

# Инструкции за употреба – Мултигенен тест MammaPrint FFPE

## Въведение

Тестът MammaPrint представлява профил на генна експресия за прогнозиране на клиничния изход при пациенти с рак на гърдата. Той е разработен въз основа на логиката, че естественото развитие на тумора се определя от основните му регулаторни генни пътища. Поради тази причина, в допълнение към стандартната клинична патология, профилите на генна експресия могат по-точно да определят прогнозата и отговора към лечението.

Генната сигнатура на MammaPrint е определена чрез безпристрастен подход и въз основа на анализ на целия геном от 25 000 гена в проби от първичен тумор на гърдата на нелекувани пациенти, както и въз основа на сравнение на профилите на генна активност при пациенти, които не са имали далечни метастази в рамките на 5 години, и пациенти, които са имали. В резултат на това е определен профил от 70 гена, чрез които биха могли да бъдат разграничени пациентите с висок риск от развитие на метастази от пациентите, чийто дългосрочен риск от далечни метастази е достатъчно нисък, за да може системната терапия да осигури малка до никаква абсолютна клинична полза. <sup>(1,2)</sup>

*Риск от повторна поява* - Тестът MammaPrint анализира експресията на 70 конкретни гена в тъканна проба чрез синтезиране на РНК, изолирана от проби на тумор на гърдата върху специални мултигенни предметни стъкла. След това профилът на експресия се използва в патентован механизъм за категорично класифициране на пациента като Висок риск или Нисък риск от рецидив на рака на гърдата.

## Предназначение

MammaPrint® FFPE е качествен, неавтоматизиран ин-витро диагностичен тест, който се извършва в диагностичната лаборатория на Agendia и използва профил на генна експресия, получен от фиксирани във формалин и парафинови блокчета (FFPE) тъканни проби на рак на гърдата за оценка на риска пациентът да развие далечни метастази в рамките на 5 години.

Тестът се провежда при пациентки с рак на гърдата в I или II стадий на заболяването, при които лимфните възли са отрицателни или положителни с до 3 положителни възли, с размер на тумора по-малък или равен на 5,0 cm, както и при пациентки в III стадий на заболяването. Резултатът от MammaPrint® FFPE е предназначен да се използва от лекарите само като прогностичен маркер, заедно с други клинично-патологични фактори.

## *Целеви потребител*

Мултигенният тест MammaPrint FFPE е предназначен за поръчка от лекарите на пациенти с рак на гърдата. Когато заяви мултигенен тест MammaPrint FFPE, лекарят поръчва на Agendia да извърши тест на пробата в диагностичната лаборатория на Agendia.

## *Принцип на теста*

Анализът се извършва чрез няколко неавтоматизирани процеса: изолиране на РНК от FFPE срезове на тъкан от тумор на гърдата; обратна транскрипция на РНК, при която се получава кДНК; амплификация и

маркиране на кДНК; хибридизация на амплифицираната и маркирана кДНК в диагностичния мултигенен панел и получаване на данните (извличане на характеристиките); изчисляване и определяне на риска от рецидив (MammaPrint).

Анализът с MammaPrint е предназначен за определяне на генната активност на конкретни гени в тъканната проба. Резултатът е профил на експресия, или така нареченият “пръстов отпечатък”, на пробата. Въз основа на този профил на експресия се изчислява Индекс MammaPrint и се определя молекулярен прогностичен профил на пробата (Нисък риск, Висок риск).

### ***Предупреждения и предпазни мерки***

Идентификацията на пациента във формуляра за заявка трябва да съответства точно на идентификацията на пробата в системата LIMS, създала вътрешния идентификатор, който трябва да съответства точно на пробата за обработка в лабораторията.

Попълнете точна информация във формуляра за заявка на теста.

Пробата, избрана за извършване на тест MammaPrint, трябва да съответства на характеристиките на целевата популация, като например, но не само, жена с рак на гърдата, начален стадий и минимум 30% туморни клетки.

Резултатите от MammaPrint са предназначени да се използват от лекарите като прогностичен маркер заедно със стандартните клинично-патологични фактори. Тестът не е предназначен за определяне на изхода от заболяването; той не предлага и не предполага отговора на конкретния пациента към лечението.

