

Navodila za uporabo – mikromrežni test MammaPrint FFPE

Uvod

Test MammaPrint je profil izražanja genov za napoved kliničnega izida pri bolnicah z rakom dojk. Razvit je bil na podlagi dognanja, da je naravni potek tumorja odvisen od poti vzročnega regulacijskega gena, zaradi česar lahko profili izražanja genov skupaj s standardno klinično patologijo natančneje napovejo prognozo in odziv na zdravljenje.

Z nepristranskim pristopom so genski podpis testa MammaPrint določili z analizo celotnega genoma, tj. 25.000 genov, v neobdelanih vzorcih primarnega tumorja dojk in primerjavo profilov genske aktivnosti pri bolnicah, pri katerih se v obdobju 5 let niso pojavile oddaljene metastaze, s profili bolnic, pri katerih so se. Tako so dobili profil 70 genov, ki lahko razlikuje med bolnicami, pri katerih obstaja veliko tveganje za pojav metastaz, in tistimi, pri katerih je dolgoročno tveganje za oddaljene metastaze tako majhno, da bi bile absolutne klinične koristi sistemskega zdravljenja majhne ali pa jih sploh ne bi bilo. ^(1,2)

Tveganje za ponovitev bolezni – s testom MammaPrint analiziramo izražanje 70 specifičnih genov v vzorcu tkiva z analizo RNA, izolirane iz vzorcev tumorja dojk, na posebnih steklenih mikromrežnih ploščicah. Profil izražanja se nato uporabi v lastniškem algoritmu, ki bolnico razvrsti med bolnice z velikim ali majhnim tveganjem za ponoven pojav raka.

Predvidena uporaba

MammaPrint® FFPE je kvalitativen, neavtomatiziran diagnostični test in vitro, ki ga izvajamo v diagnostičnem laboratoriju podjetja Agendia z uporabo profila izražanja genov, pridobljenega iz vzorcev rakavega tkiva dojk, fiksiranih v formalinu in vklopljenih v parafin (FFPE), za oceno tveganja, da se pri bolnici v obdobju 5 let pojavijo oddaljene metastaze.

Test se izvede pri bolnicah z rakom dojke v I. ali II. stadiju bolezni, ki so negativne na bezgavke ali pozitivne na bezgavke z do 3 pozitivnimi vozli, z velikostjo tumorja manj kot ali enako 5,0 cm, in za bolnice z boleznijo v III. stadiju. Rezultat testa MammaPrint® FFPE lahko zdravniki uporabijo le kot prognostični kazalec, skupaj z drugimi kliničnopatološkimi dejavniki.

Predvideni uporabnik

Testiranje z mikromrežnim testom MammaPrint FFPE lahko naroči zdravnik bolnice z rakom dojk. Z naročilom testiranja z mikromrežnim testom MammaPrint FFPE zdravnik zaprosi podjetje Agendia, da v svojem diagnostičnem laboratoriju testira posredovani vzorec.

Princip delovanja testa

Analiza temelji na več neavtomatiziranih postopkih, ki so naslednji: izolacija RNA iz rezin rakavega tkiva dojk FFPE, reverzna transkripcija RNA, pri kateri nastane cDNA, amplifikacija in označevanje cDNA, hibridizacija amplificirane in označene cDNA na diagnostično mikromrežo, izpiranje in branje diagnostične mikromreže ter zajem podatkov (ekstrakcija lastnosti), izračun in določitev tveganja za ponovitev bolezni (MammaPrint).

Analiza MammaPrint je namenjena ugotavljanju genske aktivnosti specifičnih genov v vzorcu tkiva. Rezultat je profil izražanja oziroma »prstni odtis« vzorca. Z uporabo tega profila izražanja se izračuna indeks MammaPrint in določi prognostični molekularni profil vzorca (majhno tveganje, veliko tveganje).

Opozorila in previdnostni ukrepi

Identifikacijski podatki bolnice na obrazcu za naročilo se morajo natančno ujemati z identifikacijskimi podatki vzorca v sistemu LIMS, ki ustvari interni identifikator, ki se mora natančno ujemati z vzorcem, ki se obdeluje v laboratoriju.

Obrazec za naročilo testiranja izpolnite s pravilnimi podatki.

Vzorec, izbran za testiranje s testom MammaPrint, se mora ujemati z značilnostmi populacije, za katero je predviden, kar med drugim vključuje raka dojk pri ženskah, zgodnji stadij in najmanj 30 % tumorskih celic.

