poprawy wyników leczenia dzieci i młodzieży z wykrytymi nowotworami, kontroli jakości opieki onkologicznej” będącego załącznikiem do projektu rozporządzenia Ministra Zdrowia zmieniającego rozporządzenie w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu

leczenia szpitalnego opracowało analizę wpływu na budżet dotyczącą diagnostyki i monitorowania minimalnej choroby resztkowej w populacji dziecięcej.

Ze względu na fakt, iż projekt (numer projektu MZ 1226) na dzień oddania raportu analitycznego jest już w fazie legislacji, w niniejszej analizie wpływu na budżet odstąpiono od prezentowania założeń projektu, ponieważ odnosi się ona do całej populacji pacjentów z rozpoznaniem białaczek C.91-C.96, bez ograniczenia do populacji dziecięcej. Jednocześnie koszty przedstawione w ramach OSR uwzględniają pełen schemat diagnostyczno-terapeutyczny z wykorzystaniem badań innych niż wskazane w przedmiotowym świadczeniu.

7.3. Opinia Prezesa NFZ

Dnia 17.09.2021 r., pismem znak WS.430.4.2018.MGŁ przekazano do Prezesa NFZ prośbę o ocenę skutku finansowanego z perspektywy płatnika publicznego. Dnia 19.10.2021 pismem znak DSOZ-SAOS.401.148.2021 Prezes NFZ przekazał odpowiedź. Poniżej przedstawiono treści odpowiedzi Prezesa NFZ w zakresie skutków finansowanych kwalifikacji wnioskowanego świadczenia:

„W ramach leczenia szpitalnego spośród ww. badań dedykowanych dla populacji określonych w poszczególnych „Kartach świadczeń opieki zdrowotnej”, wykonywanych ambulatoryjnie, stosowana jest jedynie metoda RQ-PCR rozliczana łącznie ze świadczeniem z katalogu produktów odrębnych (załącznik 1b) 5.52.01.0001511 - Badanie genetyczne materiału archiwalnego. Katalogowa wycena produktu rozliczeniowego z katalogu do sumowania (załącznik 1c) 5.53.01.0005001 - Podstawowe badanie genetyczne w chorobach nowotworowych, w ramach którego możliwe jest rozliczenie badania RQ-PCR wynosi 649. Z analiz z I półrocza 2021 wynika jednak, że ww. świadczenie jest wykonywane incydentalnie – 4 badania dla rozpoznań określonych w „Karcie świadczeń opieki zdrowotnej”.

We wstępnym oszacowaniu kosztów realizacji pojedynczego badania przyjęto, że grupą docelową są pacjenci z białaczką szpikową (ich liczba wynosi 1 176), u których byłaby stosowana do diagnostyki translokacji oraz do cyklicznego monitorowania (około 1/3 miesiące) skuteczności leczenia z wykorzystaniem drogich leków inhibitorów kinaz. W ramach programów lekowych kwalifikacja do programu oraz monitorowanie leczenia, finansowane są jako ryczałt diagnostyczny, zatem wprowadzenie przedmiotowego świadczenia do rozporządzenia w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu ambulatoryjnej opieki specjalistycznej nie powinna wpłynąć na koszty ponoszone przez płatnika w tym zakresie.

Przyjmując w przekazanym materiale wyliczenie rocznych kosztów dla płatnika publicznego w kwocie 2,7 mln zł dla wskazanej populacji, dodano jednak, że w przyszłości metoda ta będzie mogła znaleźć zastosowanie w diagnostyce molekularnej guzów litych oraz niektórych schorzeń o etiologii genetycznej, co znacząco poszerzyłoby grupę pacjentów i liczbę wykonywanych badań. Dlatego, jeśli koszt w najbliższych latach miałby się utrzymać na podanym poziomie, to konieczne jest jednoznaczne wpisanie w rozporządzeniu Ministra Zdrowia, że świadczenie to obejmuje wyłącznie pacjentów z białaczką szpikową.”

„(...) Podobnie dla badania Real-time PCR (RQ-PCR) w kosztach pośrednich (wynoszących 171 zł) obok wody, energii, etc. ujęto pozycję „nieudane badania”. Wydaje się, że w koszcie świadczenia powinno się ujmować jedynie koszty tego badania, a nie innych, które miałyby je weryfikować. W przypadku wątpliwego wyniku przedmiotowego badania, koszty badań weryfikujących, na które pacjent zostanie skierowany, płatnik poniesie odrębnie, chyba, że w opisie świadczenia zostanie zawarty wymóg weryfikacji wątpliwych wyników z tego samego materiału.”

7.4. Skutki finansowe dla systemu ochrony zdrowia

7.4.1. Oszacowanie wg Karty Świadczenia Opieki Zdrowotnej

W Karcie Świadczenia Zdrowotnego została przedstawiona analiza wpływu na budżet została ukierunkowana na diagnostykę i monitorowanie pacjentów z rozpoznaniem białaczki szpikowej C.92.

Scenariusz oszacowań przedstawionych w KŚOZ

- Szacunkowy koszt realizacji świadczenia na jednego pacjenta – wynosić będzie łącznie **741 zł**.

Na ten koszt składać się będą:

- Materiały jednorazowe (próbówki 0,2 ml i 1,5 ml; końcówki do pipet, rękawiczki jednorazowe, inny drobny sprzęt, wydruki i dokumentacja badania) - 20 zł
- Odczynniki (zestaw odczynników do syntezy cDNA, zestaw odczynników do reakcji real-time PCR, startery dla genu/genów badanych oraz referencyjnych, płytki do reakcji, folia to płytki reakcyjnej) - 350 zł • Sprzęt (spektrofotometr, termocykler, komora laminarna PCR, termocykler do real-time PCR, wirówka) - 100 zł
- Koszt wykonania (sprawdzenie jakości i ilości RNA, przygotowanie rozcieńczeń, synteza cDNA, nastawienie reakcji real-time PCR, analiza wyników, ocena ekspercka diagnosty, przygotowanie wyniku diagnostycznego wraz z interpretacją) - 100 zł RAZEM: 570 zł
- Koszty pośrednie (woda, energia, gaz, telefony, lokal, leasing, administracja, serwis sprzętu, personalne, IT, nieudane badania) - 30%
- Populacja, która ma zostać objęta świadczeniem - pacjenci z rozpoznaniem białaczki (wg ICD-10: C91-C96) – **3582 pacjentów**
- Minimalna populacja – pacjenci z białaczką szpikową, którzy głównie będą korzystali ze świadczenia (populacja wg ICD-10:C92) – **1 176 pacjentów**
- Krotność badań w roku – 3 (łącznie zostanie przeprowadzonych 3 528 badań w roku; 3 x 1 176 osób)

W ramach szacowania powyżej populacji uwzględniono:

- przypadki białaczki szpikowej zdiagnozowane w 2018 r. wg Krajowego Rejestru Nowotworów (KRN) w 2018 roku w Polsce.
- założenie dot. zapotrzebowania na badania metodą real time PCR, w szczególności do prawidłowego rozpoznania poziomu transkryptu określonego genu fuzyjnego i odpowiedniego leczenia pacjentów chorych na CML (przewlekłą białaczkę szpikową); ALL (ostrą białaczkę limfoblastyczną) oraz konieczności monitorowania odpowiedzi na leczenie poprzez badanie chimeryzmu hematopoetycznego i minimalnej choroby resztkowej
- Szacowany skutek finansowy – **2 614 248 zł** (3 528 x 741 zł).

Komentarz AOTMiT:

W scenariuszu **przedstawionych w KŚOZ nie uwzględniono** prognozy wzrostu zapadalności na białaczkę. Wielkość populacji oparto na zachorowaniach wg Krajowego Rejestru Nowotworów (KRN) w 2018 roku w Polsce.

Założono również, że zapotrzebowanie na badania metodą real time PCR będzie 3x większe z powodu konieczności monitorowania skuteczności leczenia pacjentów drogimi lekami terapii celowanej.

7.4.2. Oszacowanie własne AOTMiT

7.4.2.1. Metodyka

Założenia niniejszej analizy wpływu na budżet obejmują próbę zidentyfikowania potencjalnej populacji pacjentów chorych na białaczkę, która będzie objęta wnioskowanym świadczeniem ponad obecnie realizowane świadczenia z zakresu diagnostyki genetycznej. Liczebność populacji oszacowana zostanie w oparciu o dane pochodzące z badania *Global Burden of Diseases*, dane sprawozdawcze NFZ oraz założenia i koszty przedstawione w KŚOZ. Jednocześnie przeanalizowane zostały odnalezione dokumenty wytycznych praktyki klinicznej, celem zidentyfikowania potencjalnych schematów diagnostycznych, w których wykorzystuje się wnioskowane badanie, gdyż technologia RQ-PCR wykorzystywana jest w procesie leczenia białaczek wielokrotnie.

Zdecydowano się na przedstawienie kosztów inkrementalnych, gdyż (rozdział 7.1 Finansowanie badań genetycznych w chorobach nowotworowych) obecnie możliwym jest finansowanie badań z zakresu genetyki, natomiast produkty rozliczeniowe nie precyzują określonej technologii medycznej możliwej do wykorzystania.

Zapotrzebowanie na diagnostykę genetyczną wśród pacjentów chorych na białaczki częściowo jest zabezpieczone, natomiast obecne dane sprawozdawcze nie umożliwiają określenia dokładnej liczby pacjentów, u których wykonywane dotychczasowo było badanie RQ-PCR.

Założenia niniejszej analizy wpływu na budżet obejmują próbę zidentyfikowania potencjalnej populacji pacjentów chorych na białaczki, która będzie objęta wnioskowanym świadczeniem ponad obecnie realizowane świadczenia z zakresu diagnostyki genetycznej oraz oszacowanie przewidywanych wydatków dla płatnika publicznego.

7.4.2.2. Populacja docelowa

Zachorowalność na białaczki w Polsce na podstawie danych Krajowego Rejestru Nowotworów

Zgodnie z danymi zawartymi w KŚOZ, wnioskowane świadczenie znajduje zastosowanie w procesie diagnostyczno-terapeutycznym białaczek z zakresu rozpoznań C91-C96, obejmującego m.in. białaczkę limfatyczną, szpikową, monocytową oraz inne rodzaje białaczek.

Tabela 31. Zachorowania na białaczki wg Krajowego Rejestru Nowotworów (KRN) w latach 2014–2018 w Polsce

ICD-10	Typ nowotworu	2014	2015	2016	2017	2018
C91	Białaczka limfatyczna	1989	1883	1754	1801	1953
C92	Białaczka szpikowa	1276	1102	1096	1119	1176
C93	Białaczka monocytowa	66	81	71	71	72
C94	Inne białaczki określonego rodzaju	132	148	124	375	217
C95	Białaczka z komórek nieokreślonego rodzaju	66	82	62	57	77
C96	Inny i nieokreślony nowotwór złośliwy tkanki limfatycznej, krwiotwórczej i tkanek pokrewnych	71	137	143	76	87
Suma:		3600	3433	3250	3499	3582

Zachorowalność na białaczki w Polsce na podstawie badania *Global Burden of Diseases*.

W poniższej tabeli, przedstawiono dane pochodzące z badania GBD (lata 2010-2019) dotyczące zapadalności na białaczki w populacji polskiej.

Tabela 32. Liczba nowych przypadków białaczek w populacji polskiej (lata 2010-2019)

Rok	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Nowe przypadki	5 219	5 356	5 502	5 603	5 636	5 848	5 936	6 077	6 213	6 333

Źródło: <https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/#>

Średni roczny wzrost liczby nowych zachorowań na białaczki w latach 2010-2019 wynosił 2,18% rocznie, przy czym najniższa wartość rocznego wzrostu wynosiła 0,59%, natomiast najwyższa – 3,76%. Na potrzeby niniejszej analizy przyjęto, iż średni roczny wzrost liczby nowych zachorowań w kolejnych latach będzie równy **2,18%**.

W poniższej tabeli przedstawiono szacunkową liczbę nowych przypadków w latach 2022-2026 przy stałym wzroście corocznym 2,18%.

Tabela 33. Szacunkowa liczba nowych przypadków w latach 2022-2026

Rok	2022	2023	2024	2025	2026
Nowe przypadki	6 756	6 904	7 054	7 208	7 365

Źródło: Oszacowane własne Agencji

Liczba obecnie wykonywanych badań genetycznych u pacjentów z rozpoznaniem C91-C96

W poniższej tabeli przedstawiono dane dotyczące realizacji świadczeń obejmujące produkty rozliczeniowe, w ramach których możliwe jest rozliczenie wnioskowanego badania RQ-PCR, w populacji pacjentów z rozpoznaniem z zakresu C91-C96. Dane przedstawione w poniższej tabeli obejmują wyłącznie unikatowe, niepowtarzalne numery PESEL.

Tabela 34. Dane dotyczące realizacji świadczeń obejmujące produkty rozliczeniowe, w ramach których możliwe jest rozliczenie wnioskowanego badania RQ-PCR, dotyczące populacji pacjentów z rozpoznaniem z zakresu C91-C96

Kod produktu	Nazwa produktu	Liczba pacjentów					
		2019			2020		
		AOS	LSZ	SKO	AOS	LSZ	SKO
5.03.00.0000021	Wykrywanie RNA / DNA za pomocą badań molekularnych (PCR/PFGE)	208			327		
5.10.00.0000041	Kompleksowa diagnostyka genetyczna chorób nowotworowych			2 259			2 035
5.53.01.0005001	Podstawowe badanie genetyczne w chorobach nowotworowych		1 141			1 215	
5.53.01.0005002	Złożone badanie genetyczne w chorobach nowotworowych		581			651	
Suma (unikalni pacjenci):		4 786			4 766		

W niniejszej analizie przyjęto założenie, iż wskazana powyżej populacja pacjentów objęta jest świadczeniami z zakresu genetyki i koszty wynikające z realizacji tych świadczeń są już wydatkowane z budżetu NFZ, w związku z czym nie zostały uwzględnione w niniejszej analizie ukierunkowanej na inkrementalny wzrost kosztów.

7.4.2.3. Koszt świadczenia

Według oszacowań przedstawionych w KŚOZ: wskazano, iż sumaryczny szacunkowy koszt realizacji świadczenia na jednego pacjenta wynosić będzie łącznie **741 zł**. Przedstawiona w KŚOZ wartość, w ocenie analityków Agencji, jest wartością odpowiadającą rzeczywistym kosztom realizacji świadczenia, nie mniej – przed zakwalifikowaniem świadczenia jako świadczenia gwarantowanego, koniecznym będzie przeprowadzenie formalnego procesu taryfikacji świadczenia.

7.4.2.4. Schemat realizacji świadczenia

Wytyczne PTOK 2020b dotyczące przewlekłej białaczki szpikowej wskazują, iż prowadzenie badań w zakresie monitorowania choroby resztkowej przy wykorzystaniu RQ-PCR wykonywane jest w interwałach 3 miesięcznych, co przekłada się na ok. 4 badania w ciągu roku u jednego pacjenta. Wytyczne PTOK 2020a wskazują jednak na wykorzystanie RQ-PCR również w monitorowaniu białaczek m.in. ostrej białaczki limfoblastycznej w interwałach 4-6 tygodni.

Zalecenia nie precyzują szczegółowego schematu stosowania RQ-PCR, w związku z czym w niniejszej analizie przyjęto, iż w zakresie AOS badanie wykonywane będzie łącznie 5 razy na jednego pacjenta – 1 raz podczas diagnostyki wstępnej oraz 4 razy w czasie monitorowania minimalnej choroby resztkowej (przyjęto założenie, iż monitorowanie minimalnej choroby resztkowej będzie trwało przez rok). W niniejszej analizie nie uwzględniano etapu leczenia, gdyż wykonywane jest to w ramach leczenia szpitalnego. Również nie uwzględniano etapu monitorowania leczenia inhibitorami kinazami tyrozynowymi TKI, gdyż założono, że będzie to nadal finansowane w ramach dostępnych programów lekowych i nie stanowi kosztu inkrementalnego

7.4.2.5. Wyniki

Scenariusz według oszacowania własnego AOTMiT

Uwzględniając dane obejmujące zachorowania na białaczki według badania GBD, dane sprawozdawcze NFZ w zakresie liczby osób chorych na białaczki, u których wykonano świadczenia obejmujące badania genetyczne oraz założenia przyjęte w Karcie Świadczenia Opieki Zdrowotnej, załączonej do zlecenia Ministra Zdrowia, przyjęto w scenariuszu dwa warianty.

Wariant 1. (podstawowy) – obejmujący założenia zbliżone do założeń KŚOZ:

- Szacunkowy koszt realizacji świadczenia na jednego pacjenta – łącznie **741 zł**.
 - Koszt przyjęty na podstawie KŚOZ.

- Minimalna populacja do objęcia wnioskowanym świadczeniem (populacja wg ICD-10:C92) – **2 615 pacjentów**
W ramach szacowania uwzględniono:
 - populację z rozpoznaniem wg ICD-10: C92 Białaczka szpikowa, z rozszerzeniami - unikatowe PESELE pacjentów w 2020 r. (na podstawie danych NFZ)
 - założenia z KŚOZ odnoszące się do diagnostyki translokacji oraz cyklicznego monitorowania skuteczności leczenia i monitorowania choroby resztkowej (MRD) głównie w białaczce szpikowej
- Roczna liczba badań na pacjenta z rozpoznaniem wg ICD-10: C92 – 5 badań (1 badanie w ramach diagnostyki nowotworu hematologicznego oraz 4 badania w ramach monitorowania efektów leczenia i choroby resztkowej (MRD). Założono, że wszystkie badania wykonywane są w ramach jednego roku.
 - przyjęte na podstawie wytycznych klinicznych (ESMO 2017, PTOK 2020A, PTOK 2020B, ESMO 2019) i KŚOZ
- Szacowany roczny skutek finansowy – **9 688 575,00 zł** (2 615 x 5 x 741 zł).