Резултатът от MammaPrint, който показва Нисък риск, не гарантира, че в рамките на пет години няма да се появи далечен рецидив. По подобен начин резултат, който показва Висок риск, не гарантира, че ще се появи далечен рецидив. Резултатите от теста трябва да се използват в комбинация с други клинично-патологични фактори.

### ***Процедура а) Избор на пациенти***

---

Пациентите, които отговарят на условията, са жени с диагноза рак на гърдата в Стадий I, Стадий II или Стадий III, с негативни или позитивни лимфни възли (до 3 броя позитивни), с размер на тумора  $\leq 5,0$  cm, независимо от статуса на естрогенния рецептор (ER+/-).

### ***б) Вземане, регистриране и изпращане на пробата.***

Условията за вземане, обработка и подготовка на пробата са предоставени на клиента в Инструкциите за употреба: M-ROW067. Този комплект включва:

- 10 микроскопски предметни стъкла
- 2 стойки за по пет стъкла
- Малък и голям полиетиленов плик с цип
- Инструкции за вземане на проба
- Формуляр за заявка на тест
- Лист с етикети с баркод
- Материали за опаковане на пратката

Регистрацията на пробата се инициира с уведомление от лекаря, който заявява теста. Уведомлението (Формуляр за заявка на тест - TRF) може да бъде подадено онлайн чрез клиентския портал или по друг канал за комуникация, като чрез него Agendia регистрира всички свързани проби и информация за пациента. Формулярът TRF е предназначен само за един пациент. Пробата се изпраща директно на диагностичната лаборатория на Agendia от лекаря, който заявява теста; тя трябва да бъде със стайна температура, като за изпращане по куриер се използват предоставените в комплекта опаковъчни материали.

### ***в) Анализ на пробата в Agendia***

Използват се FFPE тъканни срезове, предоставени от клиентите върху предметни стъкла или приготвени от FFPE блокчета с туморна тъкан със стандартен микротом. От тъканните срезове се извлича обща РНК с помощта на стандартен комплект за извличане. РНК пробата се пречиства, амплифицира и маркира с цианин-СТР/dUTP флуоресцентна боя.

РНК/кДНК пробата се хибридизира на специално проектиран диагностичен мултигенен панел (с 8 пакета, от Agilent Technologies). Диагностичните мултигенни панели се сканират със скенер за мултигенни панели Agilent, като в резултат се генерира файл (TIFF). Файлът се използва в софтуер Agilent за извличане на характеристики. Софтуерът за извличане на характеристики анализира сканирания файл (TIFF), като определя относителния интензитет на флуоресценция на отделните характеристики спрямо референтен файл, по който е проектиран диагностичния мултигенен панел, за да идентифицира контролните характеристики, характеристики на нормализация и характеристики на репортерния ген. Интензитетът на флуоресценция на характеристиките се използва като мярка за експресия на конкретни гени.

### ***г) Анализ на данните***

Данните се анализират по алгоритъм MammaPrint, който изчислява Индекс MammaPrint и определя молекулярния прогностичен профил на пробата (Нисък риск, Висок риск). Пробите със стойност на Индекса MammaPrint, по-голяма от 0, се класифицират като Нисък риск, а пробите със стойност, по-малка или равна на 0, се класифицират като Висок риск.

Индексът MammaPrint (MPI) на една проба може да попадне в предварително определена област около прага за класификация между  $MPI > -0,05$  и  $< 0,05$ , като в такъв случай резултатът MammaPrint има  $< 90\%$  точност за класификация, но не по-малко от 50% (т.е. пробата е гранична).

Прилагат се многократни контроли на качеството ( $> 25$ ), за да се гарантира точен аналитичен резултат. Контролите на качеството (QC) и резултатът се проверяват и преминават вътрешно одобрение от директора на лабораторията.

### ***д) Отчитане***

Лекарят, поръчал теста, получава Доклад за пациента и Резюме на резултатите за всеки поръчан мултигенен тест MammaPrint FFPE. Относно личните данни на пациентите вижте нашите условия за обработка на данните в Политиката за поверителност на Agendia.