Rezultate testa MammaPrint lahko zdravniki uporabijo kot prognostične kazalce, skupaj s standardnimi kliničnopatološkimi dejavniki. Test ni namenjen ugotavljanju izida bolezni niti napovedovanju ali predvidevanju odziva posamezne bolnice na zdravljenje.

Rezultat MammaPrint Low Risk ne zagotavlja, da v petih letih ne bo prišlo do oddaljene ponovitve bolezni. Podobno tudi rezultat visokega tveganja ne zagotavlja, da bo zagotovo prišlo do oddaljene ponovitve. Rezultate testa je treba uporabiti v povezavi s kliničnopatološkimi dejavniki.

Postopek a) Izbira pacienta

Primerne so bolnice, ki so jim diagnosticirali raka dojk v 1., 2. ali 3. stadiju z negativnimi bezgavkami ali pozitivnimi bezgavkami (največ 3 pozitivnimi) in velikostjo tumorja $\leq 5,0$ cm, ne glede na izraženost estrogenskega receptorja (ER+/-).

b) Odvzem, registracija in pošiljanje vzorca

Informacije o pogojih za odvzem vzorca, ravnanje z njim in njegovo pripravo so stranki na voljo v navodilih za uporabo: M-ROW067. Ta komplet vsebuje naslednje:

- 10 mikroskopskih stekelc,
- 2 nosilca za pet stekelc,
- majhno in veliko plastično vrečko na zadrgo,
- navodila za odvzem vzorca,
- obrazec za naročilo testiranja,
- list z nalepkami s črtno kodo,
- embalažo za pošiljanje.

Registracija vzorca se izvede po prejemu naročila zdravnika, ki je naročil testiranje. Naročilo (obrazec za naročilo testiranja (TRF – Test Request Form)) lahko odda prek spletnega portala za stranke ali po drugih komunikacijskih kanalih, prek katerih podjetje Agendia registrira vse povezane podatke o vzorcih in bolnicah. Obrazec TRF se lahko uporabi le za eno bolnico. Zdravnik, ki je naročil testiranje, mora vzorec poslati neposredno v diagnostični laboratorij podjetja Agendia, in sicer pri temperaturi okolja in z uporabo priložene embalaže za pošiljanje po pošti.

c) Analiza vzorca v podjetju Agendia

Uporabljeni so odseki tkiva FFPE, ki jih zagotovijo stranke na stekelcih ali so pripravljene iz tumorskih blokov FFPE s standardnim mikrotomom. Iz tkivnih rezin z uporabo standardnega kompleta za izolacijo, ki je na voljo na trgu, ekstrahiramo celotno RNA. Vzorec RNA očistimo, amplificiramo in označimo s fluorescentnim barvilom cianin-CTP/dUTP.

Vzorec RNA/cDNA hibridiziramo na posebno diagnostično mikromrežo (8 kosov, Agilent Technologies). S čitalnikom za mikromreže podjetja Agilent preberemo diagnostično mikromrežo in rezultate dobimo v datoteki z rezultati branja (TIFF). To datoteko uporabimo v programski opremi podjetja Agilent za ekstrakcijo lastnosti. Programska oprema za ekstrakcijo lastnosti analizira datoteko z rezultati branja (TIFF), pri čemer ugotavlja relativne intenzivnosti fluorescence posameznih lastnosti glede na datoteko z zasnovo diagnostične mikromreže, ki jo uporabi kot predlogo, da opredeli kontrolne lastnosti, lastnosti normaliziranja in lastnosti označevalnega gena. Intenzivnosti fluorescence lastnosti so merilo za izražanje določenih genov.

d) Analiza podatkov

Podatki se analizirajo v skladu z algoritmom MammaPrint, ki izračuna indeks MammaPrint in določi prognozični molekularni profil vzorca (majhno tveganje, veliko tveganje). Vzorci z vrednostjo indeksa MammaPrint več kot 0 so opredeljeni kot vzorci z majhnim tveganjem, vzorci z vrednostjo 0 ali manj pa so opredeljeni kot vzorci z velikim tveganjem.

Vrednost indeksa vzorca MammaPrint je lahko znotraj vnaprej določenega območja blizu mejnih vrednosti za razvrščanje od $> -0,05$ do $< 0,05$, v katerem točnost razvrščanja na podlagi rezultata testa MammaPrint znaša $< 90\%$, vendar ne manj kot 50% (tj. mejni vzorec).