Wariant 2. (maksymalny)

- Szacunkowy koszt realizacji świadczenia na jednego pacjenta – łącznie **741 zł**.
 - Koszt przyjęty na podstawie KŚOZ.
- Minimalna populacja do objęcia wnioskowanym świadczeniem (populacja wg ICD-10:C.91-C.96) – **3582 pacjentów** z przewidywane wzrostem na poziomie 2,2 % rocznie
W ramach szacowania uwzględniono:
 - populację z rozpoznaniem wg ICD-10: C.91-C.96 na podstawie danych KRN za rok 2018 – ostatnie dostępne dane
 - zgodnie z danymi KRN za lata 2009-2018 szacunkowy trend wzrostu zachorowalności kształtuje się na poziomie 2,2 % rocznie
 - populacja uwzględniona na podstawie wniosków wynikających z analizy klinicznej oraz wytycznych klinicznych wskazujących na zasadność stosowania RQ-PCR w szerokim spektrum białaczek
- Roczna liczba badań na pacjenta z rozpoznaniem wg ICD-10: C.91-C.96 - 5 badań (1 badanie w ramach diagnostyki nowotworu hematologicznego oraz 4 badania w ramach monitorowania efektów leczenia i choroby resztkowej (MRD). Założono, że wszystkie badania wykonywane są w ramach jednego roku.
 - uśredniona liczba badań na pacjenta przyjęta na podstawie wytycznych klinicznych (ESMO 2017, PTOK 2020A, PTOK 2020B, ESMO 2019) i KŚOZ
- Szacowany roczny skutek finansowy – **13 271 310,00 zł** (3582 x 5 x 741 zł).

Wariant 3. (alternatywny) – obejmujący w założeniach zastosowanie diagnostyki oraz monitorowaniu skuteczności leczenia ukierunkowanego molekularnie we wszystkich rodzajach białaczek na podstawie danych epidemiologicznych GBD

- Szacunkowy koszt realizacji świadczenia na jednego pacjenta – łącznie **741 zł**.
 - Koszt przyjęty na podstawie KŚOZ.
- Szacowana populacja z rozpoznaniem białaczki, możliwa do objęcia analizowanym świadczeniem – na poziomie **6 333** pacjentów z tendencją rosnącą o 2,18% w kolejnych latach.
W ramach szacowania powyżej populacji uwzględniono:
 - dane epidemiologiczne GBD z 2019 roku, wg których rozpoznanych zostało 6 333 nowych przypadków pacjentów chorych na białaczki,

- prognozę wzrostu zapadalności na białaczki na podstawie danych GBD, wynoszącą rocznie średnio 2,18% (prognoza za lata 2010 – 2019),
- Roczna liczba badań na pacjenta - 5 badań (1 badanie w ramach diagnostyki nowotworu hematologicznego oraz 4 badania w ramach monitorowania efektów leczenia i choroby resztkowej (MRD). Założono, że wszystkie badania wykonywane są w ramach jednego roku.
 - Założenia do uśrednionej liczby badań na pacjenta przyjęte na podstawie wytycznych klinicznych (ESMO 2017, PTOK 2020A, PTOK 2020B, ESMO 2019) i KŚOZ
- Szacowany roczny skutek finansowy – **23 463 765, 00 zł** (6 333 x 5 x 741 zł).

7.4.2.6. Ograniczenia

- W KŚOZ wskazano, iż populacją kwalifikującą się do świadczenia są pacjenci z rozpoznaniem z zakresu białaczek (ICD10: C91-C96), natomiast przedstawiona analiza wpływu na budżet płatnika została oparta jedynie o populację pacjentów z białaczką szpikową (C92). Tworzy to nieprecyzyjny obraz założonej populacji objętej świadczeniem, nie wskazując jaka będzie przewidywana liczba pacjentów.
- Brak możliwości pozyskania z danych NFZ rzeczywistej liczby wykonanych badań obejmujących wnioskowaną metodę z uwagi na brak swoistego kodu produktu rozliczeniowego dla RQ-PCR. Metoda ta jest ujęta w produktach rozliczeniowych jako jedno z kilku dostępnych badań. Należy jednak zaznaczyć, iż zgodnie z opinią Prezesa NFZ, z analiz z I półrocza 2021 wynika jednak, że ww. świadczenie w AOS jest wykonywane incydentalnie – 4 badania dla rozpoznań określonych w „Karcie świadczeń opieki zdrowotnej”. (świadczenie 5.53.01.0005001 + 5.52.01.0001511 wykonywane ambulatoryjnie)
- Przedstawiony w analizie wpływu na budżet zawarty w KŚOZ schemat monitorowania odnosi się wyłącznie do monitorowania leczenia przewlekłej białaczki szpikowej (raz na 3 miesiące). W przedstawionej analizie uwzględniono trzykrotne wykonanie testu w ciągu roku. Brak informacji o częstotliwości monitorowania w innych białaczkach.
- Po analizie odnalezionych wytycznych (PTOK 2020) można stwierdzić, że schemat monitorowania zależy od rodzaju białaczki oraz etapu choroby. W niniejszej analizie wpływu na budżet przyjęto uogólniony schemat monitorowania 4 razy w roku dla wszystkich rozpoznań z zakresu białaczek, w nawiązaniu do informacji zawartych w KŚOZ oraz wytycznych PTOK 2020b. Należy mieć na uwadze, że rzeczywista liczba wykonywanych badań może się różnić w zależności od protokołów leczenia poszczególnych białaczek. Jednocześnie, zgodnie z przedstawioną opinią Prof. dr hab. Jan Styczyńskiego, liczba badań w populacji pediatrycznej wynosi od 4 do 10 w grupie wysokiego ryzyka. Jednocześnie świadczenie opisane w KŚOZ nie precyzuje wieku populacji docelowej.
- Brak możliwości oszacowania rzeczywistej populacji – ze względu na to, że byłoby to nowe świadczenie dopiero w najbliższych latach można by było ocenić u ilu pacjentów oceniane świadczenie byłoby stosowane. Analizę oparto na nowych rozpoznaniach, oraz pacjentach obecnie chorujących. Należy mieć także na uwadze fakt, że nie każdy pacjent w dalszej perspektywie będzie monitorowany (wcześniejszy zgon, zakwalifikowanie do programów lekowych).

8. Ocena proponowanego sposobu finansowania

1. W Karcie Świadczenia Opieki Zdrowotnej istnieje niespójność w szacowaniu wstępnego skutku finansowego dla podmiotów zobowiązanych do finansowania świadczeń opieki zdrowotnej ze środków publicznych dotycząca wskazanej populacji docelowej a populacji przyjętej do wyliczeń, tj. populacja docelowa została zdefiniowana jako: C91 – Białaczka limfatyczna, C92 – Białaczka szpikowa, C93 – Białaczka monocytowa, C94 – Inne białaczki określonego rodzaju, C95 – Białaczka z komórek nieokreślonego rodzaju, C96 – Inny i nieokreślony nowotwór złośliwy tkanki limfatycznej, układu krwiotwórczego i tkanek pokrewnych; a oszacowanie wstępnych skutków finansowych zostało przedstawione tylko dla białaczki szpikowej.
2. Dodatkowo, wiek populacji docelowej, która miałaby zostać objęta ocenianym w niniejszym opracowaniu świadczeniem, nie został sprecyzowany w Karcie Świadczenia Opieki Zdrowotnej.
3. Schemat diagnostyki i monitorowania przedstawiony w Karcie Świadczenia Opieki Zdrowotnej odnosi się wyłącznie przewlekłej białaczki szpikowej (raz na 3 miesiące). Brak informacji o częstotliwości monitorowania w innych białaczkach. Po analizie odnalezionych wytycznych (PTOK 2020) można stwierdzić, że schemat monitorowania zależy od rodzaju białaczki oraz etapu choroby. Należy mieć na uwadze, że rzeczywista liczba wykonywanych badań może się różnić w zależności od protokołów leczenia poszczególnych białaczek.
4. Nie jest znane, w jaki sposób wprowadzenie przedmiotowego świadczenia do rozporządzenia w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu ambulatoryjnej opieki specjalistycznej wpłynie na rozkład kosztów pomiędzy programy lekowe, leczenie szpitalnej oraz Ambulatoryjną Opiekę Specjalistyczną.
5. Ze względu na to, że byłoby to nowe świadczenie dopiero w najbliższych latach można by było ocenić u ilu pacjentów oceniane świadczenie byłoby stosowane.

9. Finansowanie ocenianej technologii ze środków publicznych w innych krajach

W dniach 17–21.09.2021 r. przeprowadzono wyszukiwanie w kierunku finansowania RQ-PCR na stronach rządowych innych krajów oraz w wyszukiwarce Google. W ramach przeglądu rozwiązań międzynarodowych szukano informacji finansowania RQ-PCR w następujących krajach: Chorwacja, Estonia, Grecja, Litwa, Łotwa, Portugalia, Rumunia, Słowacja, Węgry (kraje o zbliżonym PKB do Polski) [AOTMiT PKB]. Dodatkowo zdecydowano się na rozszerzenie wyszukiwania o inne wybrane kraje: Australia, Brazylia, Czechy, Francja, Hiszpania, Irlandia, Kanada, Niemcy, Nowa Zelandia, Szwajcaria, USA, Wielka Brytania.

W poniższej tabeli przedstawiono odnalezione informacje w zakresie finansowania RQ-PCR w innych krajach:

Tabela 35. Finansowanie ocenianej technologii ze środków publicznych w innych krajach

Kraj	Rozwiązania międzynarodowe
Brazylia	<p>Badanie metodą PCR i pokrewnymi nie jest finansowane w diagnostyce chronicznych białaczek w Brazylii. Metoda PCR nie została ujęta w wykazie SIGTAP (Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos) w odniesieniu do chronicznych białaczek ani w postaci kodu rozliczeniowego, ani w opisie finansowanych metod co uniemożliwia jej refundację w ramach publicznego systemu opieki zdrowotnej (SUS, The Sistema Único de Saúde).</p> <p>Brak produktu rozliczeniowego dla badania genu fuzyjnego BCR-ABL metodą QR-PCR uniemożliwia molekularne monitorowanie chronicznej białaczki i właściwą ocenę efektów leczenia. [Boquimpani 2021]</p>
Estonia	<p>Rozporządzenie „Eesti Haigekassa tervishoiuteenuste loetelu” ustanawia wykaz świadczeń opieki zdrowotnej i warunków realizacji świadczeń opieki zdrowotnej, które są podstawą do przejścia przez Estoński Fundusz Ubezpieczeń Zdrowotnych (ang. Estonian Health Insurance Fund, EHIF) obowiązku zapłaty za świadczenia opieki zdrowotnej udzielone ubezpieczonemu.</p> <p>Zgodnie z wykazem świadczeń opieki zdrowotnej maksymalna cena badania pod nazwą „Ilościowe oznaczenie biomarkera (patogenu, mutacji genetycznej lub somatycznej) metodą PCR w czasie rzeczywistym” (est. Biomarkeri (patogeeni, geneetilise või somaatilise mutatsiooni) kvantitatiivne määramine <i>real-time</i>-PCR-meetodil) o kodzie 66611 wynosi 116,42 EUR.</p> <p>[List of health services of EHIF 2015]</p> <p>Średni kurs euro (EUR) wg NBP na dzień 1.12.2021 r. wynosił 1 EUR=4,6494 PLN. [NBP]</p>
Portugalia	<p>W dokumencie dotyczącym Portugalii odnaleziono informację dotyczącą wysokości zwrotu kosztów diagnostyki, z wykorzystaniem badania „Amplifikacja PCR z detekcją w czasie rzeczywistym, ilościowa PCR (każda seria w trzech powtórzeniach)” (port. Amplificação por PCR com detecção em tempo real, quantitativo (cada ensaio em triplicado) znajdującego się w kategorii badań biologii molekularnej, wycenionego na 55,90 EUR.</p> <p>[Saude 2014]</p> <p>Średni kurs euro (EUR) wg NBP na dzień 1.12.2021 r. wynosił 1 EUR=4,6494 PLN. [NBP]</p>
Szwajcaria	<p>Poradnictwo genetyczne, jak każda inne świadczenie medyczne, rozliczane jest za pośrednictwem Tarmed. Finansowanie badań genetycznych jest uregulowane w rozporządzeniu EDI (Federalny Departament Spraw Wewnętrznych, niem. Eidgenössisches Departement des Innern) w sprawie świadczeń w obowiązkowym ubezpieczeniu zdrowotnym (rozporządzenie w sprawie świadczeń zdrowotnych, niem. Krankenpflege-Leistungsverordnung – KLV) i zawiera w załączniku 3. tzw. listę badań. Koszty zależą od kosztu analizy i wynoszą od około 350 CHF (np. analiza MLPA w celu wykrycia m krodelecji 22q11.2) do kilku tysięcy CHF (np. ok. 5 000 CHF za sekwencjonowanie genu BRCA1).</p> <p>[SAMW 2011]</p> <p>Struktura taryf TARMED służy rozliczaniu ambulatoryjnych usług medycznych w gabinetach lekarskich i szpitalach. [BAG 2019]</p> <p>Na liście analiz z dnia 1.07.2021 roku, która jest załącznikiem 3. do rozporządzenia w sprawie świadczeń zdrowotnych (niem. Krankenpflege-Leistungsverordnung – KLV) znajdują się:</p> <ul style="list-style-type: none"> – pozycja o numerze 6400.50 – „Nowotwory szpiku”, w której techniką analizy jest „Amplifikacja kwasów nukleinowych w czasie rzeczywistym, jakościowa lub ilościowa, w tym analiza krzywej topnienia (niem. Schmelzkurvenanalytik)”; punkty taryfowe 93,00 oraz – pozycja o numerze 6401.50 – „Nowotwory limfatyczne”, w której techniką analizy jest „Amplifikacja kwasów nukleinowych w czasie rzeczywistym, jakościowa lub ilościowa, w tym analiza krzywej topnienia (niem. Schmelzkurvenanalytik)”; punkty taryfowe 93,00. <p>Wartość punktu taryfowego wynosi 1,00 CHF.</p>

Kraj	Rozwiązania międzynarodowe								
	<p>[Analysenliste 2021] Średni kurs franka szwajcarskiego (CHF) wg NBP na dzień 1.12.2021 r. wynosił 1 CHF=4,5652 PLN. [NBP]</p>								
<p>Wielka Brytania</p>	<p>NHS Genomic Medicine Service ma na celu zapewnienie stałego i równego dostępu do najnowocześniejszych testów genetycznych. W marcu 2017 r. Zarząd NHS England określił swoje strategiczne podejście do budowy National Genomic Medicine Service obejmujący pięć kluczowych elementów:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. krajowa sieć laboratoriów genetycznych (Genomic Laboratory Hubs); 2. krajowy katalog testów genetycznych (National Genomic Test Directory) obejmujący diagnostykę rzadkich i dziedzicznych zaburzeń oraz nowotworów – od analizy pojedynczych genów do sekwencjonowania całego genomu; 3. ogólnokrajowa oferta sekwencjonowania całego genomu (Whole Genomic Sequencing) – we współpracy z Genomics England; 4. zintegrowane usługi kliniczne z zakresu medycyny genetycznej (powstałe w wyniku restrukturyzacji istniejącej oferty z zakresu genetyki klinicznej) i rozwinięta oferta Centrum Medycyny Genetycznej (Genomic Medicine Centre); 5. krajowa funkcja koordynująca i nadzorująca w ramach NHS England (Genomics Unit). <p>[NHS GMS] [NHS 2018] Krajowa sieć laboratoriów genetycznych Od października 2018 r. testy genetycznych przeprowadzane w ramach NHS prowadzone są za pośrednictwem krajowej sieci konsolidującej i rozszerzającej dotychczasową ofertę badań laboratoryjnych. [NHS GLH] Sieć składa się z siedmiu centrów badań genomowych (Genomic Laboratory Hubs, GLHs), z których każde odpowiedzialne jest za koordynację usług dla określonej części kraju. Testy genetyczne stosowane w chorobach nowotworowych Testy genetyczne stosowane w chorobach nowotworowych dla pacjentów NHS w Wielkiej Brytanii są finansowane poprzez krajowy system płatności taryfowych (z wyłączeniem sekwencjonowania całego genomu, który NHS England finansuje na szczeblu krajowym). Testy są objęte płatnością taryfową Healthcare Resource Group (HRG) dla pojedynczego pacjenta. [NHS 2018] Krajowy katalog testów genetycznych Krajowy katalog testów genetycznych 2020/2021 określa, które testy genetyczne są zlecane przez NHS w Anglii oraz technologię, za pomocą której są one dostępne, a także określa warunki uprawniające pacjentów do dostępu do testów. [NHS 2021] Tylko testy zawarte w katalogu są zlecane i opłacane w ramach NHS. Warunkiem refundacji jest wykonanie badania przez krajową sieć laboratoriów genomowych (Genomic Laboratory Hub) lub podwykonawców, zgodnie ze standardami określonymi w specyfikacji usługi. Ogólnokrajowy katalog testów genetycznych 2020/2021 podzielony został na dwa katalogi: katalog testów dla rzadkich i dziedzicznych chorób oraz katalog testów dla chorób nowotworowych. Katalog testów chorób nowotworowych obejmuje następujące grupy technologii stosowanych w refundowanych testach genetycznych: m. in. QF-PCR lub badanie równoważne (w tym RT-qPCR). Zestawienie informacji dotyczących testów genetycznych zalecanych i refundowanych w ramach NHS na potrzeby danego raportu przedstawia tabela poniżej. Tabela 2. Wybrane testy genetyczne refundowane w ramach NHS, w danych wskazaniach klinicznych</p> <table border="1" data-bbox="448 1518 1445 2018"> <thead> <tr> <th data-bbox="448 1518 687 1626" rowspan="2">Test</th> <th colspan="2" data-bbox="687 1518 1445 1563">Wskazanie kliniczne (grupy wskazań)</th> </tr> <tr> <th data-bbox="687 1563 1082 1626">Katalog chorób nowotworowych</th> <th data-bbox="1082 1563 1445 1626">Katalog chorób rzadkich i dziedzicznych</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="448 1626 687 2018"> Real-time RQ-PCR (<i>real-time quantitative polymerase chain reaction</i>) </td> <td data-bbox="687 1626 1082 2018"> W katalogu nie odnaleziono wskazań do wykonania badania real-time RQ-PCR. W ALL, CML, układowej mastocytozie oraz w wybranych guzach hematologicznych zalecane wskazania obejmują badanie wybranych genów z zastosowaniem technologii: RT-qPCR (quantitative reverse transcription PCR) i/lub QF-PCR (quantitative fluorescence PCR). We wszystkich wskazaniach klinicznych katalog wymienia jako test walidacyjny zastosowanie technologii „QF-PCR lub równoważnej”. </td> <td data-bbox="1082 1626 1445 2018"> W katalogu nie odnaleziono wskazań do wykonania badania real-time RQ-PCR. </td> </tr> </tbody> </table> <p>[NHS 2021a]</p>	Test	Wskazanie kliniczne (grupy wskazań)		Katalog chorób nowotworowych	Katalog chorób rzadkich i dziedzicznych	Real-time RQ-PCR (<i>real-time quantitative polymerase chain reaction</i>)	W katalogu nie odnaleziono wskazań do wykonania badania real-time RQ-PCR. W ALL, CML, układowej mastocytozie oraz w wybranych guzach hematologicznych zalecane wskazania obejmują badanie wybranych genów z zastosowaniem technologii: RT-qPCR (quantitative reverse transcription PCR) i/lub QF-PCR (quantitative fluorescence PCR). We wszystkich wskazaniach klinicznych katalog wymienia jako test walidacyjny zastosowanie technologii „QF-PCR lub równoważnej”.	W katalogu nie odnaleziono wskazań do wykonania badania real-time RQ-PCR.
Test	Wskazanie kliniczne (grupy wskazań)								
	Katalog chorób nowotworowych	Katalog chorób rzadkich i dziedzicznych							
Real-time RQ-PCR (<i>real-time quantitative polymerase chain reaction</i>)	W katalogu nie odnaleziono wskazań do wykonania badania real-time RQ-PCR. W ALL, CML, układowej mastocytozie oraz w wybranych guzach hematologicznych zalecane wskazania obejmują badanie wybranych genów z zastosowaniem technologii: RT-qPCR (quantitative reverse transcription PCR) i/lub QF-PCR (quantitative fluorescence PCR). We wszystkich wskazaniach klinicznych katalog wymienia jako test walidacyjny zastosowanie technologii „QF-PCR lub równoważnej”.	W katalogu nie odnaleziono wskazań do wykonania badania real-time RQ-PCR.							