### ***Ограничения на процедурата***

---

MammaPrint е валидиран за употреба само с туморна тъкан на жени с рак на гърдата. Извършването на тест върху други типове проби може да даде грешен или никакъв резултат. Надеждността на резултатите зависи от правилното прилагане на процедурите за вземане и транспортиране на пробите.

МаммаPrint е валидиран специално за тумори от типа инвазивен дуктален карцином или лобуларен карцином. Не е правена оценка на тестове върху други типове проби (напр. лимфни възли).

### ***Очаквани стойности***

---

Резултатът от МаммаPrint представлява двоична стойност и се категоризира или като “Нисък риск”, или като “Висок риск” от рецидив. Прогностичният профил на пробата се определя чрез изчисляване на Индекс МаммаPrint (MPI) по скала от -1,000 до +1,000.

Както всеки друг тест, нашият тест също има установен праг на класификация. За да се осигури възможно най-висока чувствителност, прагът за Нисък риск и Висок риск при МаммаPrint е определен като нула, като стойности  $> 0,000$  се класифицират като Нисък риск, а стойности  $\leq 0,000$  се класифицират като Висок риск. Средната обща точност на MPI е 98,5%, а точността на резултатите  $< 0,1685$  или  $> 0,168$  е  $> 99\%$ .

#### ***“Гранични” стойности на MPI***

Въпреки че техническата точност на МаммаPrint е изключително висока, проби с близка до нула стойност на MPI имат малко по-нисък процент на точност от пробите, чиято стойност се отдалечава от нулата. По-специално, точността на теста пада под 90% при пробите около нулевия праг, или в така наречения граничен регион между  $MPI > -0,05$  и  $< 0,05$ . Например, при MPI 0,04 има 86% сигурност, че резултатът от теста MP е в положителния диапазон (Нисък риск), и 14% вероятност резултатът да е в отрицателния диапазон (Висок риск). Важно е да се отбележи, че средната точност на проби със стойности на MPI извън “граничния” регион е  $> 99\%$ .

### ***Характеристики на ефективност***

---

Изследваните характеристики на ефективност на МаммаPrint включват: прецизност, възпроизводимост, праг, чувствителност, специфичност, граница на отчитане и точност.

#### **МаммаPrint**

##### ***Аналитична ефективност***

Прецизността и надеждността на МаммаPrint са оценени чрез независимо междулабораторно изследване в двете лаборатории Agendia, сертифицирани съгласно Измененията за подобряване на клиничните лаборатории (CLIA) в Нидерландия и САЩ. <sup>(3)</sup>

Въз основа на аналитичната ефективност на МаммаPrint, точността на класифициране на една проба като Висок риск или Нисък риск е 97,3%, а надеждността на измерването е 97,8%. <sup>(3)</sup> Възпроизводимостта е измерена в повече от 300 контролни проби, които доказват 99% възпроизводимост. <sup>(4)</sup> Характеристиките на ефективността са определени въз основа на изброените по-долу изследвания и документи.

##### ***Клинично валидиране***

Резултатите се основават на вече публикувани данни за молекулярен прогностичен профил от 70 гена<sup>(1)</sup> в тумори на гърдата. Пациентите с добър резултат се класифицират като Нисък риск (т.е. без поява на далечни метастази в рамките на поне 5 години). Пациентите с не толкова добър резултат се класифицират като Висок риск (т.е. по-голяма вероятност от далечни метастази в рамките на 5 години). Посочва се цифровата стойност на Индекса МаммаPrint.

МаммаPrint е разработен въз основа на изследвания на основно европейски пациенти, при които не е провеждано адювантно лечение, с негативни лимфни възли, с цел установяване на биологията на първичния тумор в профила на генна експресия. <sup>(1,2)</sup> През януари 2013 г. са публикувани резултатите от 5-годишното проучване RASTER за наблюдение на прогностичния изход <sup>(4)</sup>. Това проучване на въздействието е “първото по рода си” изследване на биомаркери, в което е извършен и отчетен анализ на проби с МаммаPrint Fresh на 427 пациенти на възраст 18-61 години с рак на гърдата в ранен стадий, pT1 и pT2, негативни лимфни възли, ER+/-, HER 2 +/-, преди да бъде взето решението лекар-пациент за прилагане на адювантна терапия. Пациентите са лекувани по стандартни протоколи, като са взети предвид всички приложими клинично-патологични фактори и резултатите за сигнатура от МаммаPrint.