Za zagotovitev pravih analitičnih rezultatov se uporabljajo številne kontrole kakovosti (> 25). Preverjanja kakovosti skupaj z rezultati interno pregleda in odobri vodja laboratorija.

e) Poročanje

Zdravnik, ki je naročil testiranje, prejme izvid bolnice ter povzetek rezultatov za vsak naročeni mikromrežni test MammaPrint FFPE. Glede osebnih podatkov bolnic si preberite naše pogoje obdelave podatkov v pravilniku o zasebnosti podjetja Agendia.

Omejitve postopka

Test MammaPrint so potrdili le za uporabo z rakavim tkivom dojke žensk. Pri testiranju drugih vrst vzorcev lahko dobimo napačne rezultate ali pa rezultatov sploh ne dobimo. Zanesljivi rezultati so odvisni od odvzema zadostne količine vzorca in načina pošiljanja.

Test MammaPrint so posebej potrdili za tumorje, ki so invazivni duktalni karcinomi ali lobularni karcinomi. Testiranja drugih vrst vzorcev (npr. bezgavk) niso ocenjevali.

Pričakovane vrednosti

Rezultat testiranja s testom MammaPrint je v binarni obliki in je opredeljen kot »majhno tveganje« ali »veliko tveganje« za ponovitev bolezni. Prognozični profil vzorca se določi z izračunom indeksa MammaPrint (MPI – MammaPrint Index) v razponu od $-1,000$ do $+1,000$.

Tako kot vsi drugi testi ima tudi ta test določeno mejno vrednost za razvrščanje. Pri testu MammaPrint je mejna vrednost za majhno in veliko tveganje nastavljena na 0, da bi tako zagotovili največjo možno občutljivost; pri tem so vrednosti $> 0,000$ opredeljene kot majhno tveganje, vrednosti $\leq 0,000$ pa kot veliko tveganje. Na splošno je povprečna točnost MPI 98,5 %, pri čemer je pri rezultatih $< 0,1685$ ali $> 0,168$ točnost > 99 %.

»Mejne« vrednosti MPI

Čeprav je tehnična točnost testa MammaPrint zelo velika, je pri vzorcih z vrednostjo MPI zelo blizu mejne vrednosti 0 odstotek točnosti nekoliko manjši kot pri vzorcih, ki niso tako blizu mejne vrednosti. Natančneje, okrog mejne vrednosti 0, tj. med vrednostjo MPI $> -0,05$ in $< 0,05$, kar imenujemo tudi mejno območje, je točnost testa manj kot 90 %. Na primer, pri vrednosti MPI 0,04 obstaja 86-odstotna verjetnost, da je rezultat MP znotraj pozitivnega razpona (majhno tveganje), in 14-odstotna verjetnost, da je znotraj negativnega razpona (veliko tveganje). Pomembno pa je poudariti, da je povprečna točnost pri vzorcih z vrednostjo MPI zunaj »mejnega« območja 99 %.

Lastnosti delovanja

Lastnosti delovanja testa MammaPrint, ki so jih preučili, zajemajo: natančnost, ponovljivost, mejno vrednost, občutljivost, specifičnost, mejo zaznavanja in točnost.

MammaPrint

Analitična učinkovitost

Natančnost in ponovljivost testa MammaPrint so ocenili v neodvisni študiji natančnosti in ponovljivosti med laboratoriji v dveh laboratorijih podjetja Agendia s certifikatom CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) na Nizozemskem in v ZDA. ⁽³⁾

Na podlagi analitične učinkovitosti testa MammaPrint natančnost razvrščanja vzorca med vzorce z velikim tveganjem ali majhnim tveganjem znaša 97,3 %, pri čemer je ponovljivost meritve 97,8 %. ⁽³⁾ Ponovljivost so ugotavljali pri več kot 300 kontrolnih vzorcih in ugotovili, da znaša 99 %. ⁽⁴⁾ Lastnosti delovanja temeljijo na študijah in člankih, navedenih spodaj.

Klinična potrditev

Rezultati temeljijo na predhodno objavljenih podatkih za prognostični molekularni profil 70 genov⁽¹⁾ pri tumorjih dojk. Bolnice z ugodnim izidom so razvrščene med bolnice z majhnim tveganjem (kar pomeni, da v obdobju najmanj 5 let ne bodo imele oddaljenih metastaz). Bolnice s slabšim izidom so razvrščene med bolnice z velikim tveganjem (kar pomeni, da obstaja večja verjetnost, da se bodo v obdobju 5 let pojavile oddaljene metastaze). Podana je številčna vrednost indeksa MammaPrint.