Podsumowanie

W odniesieniu do możliwości wykonywania badań genetycznych z zastosowaniem RQ-PCR odnaleziono informacje pochodzące z 5 krajów, tj. Brazylii, Estonii, Portugalii, Szwajcarii oraz Wielkiej Brytanii:

- W Brazylii badanie metodą PCR i pokrewnymi nie jest finansowane w diagnostyce chronicznych białaczek. Metoda PCR nie została ujęta w wykazie SIGTAP (Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos) w odniesieniu do chronicznych białaczek ani w postaci kodu rozliczeniowego, ani w opisie finansowanych metod co uniemożliwia jej refundację w ramach publicznego systemu opieki zdrowotnej (SUS, The Sistema Único de Saúde).
- W Estonii zgodnie z wykazem świadczeń opieki zdrowotnej, który jest podstawą do przejścia przez Estoński Fundusz Ubezpieczeń Zdrowotnych (ang. Estonian Health Insurance Fund, EHIF) obowiązku zapłaty za świadczenia opieki zdrowotnej udzielone ubezpieczonemu, maksymalna cena badania pod nazwą „Ilościowe oznaczenie biomarkera (patogenu, mutacji genetycznej lub somatycznej) metodą PCR w czasie rzeczywistym” (est. Biomarkeri (patogeeni, geneetilise või somaatilise mutatsiooni) kvantitatiivne määramine real-time-PCR-meetodil) o kodzie 66611 wynosi 116,42 EUR (około 541,35 PLN).
- W dokumencie dotyczącym Portugalii odnaleziono informację w zakresie wysokości zwrotu kosztów diagnostyki, z wykorzystaniem badania „Amplifikacja PCR z detekcją w czasie rzeczywistym, ilościowa PCR (każda seria w trzech powtórzeniach)” (port. Amplificação por PCR com deteção em tempo real, quantitativo (cada ensaio em triplicado) znajdującego się w kategorii badań biologii molekularnej, wycenionego na 55,90 EUR (około 259,94 PLN).
- W Szwajcarii finansowanie badań genetycznych jest uregulowane w rozporządzeniu EDI (Federalny Departament Spraw Wewnętrznych, niem. Eidgenössisches Departement des Innern) w sprawie świadczeń w obowiązkowym ubezpieczeniu pielęgniarstwie (rozporządzenie w sprawie świadczeń zdrowotnych, niem. Krankenpflege-Leistungsverordnung – KLV) i zawiera w załączniku 3. tzw. listę badań. Na liście analiz z dnia 1.07.2021 roku znajdują się dwie pozycje o numerach 6400.50 – „Nowotwory szpiku” oraz 6401.50 – „Nowotwory limfatyczne”, w których techniką analizy jest „Amplifikacja kwasów nukleinowych w czasie rzeczywistym, jakościowa lub ilościowa, w tym analiza krzywej topnienia (niem. Schmelzkurvenanalytik)”. Punkty podatkowe w obu pozycjach wynoszą 93,00. Wartość punktu taryfowego wynosi 1,00 CHF (około 4,57 PLN).
- W Wielkiej Brytanii w ALL, CML, układowej mastocytozie oraz w wybranych guzach hematologicznych zalecane wskazania obejmują badanie wybranych genów z zastosowaniem technologii: RT-qPCR (quantitative reverse transcription PCR) i/lub QF-PCR (quantitative fluorescence PCR).

Nie odnaleziono informacji na temat finansowania ocenianej technologii ze środków publicznych w krajach o zbliżonym PKB do Polski. [AOTMiT PKB]

10. Piśmiennictwo

Badania pierwotne i wtórne

- Arpinati 2013** Arpinati M et al., Molecular monitoring of BCR-ABL transcripts after allogeneic stem cell transplantation for chronic myeloid leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013 May;19(5):735-40. doi: 10.1016/j.bbmt.2013.01.007. Epub 2013 Jan 17. PMID: 23333776.
- Berdeja 2019** Jesus G. Berdeja et al., (2019): Rates of deep molecular response by digital and conventional PCR with frontline nilotinib in newly diagnosed chronic myeloid leukemia: a landmark analysis, *Leukemia & Lymphoma*, DOI: 10.1080/10428194.2019.1590569
- Bernardi 2019** Bernardi S, Malagola M, Zanaglio C, et al. Digital PCR improves the quantitation of DMR and the selection of CML candidates to TKIs discontinuation. *Cancer Med.* 2019;8:2041–2055
- Cazzaniga 2018** Cazzaniga G. et al., Predictive value of minimal residual disease in Philadelphia-chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia treated with imatinib in the European intergroup study of post-induction treatment of Philadelphia-chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia, based on immunoglobulin/T-cell receptor and BCR/ABL1 methodologies *Haematologica* 2018 Volume 103(1):107-115
- Cortes 2020** Cortes A. et al., Comparison of Droplet Digital PCR versus qPCR Measurements on the International Scale for the Molecular Monitoring of Chronic Myeloid Leukemia Patients, <https://doi.org/10.1007/s40291-020-00485-4>
- Della-Starza 2016** Della-Starza I. et al., Comparative analysis between RQ-PCR and digital-droplet-PCR of immunoglobulin/T-cell receptor gene rearrangements to monitor minimal residual disease in acute lymphoblastic leukaemia, *British Journal of Haematology*, 2016,174,541–549
- Denys 2013** Denys B. et al., Improved flow cytometric detection of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia, *Leukemia* (2012), 1–7
- Franke 2020** Franke G-N et al., Comparison of Real-Time quantitative PCR and digital droplet PCR for BCR-ABL1 Monitoring in Patients with Chronic Myeloid Leukemia, *The Journal of Molecular Diagnostics* (2019), doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2019.08.007>
- Gaipa 2012** Gaipa G et al. Time point-dependent concordance of flow cytometry and real-time quantitative polymerase chain reaction for minimal residual disease detection in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2012;97(10):1586-1593
- Garand 2013** Garand R. et al., Flow cytometry and IG/TCR quantitative PCR for minimal residual disease quantitation in acute lymphoblastic leukemia: a French multicenter prospective study on behalf of the FRALLE, EORTC and GRAALL Leukemia (2012), 1–7
- Kumar 2018** Kumar D. et al., NPM1 Mutation Analysis in Acute Myeloid Leukemia: Comparison of Three Techniques - Sanger Sequencing, Pyrosequencing, and Real-Time Polymerase Chain Reaction *Turk J Hematol* 2018;35:49-53
- Jabbour 2018** Elias J. et al., Brandy Menges & Dinara Makenbaeva (2018) Economic value of regular monitoring of response to treatment among US patients with chronic myeloid leukemia based on an economic model, *Journal of Medical Economics*, 21:10, 1036-1040, DOI: 10.1080/13696998.2018.1508023
- Lyu 2017** Lyu et al., Detection of 22 common leukemic fusion genes using a single-step multiplex qRT-PCR-based assay, *Diagnostic Pathology* (2017) 12:55
- Modvig 2019** Modvig S. et al., Minimal residual disease quantification by flow cytometry provides reliable risk stratification in T-cell acute lymphoblastic leukemia, <https://doi.org/10.1038/s41375-018-0307-6>
- Modvig 2021** Modvig S. et al., Value of flow cytometry for MRD-based relapse prediction in B-cell precursor ALL in a multicenter setting, *Leukemia* (2021) 35:1894–1906
- Mori 2015** Mori S. et al., Age and dPCR can predict relapse in CML patients who discontinued imatinib: The ISAV study, doi:10.1002/ajh.24120
- Ouyang 2016** Ouyang J. et al., Comparison of Multiparameter Flow Cytometry Immunophenotypic Analysis and Quantitative RT-PCR for the Detection of Minimal Residual Disease of Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia, *Am J Clin Pathol* June 2016;145:769-777
- Pan 2021** Pan Z. et al., Study on the detective value of qPCR for BCR-ABL fusion gene expression in patients with chronic myeloid leukemia, *Int J Clin Exp Med* 2021;14(3):1489-1495
- Raponi 2014** Raponi S. et al., Minimal residual disease monitoring in chronic lymphocytic leukaemia patients. A comparative analysis of flow cytometry and ASO IgH RQ-PCR, doi:10.1111/bjh.12887
- Theunissen 2017** Theunissen P. et al., Standardized flow cytometry for highly sensitive MRD measurements in B-cell acute lymphoblastic leukemia, doi:10.1182/blood-2016-07-726307

Thorn 2011 Thorn I. et al., Minimal residual disease assessment in childhood acutelymphoblastic leukaemia: a Swedish multi-centre studycomparing real-time polymerase chain reaction and multicolourflow cytometry *British Journal of Haematology*,152,743–753

Wang 2018 Wang H., Droplet Digital PCR for BCR/ABL (P210) Detecting of CML: A High Sensitive Method of the Minimal Residual Disease& Disease Progression, doi: 10.1111/ejh.13084

Willekens 2016 Willekens C. et al., Prospective long-term minimal residual disease monitoring using RQ-PCR in RUNX1-RUNX1T1-positive acute myeloidleukemia: results of the French CBF-2006 trial, *Haematologica* 2016 Volume 101(3):328-335

Zhang 2014 Zgang L. et al., Monitoring the AML1/ETO Fusion Transcript to Predict Outcome in Childhood Acute Myeloid Leukemia, *Pediatr Blood Cancer* 2014;61:1761–1766

Rekomendacje kliniczne i finansowe

ASCO 2018 American Society of Clinical Oncology, Initial Diagnostic Work-Up of Acute Leukemia: ASCO Clinical Practice Guideline Endorsement of the College of American Pathologists and American Society of Hematology Guideline, 2018, DOI <https://doi.org/10.1200/JCO.18.01468>

ELN 2017 European LeukemiaNet, Diagnosis and Management of AML in Adults: 2017 ELN Recommendations from an International Expert Panel, 2017, DOI 10.1182/blood-2016-08-733196

ELN 2020 European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia, *Leukemia* (2020) 34:966–984 <https://doi.org/10.1038/s41375-020-0776-2>

ESMO 2017 European Society for Medical Oncology, Chronic myeloid leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up, *Annals of Oncology* 28 (Supplement 4): iv41–iv51, 2017 doi:10.1093/annonc/mdx219

NIH 2021 National Institutes of Health, National Cancer Institute, Acute Myeloid Leukemia Treatment (PDQ®)–Health Professional Version, 2021, <https://www.cancer.gov/types/leukemia/hp/adult-aml-treatment-pdq> [dostęp: 9.09.2021]

NIH 2021a National Institutes of Health, National Cancer Institute, Chronic Myelogenous Leukemia Treatment (PDQ®)–Health Professional Version, 2021, <https://www.cancer.gov/types/leukemia/hp/cml-treatment-pdq> [dostęp: 9.09.2021]

PTOK 2020 Polskie Towarzystwo Onkologii Klinicznej, Ostra białaczka szpikowa, 2020, http://onkologia.zalecenia.med.pl/pdf/zalecenia_PTOK_tom2_1.10.Ostra_bialaczka_szpikowa_200520.pdf [dostęp: 9.09.2021]

PTOK 2020a Polskie Towarzystwo Onkologii Klinicznej, Ostra białaczka limfoblastyczna i chłoniaki limfoblastyczne, 2020, http://onkologia.zalecenia.med.pl/pdf/zalecenia_PTOK_tom2_2.4.%20Ostra_bialaczka_limfoblastyczna_i_chloniaki_limfoblastyczne_200520.pdf [dostęp: 9.09.2021]

PTOK 2020b Polskie Towarzystwo Onkologii Klinicznej, Przewlekła białaczka szpikowa, 2020, http://onkologia.zalecenia.med.pl/pdf/zalecenia_PTOK_tom2_1.3.Przewlekla_bialaczka_szpikowa_200520.pdf [dostęp: 15.11.2021]

NCCN 2022 National Comprehensive Cancer Network (2021). Chronic Myeloid Leukemia, Version 2.2022. <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1427> [dostęp: 2.12.2021]

NCCN 2022a National Comprehensive Cancer Network. (2021). NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. 1.2022 <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1496> [dostęp: 2.12.2021]

NCCN 2022b National Comprehensive Cancer Network (2021). Acute Myeloid Leukemia, Version 1.2022. <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1411> [dostęp: 2.12.2021]

NCCN 2022c National Comprehensive Cancer Network (2021). Acute Lymphoblastic Leukemia, Version 2.2021. <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1410> [dostęp: 2.12.2021]

Pozostałe publikacje

Analysenliste 2021 Krankenpflege-Leistungsverordnung KLV, Anhang 3 Analysenliste, Ausgabe vom 01.07.2021, <https://www.bag.admin.ch/bag/de/home/versicherungen/krankenversicherung/krankenversicherung-g-leistungen-tarife/Analysenliste.html> [dostęp: 21.09.2021]

AOTMiT PKB <https://www2.aotm.gov.pl/komunikat-wykaz-krajow-pkb-zblizone-polska-2018/> [dostęp: 21.09.2021]

BAG 2019 Bundesamt für Gesundheit BAG, Tarifsystem TARMED <https://www.bag.admin.ch/bag/de/home/versicherungen/krankenversicherung/krankenversicherung-g-leistungen-tarife/Aerztliche-Leistungen-in-der-Krankenversicherung/Tarifsystem-Tarmed.html> [dostęp: 21.09.2021]