Впоследствие е направен също и тест МаммаPrint на FFPE тъкан от пациентите в RASTER. Резултатите от МаммаPrint са сравнени чрез 345 двойки пресни проби и FFPE RASTER проби с данни за изхода за 5 години. Без да се вземат предвид други ковариации, различни от резултата на пациента от теста МаммаPrint, пациентите, които са били класифицирани като “Нисък риск” въз основа на МаммаPrint FFPE (71 пациенти на адювантна терапия и 108 на неадювантна терапия), са показали 1,3% (95% CI 0 – 3,1) вероятност от рецидив в рамките на 5 години<sup>(5)</sup>.

Пациентите, които са били класифицирани като “Висок риск” въз основа на МаммаPrint FFPE (145 пациенти на адювантна терапия и 21 на неадювантна терапия), са показали 11,7% (95% CI 6,6 – 16,8) вероятност от рецидив в рамките на 5 години<sup>(5)</sup>.

МаммаPrint е валидиран в независими проучвания при повече от 75 000 пациентки с рак на гърдата, като резултатите са публикувани в престижни международни медицински и научни издания и доказано предоставят информация, която е независима от оценката на клинично-патологичния риск <sup>(56)</sup>.

### **Поръчка на теста**

---

Вашето лице за контакт с Agendia ще Ви предостави комплект за вземане на проба. Можете да използвате комплекта, за да предоставите проба от тумора съгласно инструкциите, или да подготвите FFPE блокче. Подайте заявка чрез нашия онлайн портал или като попълните формуляра за заявка на тест, който е приложен в комплекта за вземане на проба. Подробенности можете да намерите в инструкциите за употреба на комплекта.

Ако имате нужда от допълнителна помощ или информация, моля, свържете се с нас на имейл [Customerservice@agendia.com](mailto:Customerservice@agendia.com) или на телефон +31 (0)20 462 1510.

### **Препратки**

- 
1. van 't Veer et al. Nature 2002; 415(31): 530-536
  2. van de Vijver et al. New Engl J Med 2002; 347(25): 1999-2009
  3. Sapino et al. J Mol Diagnostics 2014; 16: 190-197
  4. Beumer et al. Breast Cancer Res Treat 2016; DOI 10.1007/s10549-016-3764-5

5. Drukker et al. Int J Cancer 2013; 133(4): 929-936
6. Piccart et al. Lancet Oncol. 2021;22(4):476-488

**Пояснителна забележка:**

Докладвайте всеки сериозен инцидент, свързан с МammaPrint FFPE, на производителя и на компетентния орган на държавата членка. Производителят ще докладва сериозния инцидент на компетентния орган на държавата членка, в която потребителят/пациентът пребивава.

**Изменения за подобряване на клиничните лаборатории (CLIA)**

Сертификати за акредитация: Agendia, Inc.:  
05D1089250

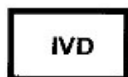
**Данни за производителя**



Agendia NV  
Radarweg 60  
1043 NT Amsterdam, Нидерландия  
Телефон: +31 (0)20 462 1510  
e-mail: [customerservice@agendia.com](mailto:customerservice@agendia.com)

Адрес на диагностичната лаборатория на  
Agendia: Agendia, Inc.  
22 Morgan,  
Irvine, CA 92618, USA  
Тел.: +1 888 321 2732  
Факс: +1 866 756 7548  
[www.agendia.com](http://www.agendia.com)

Базов UDI-DI: 0850024841MammaPrintK9



© 2021 Agendia, NV. Всички права запазени. Agendia, логото на Agendia и МammaPrint са регистрирани търговски марки на Agendia, NV.

M-ROW-387-V1

Дата на издаване: 03Nov2022

**Модификации на предишната версия**  
Първо издание – хх-ххх-2021