Test MammaPrint so razvijali pri bolnicah, ki še niso prejemale adjuvantnega zdravljenja, so imele negativne bezgavke in so večinoma prihajale iz Evrope; s tem so želeli v profilu izražanja genov zajeti biološke značilnosti primarnega tumorja. ^(1,2) Januarja 2013 so bili objavljeni rezultati izidov v obdobju 5 let v prospektivni opazovalni študiji RASTER ⁽⁴⁾. Ta študija učinka je bila »prvo tovrstno« preskušanje, osredotočeno na biološke označevalce, v katerem so izvedli test MammaPrint Fresh in poročali o njegovih rezultatih pri 427 bolnicah, starih od 18 do 61 let, z rakom dojk v zgodnjem stadiju kategorije pT1 oziroma pT2, negativnimi bezgavkami, ER+/- in HER2 +/-, preden sta bolnica in zdravnik sprejela odločitev glede adjuvantnega zdravljenja. Bolnice so zdravili v skladu s standardnimi praktičnimi smernicami ob upoštevanju vseh pomembnih kliničnopatoloških dejavnikov in rezultatov genskega podpisa testa MammaPrint.

Pozneje so s testom MammaPrint testirali tudi tkiva FFPE bolnic, ki so sodelovale v študiji RASTER. Rezultate testa MammaPrint so primerjali z uporabo 345 svežih vzorcev in vzorcev FFPE istih bolnic iz študije RASTER, ki so jih primerjali s podatki o izidih v obdobju 5 let. Če ne upoštevamo nobene druge spremenljivke, razen rezultata testa MammaPrint pri bolnici, je pri bolnicah, ki jih je test MammaPrint FFPE razvrstil med bolnice »z majhnim tveganjem« (71 bolnic, ki so prejemale adjuvantno zdravljenje, in 108 bolnic, ki ga niso), verjetnost za ponovitev raka v obdobju 5 let znašala 1,3 % (95-odstotni IZ 0–3,1)⁽⁵⁾.

Pri bolnicah, ki jih je test MammaPrint FFPE razvrstil med bolnice »z velikim tveganjem« (145 bolnic, ki so prejemale adjuvantno zdravljenje, in 21 bolnic, ki ga niso), je verjetnost za ponovitev raka v obdobju 5 let znašala 11,7 % (95-odstotni IZ 6,6–16,8)⁽⁵⁾.

Test MammaPrint so neodvisno potrdili v študijah pri več kot 75.000 bolnicah z rakom dojk, rezultati pa so bili objavljeni v vodilnih mednarodnih strokovno pregledanih medicinskih in znanstvenih revijah in so dokazali, da test omogoča pridobitev informacij, ki so neodvisne od ocene kliničnopatološkega tveganja ⁽⁵⁶⁾.

Naročilo testiranja

Kontaktna oseba pri podjetju Agendia vam bo posredovala komplet za odvzem vzorca. Z uporabo kompleta vzorec tumorja nanesite na stekelca v skladu z navodili ali pa pripravite blok FFPE. Oddajte naročilo prek našega spletnega portala ali izpolnite obrazec za naročilo testiranja, ki je priložen kompletu za odvzem vzorca. Podrobnosti so v navodilih za uporabo tega kompleta.

Če potrebujete dodatno pomoč ali informacije, stopite v stik z nami prek Customerservice@agendia.com ali +31 (0)20 462 1510.

Seznam literature

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

Opozorilo:

O vseh morebitnih resnih zapletih, povezanih s testom MammaPrint FFPE, poročajte proizvajalcu in pristojnemu organu države članice. Proizvajalec bo o resnem zapletu poročal pristojnemu organu države članice, v kateri se nahaja uporabnik oziroma bolnica.

Spremembe in dopolnila, namenjena izpopolnitvam v kliničnem laboratoriju (CLIA – Clinical Laboratory Improvement Amendments)

Potrdila o akreditaciji: Agendia, Inc.: 05D1089250

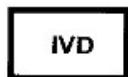
Podatki o proizvajalcu



Agendia NV
Radarweg 60
1043 NT Amsterdam, Nizozemska
Telefon: +31 (0)20 462 1510
E-pošta: customerservice@agendia.com

Naslov diagnostičnega laboratorija podjetja
Agendia Agendia, Inc.:
22 Morgan,
Irvine, CA 92618, ZDA
telefon: +1 888 321 2732 Faks: +1 866 756
7548 www.agendia.com

Osnovni UDI-DI: 0850024841MammaprintK9



© 2021 Agendia, NV. Vse pravice pridržane. Agendia, logotip Agendia in MammaPrint so registrirane blagovne znamke podjetja Agendia, NV.

M-ROW-387-V1

Datum izdaje: 03Nov2022

Spremembe prejšnje različice

prva izdaja – xx-xxx-2021