- Bassan 2019** Bassan, R., Brüggemann, M., Radcliffe, H. S., Hartfield, E., Kreuzbauer, G., & Wetten, S. (2019). A systematic literature review and meta-analysis of minimal residual disease as a prognostic indicator in adult B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*, 104(10), 2028.
- Bauer 2012** Bauer, S., & Romvari, E. (2012). Interpreting molecular monitoring results and international standardization in chronic myeloid leukemia. *Journal of the advanced practitioner in oncology*, 3(3), 151.
- BIP RCL – zał. 2. do OSR** Działania na rzecz poprawy wyników leczenia dzieci i młodzieży z wykrytymi nowotworami, kontroli jakości opieki onkologicznej, Opracowanie analityczne AOTMiT Nr: WS. 4220.4.2021, ZAŁĄCZNIK 4 do opracowania analitycznego AOTMiT Nr: WS.4320.19.2020 <https://legislacja.gov.pl/docs//516/12353511/12830872/12830873/dokument530926.pdf> [dostęp: 10.12.2021]
- Boquimpani 2021** Boquimpani CM, Abdo ANR, Martins DP, Lima LBA, Torriani MS, Bendit I. Inclusion of molecular monitoring (BCR-ABL1) in the treatment of chronic myeloid leukemia in the Brazilian Public Health System (SUS): an urgent need for treatment management. *Hematol Transfus Cell Ther.* 2021
- Drug Device Alerts** Summary list of field safety notices (FSNs) from medical device manufacturers from 6 to 9 April 2020, <https://www.gov.uk/drug-device-alerts/field-safety-notice-6-to-9-april-2020> [dostęp:13.12.2021]
- GBD** Global Health Data Exchange
<http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool> [dostęp 20.12.2021]
- List of health services of EHIF 2015** Eesti Haigekassa tervishoiuteenuste loetelu,
<https://www.riigiteataja.ee/akt/122122015054> [dostęp: 21.09.2021]
- NBP** Narodowy Bank Polski, Tabela A kursów średnich – archiwum, Tabela nr 232/A/NBP/2021 z dnia 2021-12-01, <https://www.nbp.pl/home.aspx?navid=archa&c=/ascx/tabarch.ascx&n=a232z211201> [dostęp: 1.12.2021]
- NHS 2021** National Health Service, 2021, National Genomic Test Directory, <https://www.england.nhs.uk/publication/national-genomic-test-directories/>, [dostęp: 21.09.2021]
- NHS 2021a** National Health Service, 2021, National Genomic Test Directory for cancer, <https://www.england.nhs.uk/wp-content/uploads/2018/08/National-Genomic-Test-Directory-Cancer-November-2020-21.xlsx> [dostęp: 1.10.2021]
- NHS GLH** National Health Service, Genomic Laboratory Hubs, <https://www.england.nhs.uk/genomics/genomic-laboratory-hubs/> [dostęp: 21.09.2021]
- NHS GMS** National Health Service, NHS Genomic Medicine Service, <https://www.england.nhs.uk/genomics/nhs-genomic-med-service/> [dostęp: 21.09.2021]
- NHS 2018** National Health Service, 2018, 2018/2019 final draft National Genomic Test Directory FAQ, <https://www.england.nhs.uk/wp-content/uploads/2018/08/national-genomic-test-directory-faqs.pdf> [dostęp: 21.09.2021]
- onkologia.org.pl** Krajowy Rejestr Nowotworów. Białaczki (C91-95)
<http://onkologia.org.pl/bialaczki-c91-95-2/>
- PQStat** PQStat, Współczynnik Kappa Cohena i test badający jego istotność,
<http://manuals.pqstat.pl/statpqpl:zgodnpl:nparpl:kappalpl> [dostęp:13.12.2021]
- Salute** Ministero della Salute,
https://www.salute.gov.it/portale/news/p3_2_1_3_1_1.jsp?lingua=italiano&menu=notizie&p=avvisi&tipo=dispo&id=7547 [dostęp:13.12.2021]
- SAMW 2011** Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften, Genetik im medizinischen Alltag Ein Leitfaden für die Praxis, 2011 https://www.samw.ch/dam/jcr:e7c2f6b4-73dc-47ba-8afc32373fb30171/leitfaden_samw_genetik.pdf [dostęp: 21.09.2021]
- Saude 2014** Diário da República, 1.ª série — N.º 20 — 29 de janeiro de 2014, <https://diretiva.min-saude.pt/wp-content/uploads/sites/2/2014/08/Portaria-n.%C2%BA-20-2014-de-20-de-janeiro-%E2%80%93-Tabela-de-pre%C3%A7os-a-praticar-pelo-Servi%C3%A7o-Nacional-de-Sa%C3%BAde1.pdf> [dostęp: 21.09.2021]
- Seferyńska 2014** Seferyńska, I., & Warzocha, K. (2014). Raport z rejestru zachorowań na ostre białaczki u osób dorosłych w Polsce w latach 2004–2010 prowadzonego przez Instytut Hematologii i Transfuzjologii w imieniu Polskiej Grupy ds. Leczenia Białaczek u Dorosłych (PALG). *Hematologia*, 5(2), 162-172.
- Sprawozdanie NSO** Ministerstwo Zdrowia, Narodowa Strategia Onkologiczna, Sprawozdanie za rok 2020 <https://www.gov.pl/web/zdrowie/narodowa-strategia-onkologiczna-nso> [dostęp: 8.12.2021]

- URPL** Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych, Notatka bezpieczeństwa firmy Biomerieux dotycząca ograniczeń w używaniu zestawu BK Virus R-gene, nr kat. 69-013B, używanego w testach Real-Time PCR, <http://urpl.gov.pl/pl/notatka-bezpiecze%C5%84stwa-firmy-biomerieux-dotycz%C4%85ca-ogranicze%C5%84-w-u%C5%BCywniu-zestawu-bk-virus-r-gene-nr> [dostęp:13.12.2021]
- Van der Helden 2007** Van der Velden, V. H. J., Cazzaniga, G., Schrauder, A., Hancock, J., Bader, P., Panzer-Grumayer, E. R., ... & Van Dongen, J. J. M. (2007). Analysis of minimal residual disease by Ig/TCR gene rearrangements: guidelines for interpretation of real-time quantitative PCR data. *Leukemia*, 21(4), 604-611.

11. Załączniki

11.1. Strategie wyszukiwania publikacji

Tabela 36. Strategia wyszukiwania w bazie Medline via PubMed (data ostatniego wyszukiwania: 13.10.2021)

Nr	Kwerenda	Liczba rekordów
#28	Search: (((((((("Leukemia"[Mesh]) OR (leukemia*[Title/Abstract]) OR (leucocythaemia*[Title/Abstract]) OR (leucocythemia*[Title/Abstract]) OR (hematoonolog*[Title/Abstract]) OR (haematoonolog*[Title/Abstract]) OR ("Gene Fusion"[Mesh]) OR (fusion* gen*[Title/Abstract])) AND (((((((("Real-Time Polymerase Chain Reaction"[Mesh]) OR (Real Time PCR*[Title/Abstract]) OR (Real Time Polymerase Chain Reaction[Title/Abstract]) OR (Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction[Title/Abstract]) OR (Quantitative Real Time PCR*[Title/Abstract]) OR (RQ PCR*[Title/Abstract]) OR (qPCR*[Title/Abstract]) OR (quantitative PCR*[Title/Abstract])) AND (((("Sensitivity and Specificity"[Mesh]) OR ("Predictive Value of Tests"[Mesh]) OR (Sensitivity[Title/Abstract]) OR (Specificity[Title/Abstract]) OR (Predicti*[Title/Abstract])) Filters: in the last 10 years, Humans	570
#27	Search: (((((((("Leukemia"[Mesh]) OR (leukemia*[Title/Abstract]) OR (leucocythaemia*[Title/Abstract]) OR (leucocythemia*[Title/Abstract]) OR (hematoonolog*[Title/Abstract]) OR (haematoonolog*[Title/Abstract]) OR ("Gene Fusion"[Mesh]) OR (fusion* gen*[Title/Abstract])) AND (((((((("Real-Time Polymerase Chain Reaction"[Mesh]) OR (Real Time PCR*[Title/Abstract]) OR (Real Time Polymerase Chain Reaction[Title/Abstract]) OR (Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction[Title/Abstract]) OR (Quantitative Real Time PCR*[Title/Abstract]) OR (RQ PCR*[Title/Abstract]) OR (qPCR*[Title/Abstract]) OR (quantitative PCR*[Title/Abstract])) AND (((("Sensitivity and Specificity"[Mesh]) OR ("Predictive Value of Tests"[Mesh]) OR (Sensitivity[Title/Abstract]) OR (Specificity[Title/Abstract]) OR (Predicti*[Title/Abstract])) Filters: in the last 10 years	712
#26	Search: (((((((("Leukemia"[Mesh]) OR (leukemia*[Title/Abstract]) OR (leucocythaemia*[Title/Abstract]) OR (leucocythemia*[Title/Abstract]) OR (hematoonolog*[Title/Abstract]) OR (haematoonolog*[Title/Abstract]) OR ("Gene Fusion"[Mesh]) OR (fusion* gen*[Title/Abstract])) AND (((((((("Real-Time Polymerase Chain Reaction"[Mesh]) OR (Real Time PCR*[Title/Abstract]) OR (Real Time Polymerase Chain Reaction[Title/Abstract]) OR (Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction[Title/Abstract]) OR (Quantitative Real Time PCR*[Title/Abstract]) OR (RQ PCR*[Title/Abstract]) OR (qPCR*[Title/Abstract]) OR (quantitative PCR*[Title/Abstract])) AND (((("Sensitivity and Specificity"[Mesh]) OR ("Predictive Value of Tests"[Mesh]) OR (Sensitivity[Title/Abstract]) OR (Specificity[Title/Abstract]) OR (Predicti*[Title/Abstract]))	1,110
#25	Search: (((("Sensitivity and Specificity"[Mesh]) OR ("Predictive Value of Tests"[Mesh]) OR (Sensitivity[Title/Abstract]) OR (Specificity[Title/Abstract]) OR (Predicti*[Title/Abstract]))	2,170,468
#24	Search: Predicti*[Title/Abstract]	835,170
#23	Search: Specificity[Title/Abstract]	502,998
#22	Search: Sensitivity[Title/Abstract]	874,424
#21	Search: "Predictive Value of Tests"[Mesh] Sort by: Most Recent	215,228
#20	Search: "Sensitivity and Specificity"[Mesh] Sort by: Most Recent	619,619
#19	Search: (((((((("Leukemia"[Mesh]) OR (leukemia*[Title/Abstract]) OR (leucocythaemia*[Title/Abstract]) OR (leucocythemia*[Title/Abstract]) OR (hematoonolog*[Title/Abstract]) OR (haematoonolog*[Title/Abstract]) OR ("Gene Fusion"[Mesh]) OR (fusion* gen*[Title/Abstract])) AND (((((((("Real-Time Polymerase Chain Reaction"[Mesh]) OR (Real Time PCR*[Title/Abstract]) OR (Real Time Polymerase Chain Reaction[Title/Abstract]) OR (Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction[Title/Abstract]) OR (Quantitative Real Time PCR*[Title/Abstract]) OR (RQ PCR*[Title/Abstract]) OR (qPCR*[Title/Abstract]) OR (quantitative PCR*[Title/Abstract]))	5,359
#18	Search: (((((((("Real-Time Polymerase Chain Reaction"[Mesh]) OR (Real Time PCR*[Title/Abstract]) OR (Real Time Polymerase Chain Reaction[Title/Abstract]) OR (Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction[Title/Abstract]) OR (Quantitative Real Time PCR*[Title/Abstract]) OR (RQ PCR*[Title/Abstract]) OR (qPCR*[Title/Abstract]) OR (quantitative PCR*[Title/Abstract]))	227,815
#17	Search: quantitative PCR*[Title/Abstract]	36,077
#16	Search: qPCR*[Title/Abstract]	58,076
#15	Search: RQ PCR*[Title/Abstract]	777
#14	Search: Quantitative Real Time PCR*[Title/Abstract]	24,529
#13	Search: Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction[Title/Abstract]	14,831

Nr	Kwerenda	Liczba rekordów
#12	Search: Real Time Polymerase Chain Reaction[Title/Abstract]	35,852
#11	Search: Real Time PCR*[Title/Abstract]	84,021
#10	Search: "Real-Time Polymerase Chain Reaction"[Mesh] Sort by: Most Recent	61,105
#9	Search: ((((((("Leukemia"[Mesh]) OR (leukemia*[Title/Abstract])) OR (leucocythaemia*[Title/Abstract])) OR (leucocythemia*[Title/Abstract])) OR (hematooncolog*[Title/Abstract])) OR (haematooncolog*[Title/Abstract])) OR ("Gene Fusion"[Mesh])) OR (fusion* gen*[Title/Abstract])	331,095
#8	Search: fusion* gen*[Title/Abstract]	10,163
#7	Search: "Gene Fusion"[Mesh] Sort by: Most Recent	2,293
#6	Search: haematooncolog*[Title/Abstract]	327
#5	Search: hematooncolog*[Title/Abstract]	810
#4	Search: leucocythemia*[Title/Abstract]	13
#3	Search: leucocythaemia*[Title/Abstract]	21
#2	Search: leukemia*[Title/Abstract]	235,769
#1	Search: "Leukemia"[Mesh] Sort by: Most Recent	240,896

Tabela 37. Strategia wyszukiwania w bazie Embase via Ovid (data ostatniego wyszukiwania: 13.10.2021)

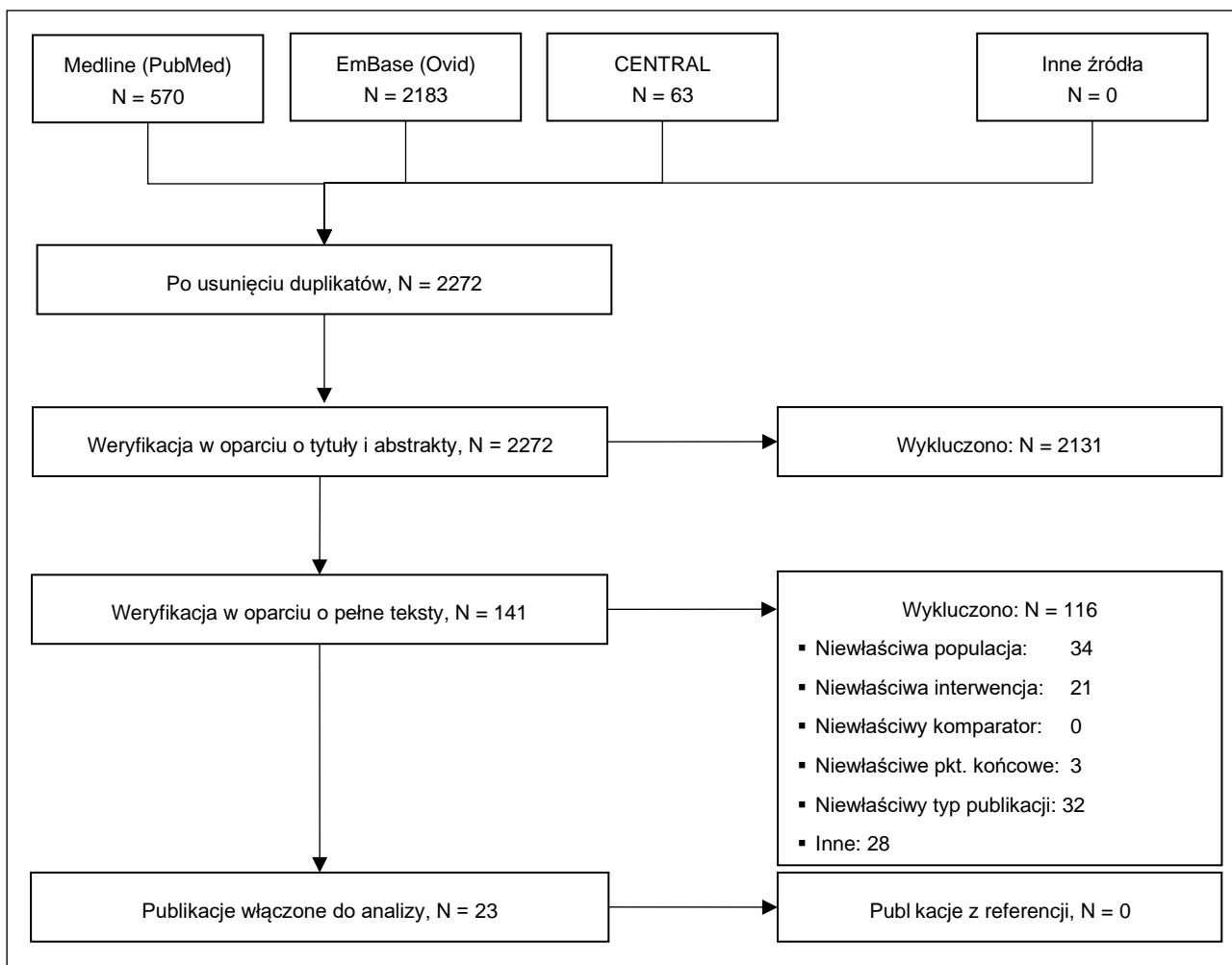
Nr	Kwerenda	Liczba rekordów
1	exp leukemia/	326177
2	"leukemia*".ab,kw,ti.	316398
3	"leucocythaemia*".ab,kw,ti.	4
4	"leucocythemia*".ab,kw,ti.	14
5	"hematooncolog*".ab,kw,ti.	285
6	"haematooncolog*".ab,kw,ti.	94
7	exp gene fusion/	18474
8	"fusion* gen*".ab,kw,ti.	14616
9	1 or 2 or 3 or 4 or 5 or 6 or 7 or 8	451877
10	exp real time polymerase chain reaction/	328196
11	"Real Time PCR*".ab,kw,ti.	129889
12	Real Time Polymerase Chain Reaction.ab,kw,ti.	41182
13	Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction.ab,kw,ti.	16556
14	"Quantitative Real Time PCR*".ab,kw,ti.	33040
15	"RQ PCR*".ab,kw,ti.	2229
16	"qPCR*".ab,kw,ti.	94630
17	"quantitative PCR*".ab,kw,ti.	50755
18	10 or 11 or 12 or 13 or 14 or 15 or 16 or 17	447287
19	9 and 18	14892
20	exp "sensitivity and specificity"/	408226
21	exp predictive value/	200345
22	Sensitivity.ab,kw,ti.	1126730
23	Specificity.ab,kw,ti.	646544

Nr	Kwerenda	Liczba rekordów
24	"Predicti*".ab,kw,ti.	1127329
25	20 or 21 or 22 or 23 or 24	2528886
26	19 and 25	3002
27	limit 26 to yr="2011 -Current"	2395
28	limit 27 to human	2183

Tabela 38. Strategia wyszukiwania w bazie The Cochrane Library (data ostatniego wyszukiwania: 13.10.2021)

Nr	Kwerenda	Liczba rekordów
#1	MeSH descriptor: [Leukemia] explode all trees	4847
#2	(leukemia*):ti,ab,kw	14145
#3	(leucocythaemia*):ti,ab,kw	0
#4	(leucocythemia*):ti,ab,kw	0
#5	(hematooncolog*):ti,ab,kw	89
#6	(haematooncolog*):ti,ab,kw	45
#7	MeSH descriptor: [Gene Fusion] explode all trees	2
#8	(fusion* gen*):ti,ab,kw	1774
#9	#1 OR #2 OR #3 OR #4 OR #5 OR #6 OR #7 OR #8	15831
#10	MeSH descriptor: [Real-Time Polymerase Chain Reaction] explode all trees	220
#11	(Real Time PCR*):ti,ab,kw	2771
#12	(Real Time Polymerase Chain Reaction):ti,ab,kw	2832
#13	(Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction):ti,ab,kw	1048
#14	(Quantitative Real Time PCR*):ti,ab,kw	975
#15	(RQ PCR*):ti,ab,kw	91
#16	(qPCR*):ti,ab,kw	920
#17	(quantitative PCR*):ti,ab,kw	2075
#18	#10 OR #11 OR #12 OR #13 OR #14 OR #15 OR #16 OR #17	5339
#19	#9 AND #18	243
#20	MeSH descriptor: [Sensitivity and Specificity] explode all trees	15693
#21	MeSH descriptor: [Predictive Value of Tests] explode all trees	7154
#22	("sensitivity"):ti,ab,kw	60819
#23	("specificity"):ti,ab,kw	20678
#24	(Predicti*):ti,ab,kw	45309
#25	#20 OR #21 OR #22 OR #23 OR #24	102358
#26	#19 AND #25 with Cochrane Library publication date Between Jan 2011 and Nov 2021	63

11.2. Diagram selekcji badań



11.3. Publikacje wykluczone

Tabela 39. Wykluczone badania

Publikacja	Powód wykluczenia	Komentarz
Abdelhamid 2016	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Aguirre-Ruiz 2020	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Ahn 2016	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (list do edytora)
Ali 2017	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (badanie przekrojowe)
Alikian 2016	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Alikian 2017	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (badanie nie w warunkach klinicznych)
Ansuinelli 2021	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Ayatollahi 2017	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (badanie kliniczno-kontrolne)
Badar 2019	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (standardized nucleic acid quantification)
Bai 2016	Populacja	Niewłaściwa populacja (szpiczak mnogi)
Barzegar 2021	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Berenstein 2014	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (brak oznaczenia ilościowego)
Bernardi 2018	Inny	Duplikat
Bilous 2016	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Boddu 2018	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (brief communication)

Publikacja	Powód wykluczenia	Komentarz
Bomben 2019	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (correspondence)
Bonecker 2015	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (list do edytora)
Brown 2015	Inny	Nie odnaleziono pełnego tekstu
Brunetti 2017	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Chen 2015	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (3-Plex RTqPCR Assay)
Chen 2021	Inny	Nie odnaleziono pełnego tekstu
Chen 2021	Inny	Nie odnaleziono pełnego tekstu
Chiaretti 2018	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (publikacja na podstawie modelu)
Coccaro 2018	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Conter 2008	Inny	Nie odnaleziono pełnego tekstu
Cumbo 2018	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Duan 2013	Inny	Publ kacja w języku chińskim
Fenu 2021	Typ publikacji	Niewłaściwy typ badania (analiza retrospektywna)
Furuya 2019	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Gambacorta 2021	Inny	Niewłaściwy typ publikacji (list do edytora)
Gao 2020a	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (list do edytora)
Gao 2020b	Typ publikacji	Niewłaściwy typ badania (analiza retrospektywna)
Garcia-Gutierrez 2017	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (Xpert BCR-ABL1 assay)
Gerrard 2011	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (list)
Głodkowska Mrowka 2014	–	Niewłaściwy typ publikacji (correspondence)
Goh 2011	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Grassi 2020	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (digital droplet PCR)
Guan 2021	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Guerin 2014	Typ publikacji	Niewłaściwy typ badania (analiza retrospektywna)
Guerrini 2016	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Grimwade 2013	Inny	Nie odnaleziono pełnego tekstu
Guolo 2017	Inny	Niewłaściwy typ publikacji (list do edytora)
Guz 2015	Inny	Nie odnaleziono pełnego tekstu
Haidary 2019	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Haslam 2014	Inny	Niewłaściwy typ publikacji (list do edytora)
Hong 2018	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Hrabovsky 2018	Typ publikacji	Niewłaściwy typ badania (analiza retrospektywna)
Hu 2016	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (NanoString Assay)
Huang 2014	Inny	Publ kacja w języku chińskim
Huang 2014	Inny	Nie odnaleziono pełnego tekstu
Iacobucci 2014	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (protokół laboratoryjny)
Ibrahim 2015	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Ilencikova 2012	Inny	Publ kacja w języku słowackim
Jabbour 2018	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (analiza ekonomiczna)
Jiang 2020	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (badanie nie w warunkach klinicznych)
Juelg 2021	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (badanie nie w warunkach klinicznych)
Karunakaran 2019	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (correspondence)
Katsaraki 2019	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (tRNA)
Kim 2014	Typ publikacji	Niewłaściwy typ badania (analiza retrospektywna)
Kommers 2017	Inny	Niewłaściwy typ publikacji (list do edytora)
Koren-Michowitz 2015	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Kotrova 2017	Populacja	Liczebność populacji <50 osób

Publikacja	Powód wykluczenia	Komentarz
Krumbholz 2019	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Ladetto 2014	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Layed 2021	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (miRNA jako potencjalne markery prognostyczne i kontrolne)
Lopez 2021	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Maier 2019	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (ddPCR)
Manrique-Arechavaleta 2011	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (badanie nie w warunkach klinicznych)
Manthawornsiri 2016	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (badanie nie w warunkach klinicznych)
Martinez 2021	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (badanie nie w warunkach klinicznych)
Masykura 2019	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (RT-PCR1 Reversed Dot Blot Hybridization (RT-PCR RDB2))
Menschikowski 2018	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Modvig 2017	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (abstrakt konferencyjny)
Moumen 2015	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Mulas 2020	Inny	Niewłaściwy typ publikacji (list do edytora)
Mule 2016	Typ publikacji	Niewłaściwy typ badania (analiza retrospektywna)
Nadvornikova 2018	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (badanie nie w warunkach klinicznych)
Oh 2017	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (badanie nie w warunkach klinicznych)
Oliva 2016	Inny	Nie odnaleziono pełnego tekstu
Park 2019	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Pagani 2018	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Peng 2015	Inny	Publ kacja w języku chińskim
Peng 2015	Inny	Publ kacja w języku chińskim
Pillozzi 2014	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (list do edytora)
Pott 2013	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (protokół)
Racchumi 2020	Inny	Nie odnaleziono pełnego tekstu
Rasekh 2021	Typ publikacji	Niewłaściwy typ badania (analiza retrospektywna)
Recchia 2015	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (badanie nie w warunkach klinicznych)
Ross 2021	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (commentary)
Savasoglu 2015	Inny	Nie odnaleziono pełnego tekstu
Shahkarami 2018	Inny	Nie odnaleziono pełnego tekstu
Smol 2015	Punkty końcowe	Nieistotne klinicznie punkty końcowe
Spiess 2018	Typ publikacji	Niewłaściwy typ badania (analiza retrospektywna)
Streaten 2021	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Swelem 2021	Punkty końcowe	Nieistotne klinicznie punkty końcowe
Taira 2012	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (badanie nie w warunkach klinicznych)
Tang 2016	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (list do edytora)
Tashfeen 2014	Inny	Nie odnaleziono pełnego tekstu
Tsuchiya 2018	Interwencja	Niewłaściwa interwencja (badanie nie w warunkach klinicznych)
Tyler 2019	Typ publikacji	Niewłaściwy typ badania (analiza retrospektywna)
Upadhyay 2020	Typ publikacji	Niewłaściwy typ badania (analiza retrospektywna)
Valero-Garcia 2019	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Van Den Berg 2019	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (abstrakt konferencyjny)
Wang 2013	Inny	Nie odnaleziono pełnego tekstu
Wang 2019	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Wang 2021	Inny	Publ kacja w języku chińskim
Wang 2021	Inny	Nie odnaleziono pełnego tekstu
Wang 2021	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Wu 2015	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (list do edytora)

Publikacja	Powód wykluczenia	Komentarz
Xue 2016	Typ publikacji	Niewłaściwy typ publikacji (list do edytora)
Yan 2019	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Yang 2017	Punkty końcowe	Nieistotne klinicznie punkty końcowe
Yuan 2019	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Yujie 2012	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Zhang 2013	Inny	Publ kacja w języku chińskim
Zhao 2012	Populacja	Liczebność populacji <50 osób
Zhao 2018	Typ publikacji	Niewłaściwy typ badania (analiza retrospektywna)
Zhu 2020	Inny	Nie odnaleziono pełnego tekstu

11.4. Charakterystyka publikacji włączonych do analizy

Tabela 40. Charakterystyka publikacji

Badanie	Cel i metodyka	Populacja	Punkty końcowe
<p>Modvig 2021</p> <p>Dania, Estonia, Finlandia, Islandia, Litwa, Norwegia, Szwecja</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> b.d.</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> pokazanie, że FCM-MRD przeprowadzone w 18 skandynawskich i bałtyckich ośrodkach jest właściwym podejściem do wykrywania MRD we wczesnych i późnych punktach czasowych stratyfikacji, zapewniając wartość prognostyczną w odniesieniu do wyników leczenia pacjentów leczonych zgodnie z Nordic Society of Pediatric</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> badanie wieloośrodkowe. <p><u>Okres badań:</u> 1 lipca 2008 – 29 lutego 2016</p> <p><u>Interwencja:</u> FCM-MRD i PCR-MRD</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> Pacjenci z BCP-ALL (B-cell precursor ALL)</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u> Pacjenci w wieku <45 lat</p> <p><u>Kryteria wykluczenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> z badania wykluczono pacjentów z ALL o niejednoznacznym pochodzeniu (ang. ambiguous lineage), zespołami predysponującymi do ALL lub leczonych wcześniej lekami przeciwbiałaczkowymi, w tym kortykosteroidami, przez >1 tydzień przed rozpoznaniem. <p><u>Liczebność populacji:</u> n=1478</p>	<ul style="list-style-type: none"> zgodność, korelacja między poziomami PCR-MRD a FCM-MRD, wystąpienie niewykrywalnego MRD (ang. undetectable MRD), 5-letnia skumulowana częstość występowania nawrotu (CIR5y), 5-letnie przeżycie bez zdarzeń (EFS_{5y}).
<p>Pan 2021</p> <p>Chiny</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> b.d.</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> zbadanie wartości wykrywania poziomów ekspresji genów fuzyjnych BCR-ABL za pomocą qPCR w ocenie ciężkości choroby i skutków leczenia przewlekłej białaczki szpikowej (CML).</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> jednoośrodkowe, jednoramienne. <p><u>Okres badań:</u> luty 2016 – grudzień 2017</p> <p><u>Interwencja:</u> qPCR</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> pacjenci z przewlekłą białaczką szpikową (CML)</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> wiek powyżej 18 lat; pacjenci spełniający kryteria diagnostyczne CML według National Comprehensive Cancer Network (NCCN) w 2015 roku; brak przeciwwskazań do chemioterapii i terapii celowanej; przewidywany czas życia dłuższy niż jeden rok. <p><u>Kryteria wykluczenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> kobiety w ciąży lub karmiące; dysfunkcja głównych narządów, takich jak serce, płuca, wątroba, nerki itp. 	<p><u>Pierwszorzędowy punkt końcowy:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> korelacja między poziomem ekspresji genu fuzyjnego BCR-ABL a postępem choroby CML, poziom ekspresji genu fuzyjnego BCR-ABL. <p><u>Drugorzędowe punkty końcowe:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> przeżycie wolne od choroby po leczeniu imatynibem (średni czas), mediana czasu pojawienia się pierwszego dodatniego wyniku PCR, wskaźnik zadowolenia z efektu leczniczego.

Badanie	Cel i metodyka	Populacja	Punkty końcowe
		<ul style="list-style-type: none"> inne typy białaczki i nowotwory złośliwe z przerzutami do mózgu lub kości; pacjenci uczuleni na imatynib; zaburzenia psychiczne; niezgłoszenie się pacjenta do badania lub niekompletność danych klinicznych <p><u>Liczebność populacji:</u> n=60</p>	
<p>Thorn 2021</p> <p>Szwecja</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> to badanie zostało wsparte przez the Swedish Childhood Cancer Foundation, Lion's Cancer Research Foundation, Uppsala University Hospital, and the County Council of Vasterbotten.</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> przeanalizowanie równoległego stosowania IG/TCR RQ-PCR i trój/czterokolorowej FCM do monitorowania MRD u dzieci z ALL leczonych zgodnie z protokołem NOPHO ALL 2000. Głównym celem było ustalenie korelacji między dwiema metodami oraz ocena zdolności każdej metody do przewidywania ryzyka nawrotu.</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> badanie jednoramienne, badanie wielośrodkowe. <p><u>Okres badań:</u> styczeń 2002 – grudzień 2006</p> <p><u>Interwencja:</u> RQ-PCR i FCM</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> Dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u> b.d.</p> <p><u>Kryteria wykluczenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> wyłączono z badania dzieci leczone zgodnie z innymi protokołami, z chorobą oporną pod względem morfologicznym, z drugą chorobą nowotworową jako pierwszym zdarzeniem, z zespołem Downa i jedno dziecko zmarło podczas indukcji <p><u>Liczebność populacji:</u> n= 228</p>	<ul style="list-style-type: none"> mediana wartości MRD, zgodność.
<p>Cortés 2020</p> <p>Hiszpania</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> Incyte SL</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IIIB – poprawnie zaprojektowane prospektywne badanie kohortowe z równoczesną grupą kontrolną</p>	<p><u>Cel:</u> Porównanie pomiarów ddPCR i qPCR u pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> jednośrodkowe, dwuramienne. <p><u>Okres badań:</u> 2017 – 2019</p> <p><u>Interwencja:</u> qPCR, ddPCR</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> pacjenci z przewlekłą białaczką szpikową (CML)</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> pacjenci ze zdiagnozowaną przewlekłą białaczką szpikową (CML) z różnymi poziomami MR: 25%/1% BCR-ABL1/ABL1, 1%/0,1% BCR-ABL1/ABL1, MR 3,0, MR 4,0, MR 4,5 i MR 5,0. <p><u>Kryteria wykluczenia:</u> b.d.</p> <p><u>Liczebność populacji:</u> n= 50: pacjenci z różnym poziomem MR: 5 pacjentów z proporcją BCR-ABL1/ABL1 25%/1%, 5 z 1%/0,1% BCR-ABL1/ABL1, 6 z MR wynoszącym 3,0; 6 z MR wynoszącym 4,0; 14 z MR wynoszącym 4,5 i 14 z MR wynoszącym 5,0</p>	<ul style="list-style-type: none"> zgodność qPCR i ddPCR (wskaźnik Kappa), ICCa - bezwzględny współczynnik korelacji wewnątrzklasowej i współczynnik korelacji zgodności Lin'a.

Badanie	Cel i metodyka	Populacja	Punkty końcowe
<p>Franke 2020</p> <p>Niemcy</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> Novartis Pharma GmbH project HTAS 157 and grant AN72255617 (T.L.)</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> analiza porównawcza Q-PCR i dd-PCR celem monitorowania BCR-ABL1 u pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • dwuśrodkowe, • jednoramienne. <p><u>Okres badań:</u> 2012–2013</p> <p><u>Interwencja:</u> RT-qPCR, dd-PCR</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> pacjenci z przewlekłą białaczką szpikową (CML)</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u> pacjenci z CML posiadający geny fuzyjne e13/a2 lub e14/a2 BCR-ABL1</p> <p><u>Kryteria wykluczenia:</u> b.d.</p> <p><u>Liczebność populacji:</u> n= 230</p>	<ul style="list-style-type: none"> • granica wykrywalności (próg), • korelacja między RT-qPCR i dPCR dla ABL1, BCR-ABL1, % BCR-ABL1/ABL1 i % BCR-ABL1/ABL1 IS.
<p>Berdeja 2019</p> <p>USA</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> Pomoc redakcyjną sfinansowała firma Novartis Pharmaceuticals Corporation.</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> ocena głębokiej odpowiedzi molekularnej metodą emulsyjnego i konwencjonalnego PCR z nilotyn b em pierwszej linii w nowo zdiagnozowanej przewlekłej białaczce szpikowej</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • badanie jednoramienne, • badanie wielośrodkowe. <p><u>Okres badań:</u> b.d.</p> <p><u>Interwencja:</u> RQ-PCR (w analizie eksploracyjnej przeprowadzono emulsyjne badanie dPCR na 195 próbkach należących do 33 pacjentów)</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> Pacjenci z nowo zdiagnozowaną przewlekłą białaczką szpikową</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Osoby dorosłe z Ph CML-CP zdiagnozowane ≤6 miesięcy przed rozpoczęciem badania. • Zakwalifikowani pacjenci mieli stan sprawności ≤2 wg Eastern Cooperative Oncology Group, poziom elektrolitów w granicach normy i prawidłową funkcję narządów. • Dozwolone było do 6 miesięcy wcześniejszej terapii interferonem (z cytarabiną lub bez), hydroksymocznikiem lub anagrelidem; dopuszczono również wcześniejsze leczenie nilotynibem (6 miesięcy), imatyn b em (1 miesiąc) i dazatynibem (14 dni). <p><u>Kryteria wykluczenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Pacjenci z ostrą lub przewlekłą chorobą wątroby, nerek lub trzustki, zaburzeniami czynności serca, klinicznie istotnym nowotworem złośliwym innym niż CML lub innym ciężkim lub niekontrolowanym stanem medycznym nie zostali zakwalifikowani. • Pacjenci z toksycznością związaną z nilotyn b em, które nie ustąpiły w ciągu 28 dni, zostali wycofani z badania. • Dodatkowe kryteria wykluczenia obejmowały udokumentowaną mutację T315I, leczenie lekami wydłużającymi odstęp QT, ciężę lub karmienie. 	<p><u>Pierwszorzędowe:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • skumulowany odsetek potwierdzonej odpowiedzi molekularnej MR 4,5 (w 2 kolejnych próbkach analizowanych w odstępie 3 miesięcy metodą RQ-PCR) w okresie do 2 lat leczenia nilotynibem w trakcie badania, • wskaźnik całkowitej odpowiedzi cytogenetycznej (CCyR). <p><u>Drugorzędowe:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • utrata większej odpowiedzi molekularnej (MMR) i utrata potwierdzonej odpowiedzi molekularnej MR 4,5 w ciągu 24 miesięcy, • mediana (zakres) czasu trwania MMR, • mediana (zakres) czasu do potwierdzonej MR 4,5, • mediana (zakres) czasu do uzyskania MMR, • mediana (zakres) czasu trwania potwierdzonej MR 4,5.

Badanie	Cel i metodyka	Populacja	Punkty końcowe
<p>Modvig 2019</p> <p>Dania, Estonia, Finlandia, Islandia, Litwa, Norwegia i Szwecja</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> b.d.</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> ocena ilościowa choroby resztkowej za pomocą cytometrii przepływowej (FCM) w ostrej białaczce limfoblastycznej</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> wieloośrodkowe, jednoramienne. <p><u>Okres badań:</u> 2008–2016</p> <p><u>Interwencja:</u> FCM i RT-qPCR</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Liczebność populacji:</u> n=128</p> <p><u>Populacja docelowa:</u> pacjenci z minimalną chorobą resztkową w ostrej białaczce limfoblastycznej z komórek T (T-ALL)</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> pacjenci z zespołami predysponującymi do ALL, pacjenci z ALL o niejednoznacznym rodowodzie, pacjenci leczeni wcześniej lekami przeciwbiałaczkowymi, w tym glikokortykosteroidami, dłużej niż 1 tydzień przed rozpoznaniem ALL pacjenci z chłoniakiem T-limfoblastycznym <p><u>Kryteria wykluczenia:</u> b.d.</p> <p><u>Liczebność populacji:</u> n=274</p>	<ul style="list-style-type: none"> korelacja między poziomami PCR-MRD a FCM-MRD, skumulowana częstość występowania nawrotu (CIR), ryzyko nawrotu (współczynnik ryzyka dla nawrotu choroby), wartość predykcyjna dla nawrotu, współczynnik ryzyka dla dowolnego zdarzenia (śmierć, nawrót choroby, wtórny nowotwór złośliwy), 5-letnie przeżycie bez zdarzeń (EFS5y), przeżycie wolne od zdarzeń (EFS).
<p>Bernardi 2018</p> <p>Włochy</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> praca była częściowo wspierana przez European Leukemia Net (ELN)—European Treatment and Outcome Study (EUTOS) i Gimema CML-Working Party, Department of Clinical and Experimental Sciences of University of Brescia funds, oraz przez Cofin 2009.</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> porównanie dokładności emulsyjnego PCR (dPCR) i RT-qPCR do wykrywania poziomu transkryptów BCR-ABL1 po leczeniu inhibitorami kinaz TKI</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> badanie jednoramienne, badanie wieloośrodkowe. <p><u>Okres badań:</u> b.d.</p> <p><u>Interwencja:</u> RT-qPCR oraz dPCR (pacjenci z trwałym RT-qPCR DMR (≥2 lata) byli porównawczo monitorowani za pomocą RT-qPCR/dPCR)</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> Pacjenci z przewlekłą białaczką szp kową</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> pacjenci z przewlekłą białaczką szp kową leczeni za pomocą TKI (IM, nilotin b [NIL], lub dasatinib [DAS]) z trwałą głęboką odpowiedzią molekularną (≥2 lat) <p><u>Kryteria wykluczenia:</u> b.d.</p> <p><u>Liczebność populacji:</u> n=142</p>	<ul style="list-style-type: none"> oznaczenie odsetka pacjentów w stanie głębokiej i bardzo głębokiej odpowiedzi molekularnej w momencie zakończenia leczenia kinazami tyrozynowymi TKI porównanie czułości oznaczenia odsetka pacjentów w stanie trwałej, głębokiej i bardzo głębokiej odpowiedzi molekularnej metodą RT-qPCR oraz dPCR
<p>Cazzaniga 2018</p> <p>Włochy</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> Ten projekt był częściowo finansowany przez następujące granty: Italian Association for Cancer Research (AIRC, to GC and AB), AIRC 2013-14634 (to MGv), granty od the Ministry of Health of the Czech Republic #16-30186A (Czech Health Research Council) i #00064203 (University Hospital</p>	<p><u>Cel:</u> opisanie wyników molekularnego monitorowania MRD w oparciu o transkrypt IG/TR i/lub BCR/ABL1 jako markery PCR oraz ich wartość predykcyjną u pacjentów leczonych imatynibem w badaniu EsPhALL.</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> badanie jednoramienne, badanie wieloośrodkowe. <p><u>Okres badań:</u> styczeń 2004 – grudzień 2009</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> Pacjenci z ostrą białaczką limfoblastyczną</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> pacjenci z pozytywnym chromosomem Philadelphia pacjenci leczeni imatynibem <p><u>Kryteria wykluczenia:</u> b.d.</p> <p><u>Liczebność populacji:</u> n=160</p>	<ul style="list-style-type: none"> 5-letnie przeżycie wolne od zdarzeń, skumulowane 5-letnie wystąpienie nawrotu, zgodność pomiędzy metodami, odsetek pacjentów z wysoce dodatnim MRD, Brak MRD (ang. MRD negativity), Prawdopodobieństwo braku IG/TR w dowolnym punkcie czasowym,

Badanie	Cel i metodyka	Populacja	Punkty końcowe
<p>Motol) (to JZ and JS), the "Programme Hospitalier de Recherche Clinique" (PHRC) i the association "Enfants et Santé" (to HC and VG). MRD było wspierane przez Bloodwise and trial management by Cancer Research UK; VS is a Margdarshi Fellow of the Wellcome-DBT India Alliance.</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Interwencja:</u> ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym (RQ-PCR) rearanżacji genów immunoglobulin/receptorów komórek T (IG/TR) i/lub transkryptu fuzyjnego BCR/ABL1</p> <p>Raportowanie wyników dotyczących MRD odbywało się w 4 punktach czasowych: TP1 – 33 dzień leczenia, TP2 – 78 dzień leczenia, TP3 – 120 dzień leczenia, TP4 – 141 dzień leczenia.</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p>pacjenci zostali podzieleni na grupy: pacjenci o dobrym rokowaniu (ang. good-risk) (GR; dobra odpowiedź na prednizon w ósmym dniu lub $\leq 25\%$ komórek blastycznych szpiku kostnego (BM) w 15. dniu lub $\leq 5\%$ BM komórek blastycznych w 21. dniu oraz w całkowitej remisji pod koniec indukcji) zostali losowo przydzieleni do grupy otrzymującej imatinib lub nie, pacjenci o słabym rokowaniu (ang. poor-risk) otrzymywali imatinib sporadycznie podczas intensywnych faz terapeutycznych, łącznie przez 18 tygodni u pacjentów leczonych tylko chemioterapią.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Prawdopodobieństwo braku BCR/ABL w dowolnym punkcie czasowym • nosicielstwo wariantu p190 BCR/ABL1, • nosicielstwo wariantu p210.
<p>Kumar 2018</p> <p>Indie</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> brak</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> porównanie skuteczności trzech technik molekularnych w wykrywaniu mutacji NPM1 w próbkach krwi obwodowej i szpiku kostnego.</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • badanie jednoosrodkowe, • badanie jednoramienne. <p><u>Okres badań:</u> luty 2014 – wrzesień 2016</p> <p><u>Interwencja:</u> Real-time PCR, sekwencjonowanie Sanger, pyrosekwencjonowanie</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> Nowo zdiagnozowani pacjenci z cytogenetycznie normalną ostrą białaczką szpikową (ang. cytogenetically normal AML, CN-AML)</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u> b.d.</p> <p><u>Kryteria wykluczenia:</u> b.d.</p> <p><u>Liczebność populacji:</u> n=165</p>	<ul style="list-style-type: none"> • czułość, • swoistość, • minimalny limit detekcji mutacji, • wykrycie mutacji, • koszty.
<p>Wang 2018</p> <p>Chiny</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> This work was supported by the Research Project Supported by Shanxi Scholarship Council of China (2015-Key 5), Natural Science Foundation of China (81670126), Natural Science Foundation of China (81400139).</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> zbadanie cyfrowej ddPCR do monitorowania minimalnej choroby resztkowej (MRD) u pacjentów z BCR/ABL (P210) - dodatnią CML</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • jednoosrodkowe, • jednoramienne. <p><u>Okres badań:</u> b.d.</p> <p><u>Interwencja:</u> ddPCR i RT-qPCR</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> pacjenci z ostrą białaczką szpikową (CML) w fazie przewlekłej (CML-CP)</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u> b.d.</p> <p><u>Kryteria wykluczenia:</u> b.d.</p> <p><u>Liczebność populacji:</u> n= 76</p>	<ul style="list-style-type: none"> • zgodność wyników ddPCR i RT-qPCR • (analiza czułości i korelacji), • poziom ekspresji BCR/ABL (P210) wykrywany metodą dd-PCR i RT-qPCR u chorych na CML, • czas pojawienia się pierwszego dodatniego wyniku, • utrata odpowiedzi molekularnej MR^{4,5}.
<p>Lyu 2017</p> <p>Chiny</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> Ta praca została częściowo wsparta przez the National Natural Science Foundation of China (NSFC), grant 81470287.</p>	<p><u>Cel:</u> opis, opartej na ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkrypcją (qRT-PCR), metody przeszukiwania genów z wieloma fuzyjami, która jest w stanie wykryć 22 geny fuzyjne powszechnie występujące w białaczkach.</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> Pacjenci z AML (n=108), ALL (n=60), CLL (n=15), CML (n=41), zespołami mielodysplastycznymi MDS (n=33) lub innymi niebiałaczkowymi chorobami hematologicznymi, w tym chłoniak i cytopenia (n=88)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • zgodność analiz F-qRT-PCR i cytogenetycznych w wykrywaniu obecności genów fuzyjnych, • czułość, • swoistość, • wykrycie translokacji genu,

Badanie	Cel i metodyka	Populacja	Punkty końcowe
<p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IIIB – poprawnie zaprojektowane prospektywne badanie kohortowe z równoczesną grupą kontrolną</p>	<p>badanie jednoosrodkowe, badanie z dwiema grupami: ewaluacyjną (pacjenci z AML, n=108) oraz walidacyjną (reszta pacjentów, n=237)</p> <p><u>Okres badań:</u> kwiecień 2014 – wrzesień 2015</p> <p><u>Interwencja:</u> Fluorescencyjny qRT-PCR (F-qRT-PCR)</p> <p><u>Komparator:</u> wyniki F-qRT-PCR w grupie ewaluacyjnej porównano z badaniami cytogenetycznymi.</p>	<p><u>Kryteria włączenia:</u> b.d.</p> <p><u>Kryteria wykluczenia:</u> b.d.</p> <p><u>Liczebność populacji:</u> n=345:</p> <ul style="list-style-type: none"> • grupa ewaluacyjna (FqRT-PCR) n=108, • grupa walidacyjna n=237 	<ul style="list-style-type: none"> • całkowite wykrycie fuzyj genów, • wykrycie genu fuzyjnego.
<p>Theunissen 2017</p> <p>Holandia</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> the Grant Agency of the Czech Republic (GACR, project of Centre of Excellence No. P302/12/G101)</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> zbadanie zastosowania standaryzowanej cytometrii przepływowej do wysoce czułych pomiarów MRD w ostrej białaczce limfoblastycznej z limfocytów B</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • wieloosrodkowe, • jednoramienne <p><u>Okres badań:</u> b.d.</p> <p><u>Interwencja:</u> RQ-PCR, FCM</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> pacjenci z ostrą białaczką limfoblastyczną z prekursorem komórek B (BCP) (ALL)</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • pacjenci z BCP-ALL <p><u>Kryteria wykluczenia:</u> b.d.</p> <p><u>Liczebność populacji:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • n= 319 pacjentów z BCP-ALL, którzy byli kolejno przyjmowani w pięciu fazach badania (faza wstępna: n=69; faza 1: n=61; faza 2: n=28; faza 3: n=78; faza 4: n=83). Do drugiej części badania (analiza MRD) włączono 377 próbek kontrolnych, uzyskanych od 178 pacjentów z BCP-ALL (dzień 15: n= 111; dzień 33: n= 139; dzień 78: n= 107; inne punkty czasowe: n=20). 	<ul style="list-style-type: none"> • zgodność wyników cytometrii przepływowej i danych molekularnych MRD.
<p>Della-Starza 2016</p> <p>Włochy</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro (AIRC) Special Program Molecular Clinical Oncology, 5 9 1000, Milan, Italy; Fondo per gli Investimenti della Ricerca di Base (FIRB), Rome, Italy.</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> analiza porównawcza RQ-PCR i dd PCR rearanzacji genów immunoglobuliny/komórek T do monitorowania minimalnej choroby resztkowej w ostrej białaczce limfoblastycznej.</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • jednoramienne • jednoosrodkowe <p><u>Okres badań:</u> b.d.</p> <p><u>Interwencja:</u> RQ-PCR i dd PCR</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> pacjenci z ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL)</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Pacjenci z nowo zdiagnozowaną białaczką limfoblastyczną <p><u>Kryteria wykluczenia:</u> b.d.</p> <p><u>Liczebność populacji:</u> n=50</p>	<ul style="list-style-type: none"> • zgodność w zakresie RQ-PCR i ddPCR, • odsetek niezgodnych przypadków.
<p>Ouyang 2016</p> <p>Chiny</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> b.d.</p>	<p><u>Cel:</u> badanie wartości minimalnej choroby resztkowej (MRD) za pomocą wieloparametrowej cytometrii przepływowej (MFC) w ostrej białaczce szpikowej (ABL) typu CBF (ang. core binding factor acute myeloid leukemia)</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> pacjenci z ostrą białaczką szpikową typu CBF</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • pacjenci z ostrą białaczką szpikową typu CBF i 	<ul style="list-style-type: none"> • zgodność wyników MFC z qRT-PCR, • ryzyko nawrotu (wynik qRT-PCR wyrażony w procentach to stosunek ilości transkryptu genów fuzyjnych RUNX1/RUNX1T1 i

Badanie	Cel i metodyka	Populacja	Punkty końcowe
<p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • jednoośrodkowe, • jednoramienne. <p><u>Okres badań:</u> czerwiec 2012 – czerwiec 2014</p> <p><u>Interwencja:</u> MFC, qRT-PCR</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p>morfologicznie ujemną BM (liczba blastów BM <5%)</p> <p><u>Kryteria wykluczenia:</u> b.d.</p> <p><u>Liczebność populacji:</u> n=93</p>	<p>CBFB/MYH11 do transkryptu ABL1).</p>
<p>Willekens 2016</p> <p>Francja</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> b.d.</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> zaraportowanie wyników prospektywnej oceny poziomów MRD w szpiku kostnym oraz we krwi obwodowej przy użyciu RQ-PCR</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • badanie jednoramienne, • badanie wieloośrodkowe. <p><u>Okres badań:</u> lipiec 2007 – listopad 2010</p> <p><u>Interwencja:</u> RQ-PCR</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> Pacjenci z ostrą białaczką szpikową z rdzeniowym czynnikiem wiążącym (ang. core binding factor acute myeloid leukemia, CBA-AML)</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • pacjenci w wieku 18–60 lat nowo zdiagnozowani z CBA-AML <p><u>Kryteria wykluczenia:</u> B.d.</p> <p><u>Liczebność populacji:</u> n=97</p>	<ul style="list-style-type: none"> • całkowita odpowiedź molekularna, • średni czas od remisji do całkowitej odpowiedzi molekularnej, • 4-letnie CIR, • ryzyko nawrotu CIR, • szacunkowe 4-letnie OS.
<p>Mori 2015</p> <p>Włochy, Niemcy, Kanada, Hiszpania, Izrael i Holandia</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> Regione Lombardia; Contract grant number: ISAV 2011 (to C.G.P.); Contract grant sponsor: Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro; Contract grant number: AIRC 2013 IG-14249 (to C.G.P.)</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> walidacja dd-PCR w celu przewidywania nawrotu CML po odstawieniu imatynibu u pacjentów z CML i całkowitą remisją molekularną (CMR).</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • wieloośrodkowe • jednoramienne <p><u>Okres badań:</u> listopad 2011 – lipiec 2013</p> <p><u>Interwencja:</u> Q-RT-PCR, ddPCR</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> pacjenci z przewlekłą białaczką szpikową (CML)</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • wiek > 18 lat • pacjenci z potwierdzoną diagnozą CML w fazie przewlekłej lub akceleracji, leczeni imatynibem przez co najmniej 24 miesiące. • Pacjenci z CMR przez co najmniej 18 miesięcy, z co najmniej trzema ujemnymi wynikami Q-RT-PCR wykonanymi we własnych ośrodkach, przy czym ostatni pomiar miał być wykonany w ciągu trzech miesięcy przed rekrutacją do badania • pacjenci z CML leczeni imatynibem od ponad 2 lat i z niewykrywalnym PCR przez co najmniej 18 miesięcy. Leczenie imatynibem musiało być ciągłe i musiała być osiągnięta całkowita remisja molekularna (CMR) podczas leczenia. <p><u>Kryteria wykluczenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • pacjenci po allogenicznym przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych <p><u>Liczebność populacji:</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> • mediana (zakres) czasu do uzyskania MMR, • częstość nawrotów choroby, • liczba pacjentów bez nawrotu choroby, • liczba pacjentów z nawrotem choroby, • odsetek pacjentów, u których nastąpił nawrót choroby w ciągu pierwszych 9 miesięcy, • skumulowane prawdopodobieństwo nawrotu choroby.

Badanie	Cel i metodyka	Populacja	Punkty końcowe
		n=112	
<p>Raponi 2014</p> <p>Włochy</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> b.d.</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> porównanie możliwości zastosowania trzech różnych podejść cytometrii przepływowej: podstawowej analizy 4-kolorowej, metody konsensusu Europejskiej Inicjatywy Badawczej w CLL (ERIC) oraz analizy 8-kolorowej oraz zbadanie czułości i swoistości cytometrii przepływowej (FC) w porównaniu z analizami molekularnymi do wykrywania MRD</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u> badanie jednoramienne, badanie jednośrodkowe.</p> <p><u>Okres badań:</u> wrzesień 2006 – styczeń 2013</p> <p><u>Interwencja:</u> ASO IgH RQ-PCR, FC MRD</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> Pacjenci z przewlekłą białaczką limfocytową</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u> b.d.</p> <p><u>Kryteria wykluczenia:</u> b.d.</p> <p><u>Liczebność populacji:</u> n=98</p>	<ul style="list-style-type: none"> • zgodność, • czułość FC w porównaniu do PCR, • swoistość FC w porównaniu do PCR, • wartość predykcyjna dodatnia FC, • wartość predykcyjna ujemna FC. • wystąpienie MRD, • mediana wartości MRD, • poziom detekcji MRD, • przeżycie wolne od progresji (PFS).
<p>Zhang 2014</p> <p>Chiny</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> to badanie zostało wsparte częściowo grantem od he Tianjin Science and Technology Support Plan (12ZCDZSY18100), the Ministry of Science and Technology Major Projects (2011ZX09302-007), the Youth Scientific Research Funds of Peking Union Medical College (2012J17), and the Natural Science Fund Foundation Project (81200396).</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> w celu określenia prognostycznego znaczenia wykrycia minimalnej choroby resztkowej (MRD) u dzieci z AML1/ETO AML porównano wyniki reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkrypcją (RT-PCR) i ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkrypcją (RQ-PCR).</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • badanie jednoramienne, • badanie jednośrodkowe <p><u>Okres badań:</u> Styczeń 2006 – luty 2013</p> <p><u>Interwencja:</u> RQ-PCR i RT-PCR</p> <p><u>Komparator:</u> brak?</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> Dzieci z AML1/ETO AML</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • pacjenci w wieku ≤16 lat <p><u>Kryteria wykluczenia:</u> <u>B.d.</u></p> <p><u>Liczebność populacji:</u> n=70</p>	<ul style="list-style-type: none"> • zgodność, • średnia liczba kopii transkryptu badanego genu w momencie diagnozy, • 5-letnie CIR, • nawrót, • całkowita remisja, • 5-letni DFS, • całkowite przeżycie.

Badanie	Cel i metodyka	Populacja	Punkty końcowe
<p>Arpinati 2013</p> <p>Włochy</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> częściowo wspierane przez Bologna AIL (Bologna, Włochy)</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> monitorowanie minimalnej choroby resztkowej (MRD) poprzez analizę reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) w czasie rzeczywistym (RT) o niskim poziomie transkryptu BCR-ABL.</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • jednośrodkowe, • jednoramienne. <p><u>Okres badań:</u> 1983–2007</p> <p><u>Interwencja:</u> RT Q-PCR</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> pacjenci z przewlekłą białaczką szpikową</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • pacjenci z obecnym chromosomem Philadelphia i po allogenicznym przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych - HSCT • pacjenci byli zaliczani do grupy wykrywalnych transkryptów o niskim poziomie (<MR3 [remisja molekularna <0,1%]), gdy stosunek BCR-ABL/ABL wynosił <0,1% według Międzynarodowej Skali w co najmniej 1 próbie; • wszyscy pacjenci z wykrywalnym transkryptem, ale ze stosunkiem BCR - ABL/ABL < 0,1% byli zaliczani do grupy <MR3. Pojedynczy wynik <MR3 wystarczył do włączenia pacjenta do grupy <MR3. • Dwa lub więcej kolejnych wyników <MR3 pogrupowano razem do celów analizy jako „wystąpienia”. Pacjenci ze stabilnym niewykrywalnym BCR-ABL byli zaliczani do grupy niewykrywalnych BCR-ABL. Pacjenci z potwierdzoną utratą odpowiedzi molekularnej (stosunek BCR ABL/ABL >0,1% w skali międzynarodowej) i potwierdzoną obecnością komórek Phϕ w kości po analizie cytogenetycznej zostali poddani profilaktycznemu leczeniu. <p><u>Kryteria wykluczenia:</u> b.d.</p> <p><u>Liczebność populacji:</u> n=189</p>	<ul style="list-style-type: none"> • liczba wystąpień wyników (wykrywalnych transkryptów BCR-ABL) odpowiedzi molekularnej <MR3, • czas do pojawienia się pierwszego odpowiedzi molekularnej <MR3 (mierzony w latach po transplantacji), • nawrót choroby, • prawdopodobieństwo nawrotu choroby.
<p>Denys 2013</p> <p>Niderlandy</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> b.d.</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV – badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> ocena, czy 6-kolorowa cytometria przepływowa poprawia wyniki uzyskane w RQ PCR.</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • badanie jednoramienne, • badanie dwuosrodkowe. <p><u>Okres badań:</u> listopad 2004 – kwiecień 2008</p> <p><u>Interwencja:</u> RQ-PCR i cytometria przepływowa</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> Dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u> b.d.</p> <p><u>Kryteria wykluczenia:</u> b.d.</p> <p><u>Liczebność populacji:</u> n=363</p>	<ul style="list-style-type: none"> • zgodność z danymi PCR dotyczącymi MRD.

Badanie	Cel i metodyka	Populacja	Punkty końcowe
	<p><u>Komparator:</u> brak</p>		
<p>Garand 2013</p> <p>Francja</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> grant „Soutien aux Techniques Innovantes et Cou”teuses” (STIC) by the French Institut National du Cancer (InCA) and benefited from support by the companies BD Biosciences and Beckman Coulter.</p> <p><u>Klasyfikacja doniesień naukowych:</u> IV - badanie jednoramienne</p>	<p><u>Cel:</u> ocena wyników z zastosowaniem cytometrii przepływowej (MFC) i ilościowego IG/TCR qPCR do oznaczania minimalnej choroby resztkowej w ostrej białaczce limfoblastycznej:</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> wieloośrodkowe, prospektywne, jednoramienne. <p><u>Okres badań:</u> lipiec 2006–grudzień 2009</p> <p><u>Interwencja:</u> MFC, IG/TCR-QPCR</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> pacjenci z ostrą białaczką limfoblastyczną</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> pacjenci pediatryczni z ALL, którzy wykazywali cechy wysokiego ryzyka zgodnie z kryteriami NCI (wiek ≥ 10 lat; liczba białych krwinek WBC $\geq 50,109/l$) lub bardzo wysokim ryzykiem zdefiniowanym przez badanie (słaba odpowiedź na steroidoterapię w fazie wstępnej, potwierdzona obecnością blastów we krwi obwodowej $\geq 1,109/l$ w 8. dniu badania). <p><u>Kryteria wykluczenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> pacjenci z ALL i obecnością BCR-ABL lub w wieku powyżej 1 roku <p><u>Liczebność populacji:</u> n=238</p>	<ul style="list-style-type: none"> zgodność wyników uzyskanych przez IG/TCR-QPCR i MFC, obecność MRD.
<p>Gaipa 2012</p> <p>Włochy, Austria, Niemcy, Szwajcaria</p> <p><u>Źródło finansowania:</u> Dla AIEOP: ta praca została wsparta przez Comitato M.L. Verga i Fondazione Tettamanti, Fondazione Città della Speranza, Fondazione Cariparo i Grant Ric. Corrente OBG 2006/02/R/001822, Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro (AIRC; to ABi, GC, MGv), Fondazione Cariplo (ABi), Ministero dell’Istruzione, Università e Ricerca (MIUR; ABi), Associazione Gian Franco Lupo. Podziękowania dla laboratoriów referencyjnych AIEOP (Padova and Monza) i Prof. G. Masera za nadzór and badaniem. Dla BFM: ta praca została wsparta przez the Austrian National Bank; Grant number: 10962 (to MND), by the</p>	<p><u>Cel:</u> porównanie wyników RQ PCR i cytometrii przepływowej w wykrywaniu minimalnej choroby resztkowej w ostrej białaczce limfoblastycznej u dzieci.</p> <p><u>Informacje o badaniu:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> badanie jednoramienne, badanie wieloośrodkowe. <p><u>Okres badań:</u> Wrzesień 2000 – czerwiec 2006</p> <p><u>Interwencja:</u> RQ PCR i cytometria przepływowa</p> <p><u>Komparator:</u> brak</p>	<p><u>Populacja docelowa:</u> Dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną</p> <p><u>Kryteria włączenia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> dzieci w wieku od 1 do 18 lat, nowo zdiagnozowani w kierunku ALL z ujemnym chromosomem Philadelphia <p><u>Kryteria wykluczenia:</u> b.d.</p> <p><u>Liczebność populacji:</u> n=1547</p>	<ul style="list-style-type: none"> zgodność, wartość predykcyjna dodatnia FCM w stosunku do PCR, wartość predykcyjna ujemna FCM w stosunku do PCR, 5-letnie przeżycie bez zdarzeń (EFS5y).

Badanie	Cel i metodyka	Populacja	Punkty końcowe
<p>Österreichische Kinderkrebsforschung to R Panzer-Grümayer (BFM-AT reference laboratory:), przez Deutsche Krebshilfe, Bonn, Germany (grant n. 50-2698 Schr1 and grant n. 502410 Ba7), przez the Competence Network Pediatric Hematology and Oncology (KPOH) co zostało sfinansowane przez the Federal Ministry of Research (BMBF) and OncoSuisse/Krebsforschung Schweiz (Grant OCS 1230-02-2002). Podziękowania dla Prof. G. Mann za wsparcie w tym badaniu.</p> <p>Klasyfikacja doniesień naukowych: IV – badanie jednoramienne</p>			

11.5. Możliwość zastosowania innych rozwiązań (np. badań genetycznych alternatywnych) w stosunku do wskazań podanych w KŚOZ

Tabela 41. Możliwość zastosowania innych rozwiązań (np. badań genetycznych alternatywnych) w stosunku do wskazań podanych w Karcie Świadczenia Opieki Zdrowotnej.

Ekspert	Treść opinii
<p>Prof. dr hab. Jan Styczyński Konsultant Krajowy w dziedzinie onkologii i hematologii dziecięcej</p>	<p>Przedstawiam ogólne zasady rozwiązań niezbędnych z punktu widzenia onkologii i hematologii dziecięcej:</p> <p>UWAGA 1: Powyższe świadczenie (MRD) musi być rozdzielone na 4 oddzielne świadczenia:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) ALL metodą cytometrii przepływowej 2) ALL metodą molekularną (PCR) 3) AML metodą cytometrii przepływowej 4) AML metodą molekularną (PCR) <p>UWAGA 2. Każde z tych świadczeń musi być w 2 opcjach: badanie wstępne (wyjściowe) i badanie następne (monitorowanie MRD).</p> <p>UWAGA 3. Każdy rodzaj badania (świadczenia) musi być wykonany w ośrodku referencyjnym dla wszystkich pacjentów w kraju (w tym transport materiału); a więc wykonawca musi być wyłoniony w konkursie.</p> <p>UWAGA 4. Dla ALL wykonawca musi posiadać certyfikat europejski. Dla AML nie musi posiadać certyfikatu europejskiego. Wystarczy doświadczenie w wykonywaniu badań w AML i certyfikat krajowy.</p> <p>UWAGI 1-4: BYŁY REALIZOWANE W RAMACH NPZChN</p> <p>Wymagany zakres świadczenia (Wykaz procedur / interwencji):</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Szczegółowa diagnostyka immunofenotypowa ALL (badanie wstępne) 2. oznaczenie MRD w ALL metodą cytometrii przepływowej: ALL-MRD-FC 3. identyfikacja rearanżacji genów do monitorowania PCR MRD w ALL 4. oznaczenie MRD metodą PCR w ALL: ALL-MRD-PCR: 5. szczegółowa diagnostyka immunofenotypowa AML (badanie wstępne) 6. oznaczenie MRD metodą cytometrii przepływowej: AML-MRD-FC 7. diagnostyka molekularna AML: 8. oznaczenie MRD metodą PCR: AML-MRD-PCR

Ekspert	Treść opinii																																		
	<p>Wymagane ramy czasowe realizacji świadczenia:</p> <p>Monitorowanie minimalnej choroby resztkowej w ostrych białaczkach w trakcie leczenia przeciwnowotworowego (wyłącznie pacjenci hospitalizowani):</p> <p>1. Ostra białaczka limfoblastyczna (C91.0)</p> <p>a) nowe rozpoznanie:</p> <ul style="list-style-type: none"> - FC: łącznie 4 do 6 razy w trakcie leczenia przeciwnowotworowego (mniej, w przypadku zgonu pacjenta), - PCR: etap 1 (MRD-PCR1)(1x) + etap 2 (MRD-PCR2): 3 do 5 razy w trakcie leczenia przeciwnowotworowego(mniej, w przypadku zgonu pacjenta); <p>b) wznowa:</p> <ul style="list-style-type: none"> - FC: łącznie 4 razy w trakcie leczenia przeciwnowotworowego (mniej, w przypadku zgonu pacjenta), - PCR: etap 1 (MRD-PCR1)(1x) + etap 2 (MRD-PCR2): 3 razy w trakcie leczenia przeciwnowotworowego (mniej, w przypadku zgonu pacjenta); <p>c) przeszczepienie komórek krwiotwórczych:</p> <ul style="list-style-type: none"> - FC: łącznie do 5 razy w trakcie leczenia przeciwnowotworowego (mniej, w przypadku zgonu pacjenta), - PCR: ty ko etap 2 (MRD-PCR2): do 5 razy w trakcie leczenia przeciwnowotworowego (mniej, w przypadku zgonu pacjenta) <p>Oznaczenie MRD metoda cytometrii przepływowej i metodą PCR – punkty czasowe:</p> <table border="1" data-bbox="400 999 1445 1223"> <thead> <tr> <th>MRD</th> <th>Dzień 0 (D-0)</th> <th>Dzień 15 (D15)</th> <th>Dzień 33 (D33)</th> <th>Dzień 84 (D84)</th> <th>Wznowa: D-0 plus przed każdym blokiem Transplantacja (TSK): przed TSK i dni: +30; +60, +100 i in.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>MRD-FC</td> <td>1</td> <td>1</td> <td>1</td> <td>1</td> <td>Wznowa: 4-6 badań TSK: 4-6 badań</td> </tr> <tr> <td>MRD-PCR</td> <td>1 (MRD-PCR1)</td> <td>1 (MRD-PCR2)</td> <td>1 (MRD-PCR2)</td> <td>1 (MRD-PCR2)</td> <td>Wznowa: 4-6 badań TSK: 4-6 badań</td> </tr> </tbody> </table> <p>2) Ostra białaczka szp kowa (C92.0) (poza białaczką promielocytową (APL)):</p> <p>a) nowe rozpoznanie:</p> <p>diagnoza: oznaczenie pełnego immunofenotypu diagnostycznego (1 raz); ocena zmian genetycznych (1 raz)</p> <ul style="list-style-type: none"> - FC: łącznie 4-6 razy w trakcie leczenia przeciwnowotworowego (mniej, w przypadku zgonu pacjenta), - PCR (wyłącznie u pacjentów z obecnym markerem molekularnym) 4-6 razy w trakcie intensywnego leczenia przeciwnowotworowego, a następnie w czasie leczenia podtrzymującego lub po transplantacji z krwi obwodowej 14 razy - co 4 tygodnie przez jeden rok (mniej, w przypadku zgonu pacjenta); <p>b) wznowa:</p> <p>oznaczenie pełnego immunofenotypu diagnostycznego (1 raz)</p> <ul style="list-style-type: none"> - MRD FC: łącznie 3 razy w trakcie leczenia przeciwnowotworowego (mniej, w przypadku zgonu pacjenta) - PCR: wstępne genotypowanie - MRD PCR: łącznie 3 razy w trakcie leczenia przeciwnowotworowego (mniej, w przypadku zgonu pacjenta) <p>Diagnostyka immunofenotypowa AML oraz diagnostyka molekularna AML są wykonywane w dniu diagnozy (jednorazowo), oraz po raz kolejny w przypadku ewentualnej wznowy</p> <p>Oznaczenie MRD metoda cytometrii przepływowej i metodą PCR – punkty czasowe:</p> <table border="1" data-bbox="400 1798 1445 1993"> <thead> <tr> <th>MRD</th> <th>AML po cyklu AIE (dz. 28)</th> <th>AML przed II cyklem indukcji HAM lub AI – w przypadku gdy cykl >35 dnia</th> <th>AML przed cyklem haM lub AI lub AI/2CDA (~dz. 56)</th> <th>AML przed cyklem HAE lub haM (~dz. 84)</th> <th>AML przed cyklem HAE lub allo-SCT (~dz. 112)</th> <th>AML przed protokołem podtrzymującym remisję (~dz. 140)</th> <th>AML w trakcie leczenia podtrzymującego lub po transplantacji (co 4 tygodnie przez rok)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	MRD	Dzień 0 (D-0)	Dzień 15 (D15)	Dzień 33 (D33)	Dzień 84 (D84)	Wznowa: D-0 plus przed każdym blokiem Transplantacja (TSK): przed TSK i dni: +30; +60, +100 i in.	MRD-FC	1	1	1	1	Wznowa: 4-6 badań TSK: 4-6 badań	MRD-PCR	1 (MRD-PCR1)	1 (MRD-PCR2)	1 (MRD-PCR2)	1 (MRD-PCR2)	Wznowa: 4-6 badań TSK: 4-6 badań	MRD	AML po cyklu AIE (dz. 28)	AML przed II cyklem indukcji HAM lub AI – w przypadku gdy cykl >35 dnia	AML przed cyklem haM lub AI lub AI/2CDA (~dz. 56)	AML przed cyklem HAE lub haM (~dz. 84)	AML przed cyklem HAE lub allo-SCT (~dz. 112)	AML przed protokołem podtrzymującym remisję (~dz. 140)	AML w trakcie leczenia podtrzymującego lub po transplantacji (co 4 tygodnie przez rok)								
MRD	Dzień 0 (D-0)	Dzień 15 (D15)	Dzień 33 (D33)	Dzień 84 (D84)	Wznowa: D-0 plus przed każdym blokiem Transplantacja (TSK): przed TSK i dni: +30; +60, +100 i in.																														
MRD-FC	1	1	1	1	Wznowa: 4-6 badań TSK: 4-6 badań																														
MRD-PCR	1 (MRD-PCR1)	1 (MRD-PCR2)	1 (MRD-PCR2)	1 (MRD-PCR2)	Wznowa: 4-6 badań TSK: 4-6 badań																														
MRD	AML po cyklu AIE (dz. 28)	AML przed II cyklem indukcji HAM lub AI – w przypadku gdy cykl >35 dnia	AML przed cyklem haM lub AI lub AI/2CDA (~dz. 56)	AML przed cyklem HAE lub haM (~dz. 84)	AML przed cyklem HAE lub allo-SCT (~dz. 112)	AML przed protokołem podtrzymującym remisję (~dz. 140)	AML w trakcie leczenia podtrzymującego lub po transplantacji (co 4 tygodnie przez rok)																												

Ekspert		Treść opinii																						
	AML-MRD-FC	1	1	1	1	1	1	x																
	AML-MRD-PCR	1	1	1	1	1	1	14																
<p>3) Ostra białaczka promielocytową (APL):</p> <p>c) nowe rozpoznanie: diagnoza: oznaczenie pełnego immunofenotypu diagnostycznego (1 raz); ocena zmian genetycznych (1 raz)</p> <ul style="list-style-type: none"> - FC: łącznie 6 razy w trakcie leczenia przeciwnowotworowego (mniej, w przypadku zgonu pacjenta), - PCR 6 razy w trakcie leczenia przeciwnowotworowego, a następnie co 3 miesiące przez 1 rok z krwi obwodowej (4razy) (mniej, w przypadku zgonu pacjenta); <p>d) wznowa: oznaczenie pełnego immunofenotypu diagnostycznego (1 raz)</p> <ul style="list-style-type: none"> - MRD FC: łącznie 1 raz w trakcie leczenia przeciwnowotworowego - PCR: wstępne genotypowanie - MRD PCR: łącznie 1 raz w trakcie leczenia przeciwnowotworowego, a następnie co 3 miesiące przez 1 rok z krwi obwodowej (4razy) (mniej, w przypadku zgonu pacjenta); <p>Diagnostyka immunofenotypowa AML oraz diagnostyka molekularna AML są wykonywane w dniu diagnozy (jednorazowo), oraz po raz kolejny w przypadku ewentualnej wznowy</p> <p>Oznaczenie MRD metoda cytometrii przepływowej i metodą PCR – punkty czasowe:</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>MRD</th> <th>APL dz. 28</th> <th>APL- przed 2. Cykle ATO (dz. 56)</th> <th>APL po 2. Cyklu ATO (dz. 84)</th> <th>APL przed 3. Cykle ATO (dz. 112)</th> <th>APL przed 4. Cyklem ATO</th> <th>APL po 5. Cyklu ATO</th> <th>APL po zakończeniu leczenia z krwi obwodowej co 3 miesiące przez 1 rok</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </tbody> </table>									MRD	APL dz. 28	APL- przed 2. Cykle ATO (dz. 56)	APL po 2. Cyklu ATO (dz. 84)	APL przed 3. Cykle ATO (dz. 112)	APL przed 4. Cyklem ATO	APL po 5. Cyklu ATO	APL po zakończeniu leczenia z krwi obwodowej co 3 miesiące przez 1 rok								
MRD	APL dz. 28	APL- przed 2. Cykle ATO (dz. 56)	APL po 2. Cyklu ATO (dz. 84)	APL przed 3. Cykle ATO (dz. 112)	APL przed 4. Cyklem ATO	APL po 5. Cyklu ATO	APL po zakończeniu leczenia z krwi obwodowej co 3 miesiące przez 1 rok																	

11.6. Część M załącznika nr 2 Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 6 listopada 2013 r. w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu ambulatoryjnej opieki specjalistycznej

M. Badania genetyczne		
913	Brak kodu	Klasyczne badania cytogenetyczne (techniki prążkowe - prążki GTG, CBG, Ag-NOR, QFQ, RBG i wysokiej rozdzielczości HRBT z analizą mikroskopową chromosomów)
914	Brak kodu	Cytogenetyczne badania molekularne (obejmuje analizę FISH – hybrydyzacja in situ z wykorzystaniem fluorescencji – do chromosomów metafazowych i prometafazowych oraz do jąder interfazowych z sondami molekularnymi centromerowymi, malującymi, specyficznymi, telomerowymi, Multicolor-FISH)
915	Brak kodu	Badania metodami biologii molekularnej (PCR i jej modyfikacje, RFLP, SSCP, HD, sekwencjonowanie i inne) dobranymi w zależności od wie kości i rodzaju mutacji
916	brak kodu	Badania biochemiczne lub enzymatyczne

1. **Poradnia genetyczna** z medycznym laboratorium diagnostycznym wpisanym do ewidencji Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych lub medyczne laboratorium diagnostyczne wpisane do ewidencji Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych

2. **Personel:**

- 1) lekarz specjalista w dziedzinie genetyki klinicznej oraz diagnosta laboratoryjny ze specjalizacją w dziedzinie laboratoryjnej genetyki medycznej, w przypadku prenatalnej i postnatalnej diagnostyki genetycznej chorób nienowotworowych oraz nowotworów dziedzicznych lub
- 2) diagnosta laboratoryjny ze specjalizacją w dziedzinie laboratoryjnej genetyki medycznej w przypadku diagnostyki genetycznej nabytych zmian nowotworowych lub innych chorób niewymienionych w pkt 1.

3. **Wyposażenie w sprzęt i aparaturę medyczną:**

- 1) mikroskop;
- 2) termocykler;
- 3) wirówka preparacyjna;
- 4) pipeta automatyczna;
- 5) sprzęt niezbędny do analizy kwasów nukleinowych.

4. **Kryteria kwalifikacji osób wymagających udzielenia świadczenia:**

- 1) w ramach badań prenatalnych dla kobiet w ciąży, spełniających co najmniej jedno z poniższych kryteriów:
 - a) wiek ciężarnej powyżej 35 lat,
 - b) wystąpienie w poprzedniej ciąży aberracji chromosomowej płodu lub dziecka,

M. Badania genetyczne	
	<p>c) stwierdzenie wystąpienia strukturalnych aberracji chromosomowych u ciężarnej lub u ojca dziecka,</p> <p>d) stwierdzenie znacznie większego ryzyka urodzenia dziecka dotkniętego chorobą uwarunkowaną monogenetycznie lub wieloczynnikową,</p> <p>e) stwierdzenie w czasie ciąży nieprawidłowego wyniku badania USG lub badań biochemicznych wskazujących na zwiększone ryzyko aberracji chromosomowej lub wady płodu;</p> <p>2) w kompleksowej diagnostyce genetycznej chorób nowotworowych;</p> <p>3) w kompleksowej diagnostyce genetycznej chorób nienowotworowych z uwzględnieniem cytogenetycznych badań molekularnych dla następujących grup pacjentów:</p> <p>a) zespoły aberracji chromosomów autosomalnych (np. Downa, Edwardsa, Patau, zespoły częściowych delecji i duplikacji autosomów – łącznie ponad 400 zespołów spowodowanych dużym niezrównoważeniem materiału genetycznego autosomów),</p> <p>b) zespoły mikrodelecji (np. Prader-Willi, Angelman, cri du chat, Wolf-Hirschhorn, Miller-Dieker, CACH22, Langer-Giedion, siatkówczak, Rubinstein-Taybi, Williams, WAGR i inne – łącznie około 40 zespołów),</p> <p>c) zaburzenia cielesno-płciowe (np. zespół Klinefeltera i Turnera oraz ich warianty, zaburzenia determinacji płci, wady rozwojowe narządów płciowych, zaburzenia okresu dojrzewania, pierwotny i wtórny brak miesiączki, hipogonadyzm),</p> <p>d) brak oczekiwanego prawidłowego rozwoju fizjologicznego (np. niedobór wzrostu i masy ciała, opóźnienie rozwoju psychoruchowego),</p> <p>e) izolowane wady rozwojowe o genetycznej etiologii (małogłowie, wady serca i inne),</p> <p>f) zespoły wad rozwojowych (ponad 3000 sklasyfikowanych zespołów – w ogromnej większości o etiologii genetycznej),</p> <p>g) upośledzenie umysłowe – bez towarzyszących zaburzeń lub jako część zespołów wad oraz chorób metabolicznych (spowodowane aberracjami chromosomowymi, subteleromowymi, uwarunkowane jednogenu lub wieloczynnikowo),</p> <p>h) autyzm, nadpobudliwość, zaburzenia zachowania mogące być częścią zespołu genetycznego,</p> <p>i) genetycznie uwarunkowane wady rozwojowe i choroby narządu wzroku,</p> <p>j) dysplazje kostne (achondroplazja, hypochondroplazja, pseudoachondroplazja, NP., SEDC, SEMDC, Marshall, Stickler, diastrophic dwarfism, campomelic dwarfism, metatrophic dwarfism, dysplazja obojczykowo-czaszkowa i inne),</p> <p>k) mukowiscydoza i inne choroby genetyczne z zajęciem układu oddechowego,</p> <p>l) choroby neurologiczne i neurodegeneracyjne uwarunkowane genetycznie (np. rdzeniowy zanik mięśni – wszystkie formy, opuszkowo-rdzeniowy zanik mięśni, ataksje rdzeniowo-mózdkowe, ataksja Friedreicha, choroba Charcot-Marie-Tooth, choroba Huntingtona i inne choroby neurodegeneracyjne),</p> <p>m) choroby pierwotnie mięśniowe o genetycznej etiologii (dystrofia mięśniowa Duchenne'a i Beckera, dystrofia miotoniczna i inne genetycznie uwarunkowane choroby mięśni),</p> <p>n) zespoły z postępującą częściową hipoplazją lub hiperplazją ciała,</p> <p>o) genetycznie uwarunkowane choroby skóry (dysplazje ektodermalne i inne),</p> <p>p) choroby serca o genetycznej etiologii (zespół CACH22, zespół wydłużonego QT, kardiomiopatie i inne),</p> <p>r) choroby spowodowane genetycznie uwarunkowanymi defektami kolagenu i mutacjami w innych genach o podobnej funkcji,</p> <p>s) choroby metaboliczne uwarunkowane genetycznie (dla których nie ma odrębnych poradni specjalistycznych),</p> <p>t) głuchota uwarunkowana genetycznie,</p> <p>u) inne określone choroby genetycznie uwarunkowane (mitochondrialne i inne),</p>

M. Badania genetyczne			
			w) niepowodzenia rozrodu (brak ciąży, wrodzony brak nasieniowodów, zaburzenia spermatogenezy, poronienia nawykowe, wczesne obumarcia ciąży, porody martwe, zgon dziecka w okresie perinatalnym).

12. Spis tabel

Tabela 1. Zachorowania na białaczki wg Krajowego Rejestru Nowotworów (KRN) w latach 2016–2018 w Polsce	13
Tabela 2. Zgony z powodu białaczek wg Krajowego Rejestru Nowotworów (KRN) w latach 2016–2018 w Polsce	13
Tabela 3. Parametry epidemiologiczne dla białaczek w latach 2017-2019 w Polsce wg danych GBD	13
Tabela 4. Zestawienie produktów rozliczeniowych w diagnostyce genetycznej chorób nowotworowych.	19
Tabela 5. Szacowany inkrementalny wzrost kosztów z perspektywy płatnika publicznego	Błąd! Nie zdefiniowano zakładki.
Tabela 6. Zachorowania na białaczki wg Krajowego Rejestru Nowotworów (KRN) w latach 2016–2018 w Polsce	28
Tabela 7. Zgony z powodu białaczek wg Krajowego Rejestru Nowotworów (KRN) w latach 2016–2018 w Polsce	29
Tabela 8. Parametry epidemiologiczne dla białaczek w latach 2017-2019 w Polsce wg danych GBD	29
Tabela 9. Przeżycie pięcioletnie u pacjentów z białaczkami w latach 2010-2016 dla populacji USA.	30
Tabela 10. Skutki następstw choroby lub stanu zdrowia	32
Tabela 11. Wpływ świadczenia na poprawę zdrowia obywateli - priorytety zdrowotne.....	33
Tabela 12. Wpływ świadczenia na poprawę zdrowia obywateli – wskaźniki epidemiologiczne.	33
Tabela 13. Znaczenie dla zdrowia obywateli	33
Tabela 14. Przegląd interwencji stosowanych w ocenianym wskazaniu	34
Tabela 15. Opinie ekspertów dotyczące finansowania ocenianej technologii	34
Tabela 16. Opinie ekspertów dotyczące finansowania ocenianej technologii	35
Tabela 17. Przegląd interwencji wg wytycznych praktyki klinicznej.....	36
Tabela 18. Kryteria selekcji badań do przedmiotowego przeglądu.	41
Tabela 19. Wyjaśnienie terminów związanych z diagnostyką molekularną chorób nowotworowych układu krwiotwórczego.....	42
Tabela 20. Wyniki w zakresie punktów końcowych w badaniach dotyczących diagnostyki wstępnej	44
Tabela 21. Wyniki w zakresie punktów końcowych w badaniach dotyczących wykrywania minimalnej choroby resztkowej	48
Tabela 22. Wyniki w zakresie punktów końcowych w badaniach dotyczących monitorowania terapii celowanej TKI	62
Tabela 23. Badania zarejestrowane w bazie ClinicalTrials.gov dotyczące stosowania RQ-PCR w białaczkach.	70
Tabela 24. Wyniki analiz ekonomicznych dotyczących kosztów związanych z badaniem RQ-PCR.....	73
Tabela 25. Badania genetyczne w ramach ambulatoryjnej opieki specjalistycznej [Rozporządzenie Ministra Zdrowia w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu ambulatoryjnej opieki specjalistycznej, zał. nr 2].....	75
Tabela . Produkty rozliczeniowe w diagnostyce genetycznej chorób nowotworowych w ramach AOS.....	76
Tabela 27. Wykaz badań genetycznych w chorobach nowotworowych możliwych do rozliczenia w ramach leczenia szpitalnego [Zarządzenie Prezesa NFZ nr 55/2021/DSOZ, zał. nr 7]	76
Tabela 28. Produkty rozliczeniowe w diagnostyce genetycznej chorób nowotworowych w ramach leczenia szpitalnego	78
Tabela 29. Zestawienie produktów rozliczeniowych w diagnostyce genetycznej chorób nowotworowych, w ramach których jest możliwość rozliczenia badania PCR.....	79
Tabela 30. Lista realizatorów Programu kontroli jakości w diagnostyce ostrej białaczki u dzieci na lata 2020–2021.....	80

Tabela 31. Liczba nowych przypadków białaczek w populacji polskiej (lata 2010-2019).....	83
Tabela 32. Szacunkowa liczba nowych przypadków w latach 2022-2026	83
Tabela 33. Dane dotyczące realizacji świadczeń obejmujące produkty rozliczeniowe, w ramach których możliwe jest rozliczenie wnioskowanego badania RQ-PCR, dotyczące populacji pacjentów z rozpoznaniem z zakresu C91-C96	84
Tabela 34. Szacunkową inkrementalną liczbę pacjentów, którzy zostaliby objęci wnioskowanym świadczeniem (lata 2022-2026)	Błąd! Nie zdefiniowano zakładki.
Tabela 35. Szacowany inkrementalny wzrost kosztów z perspektywy płatnika publicznego	Błąd! Nie zdefiniowano zakładki.
Tabela 36. Finansowanie ocenianej technologii ze środków publicznych w innych krajach	88
Tabela 37. Strategia wyszukiwania w bazie Medline via PubMed (data ostatniego wyszukiwania: 13.10.2021)	95
Tabela 38. Strategia wyszukiwania w bazie Embase via Ovid (data ostatniego wyszukiwania: 13.10.2021).....	96
Tabela 39. Strategia wyszukiwania w bazie The Cochrane Library (data ostatniego wyszukiwania: 13.10.2021)	97
Tabela 40. Wykluczone badania	98
Tabela 41. Charakterystyka publikacji	101
Tabela 42. Możliwość zastosowania innych rozwiązań (np. badań genetycznych alternatywnych) w stosunku do wskazań podanych w Karcie Świadczenia Opieki Zdrowotnej.	111