

# Инструкции за употреба – Мултигенен тест Blueprint FFPE

## Въведение

Тестът Blueprint представлява молекулярен анализ на подтипове, който класифицира рака на гърдата в три отделни подтипа: Луминален, HER2 и Базалоиден подтип въз основа на реалния биологичен профил на тумора, определен чрез генна експресия. Молекулярното определяне на подтипа подобрява възможностите за лечение, тъй като тумори, които изглеждат еднакви въз основа на хистопатологичните си характеристики, на практика могат имат големи разлики в клиничния изход.<sup>(1,2,3)</sup>

Въз основа на 200 първоначални проби на пациенти с рак на гърдата и четири независими кохорти за валидиране (n=748) е определен Blueprint профил с 80 гена.<sup>(1)</sup> Blueprint различава три основни подтипа тумор на гърдата: луминален, HER2 и базалоиден подтип. Тези основни подгрупи могат да бъдат много точно определени с панели за генна експресия, отколкото със стандартна оценка на IHC/FISH.<sup>(2,4)</sup>

Тестът Blueprint анализира профила на експресия на 80 конкретни гена в тъканна проба чрез синтезиране на РНК, изолирана от туморни проби върху специални мултигенни предметни стъкла. Blueprint използва патентован механизъм за определяне на индекс на корелация между профила на 80-те гена с всеки от трите основни молекулярни подтипа: Луминален, HER2 и Базалоиден подтип.

## Предназначение

Blueprint 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 определяне на молекулярния подтип.

Тестът се извършва при жени с рак на гърдата в Стадий I, Стадий II или Стадий III на заболяването.

## Целеви потребител

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

## Принцип на теста

Анализът се извършва въз основа на 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 молекулярния подтип (Blueprint).

Анализът с Blueprint е предназначен за определяне на активността на конкретни гени в тъканната проба. Резултатът е профил на експресия, или така нареченият “пръстов отпечатък”, на пробата. Изчислява се корелацията (Индекс Blueprint) на профила на експресия с шаблоните (средни нива на експресия на мРНК

на тумори от луминален, базалоиден и HER2 подтип) и се определя молекулярният подтип на пробата (а именно Базалоиден, Луминален, HER2 подтип).

### **Предупреждения и предпазни мерки**

---

Идентификацията на пациента във формуляра за заявка трябва да съответства точно на идентификацията на пробата в системата LIMS, създава 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 Blueprint, трябва да съответства на критериите за целева популация, като например, но не само, жена с рак на гърдата, начален стадий и минимум 30% съдържание на туморни клетки.

Резултатите от Blueprint са предназначени да се използват от лекарите като допълнение към стандартните клинично-патологични фактори. Тестът не е предназначен за определяне на изхода от заболяването; той не предлага и не предполага отговора на конкретния пациент към лечението.

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

---

Пациентите отговарят на условията, ако са диагностицирани с рак на гърдата в Стадий I, Стадий II или Стадий III.

#### **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) може да бъде подадено онлайн чрез клиентския портал или по друг канал за комуникация. Agendia регистрира всички свързани с него проби и информация за пациента. 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**

При FFPE тъканни проби се използват предоставените от клиента предметни стъкла с FFPE тъканни срезове или се правят срезове на предоставеното от клиента FFPE блокче 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 и отчитане на данните**

Данните се анализират по алгоритъм BluePrint, който изчислява Индексите BluePrint и определя молекулярния подтип на пробата (Базалоиден, Луминален или HER2 подтип).

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

### **д) Отчитане**

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

### **Ограничения на процедурата**

---

BluePrint 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.

BluePrint 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**

---

Тестът BluePrint FFPE класифицира тъканните проби от рак на гърдата в три основни подтипа: Луминален, HER2 и Базалоиден подтип. Подтипът на тумора се определя въз основа на подтипа с най-висока стойност на индекса.

#### **Луминален подтип**

Луминалният подтип рак на гърдата се характеризира с генна експресия на луминални епителни клетки, които покриват млечните канали и жлези.

### *Подтип HER2*

Ракът на гърдата от подтип HER2 се характеризира с амплификация или свръхекспресия на HER2 локус. Ракът на гърдата от подтип HER2 обикновено е HER2-позитивен тумор, определен чрез IHC или FISH (HER2/неу-позитивен). Когато резултатът от Blueprint е подтип HER2, това означава, че фенотипът на тумора наподобява най-много присъщия подтип на типа HER2.

### *Базалоиден подтип*

Базалоидният подтип рак на гърдата се характеризира от генна експресия на клетки с базален/миоепителен произход. Базалоидният подтип рак на гърдата обикновено е тройно отрицателен за ER, PR и HER2 и има специфичен профил на генна експресия.

Когато резултатът от Blueprint е Базалоиден подтип, това означава, че фенотипът на тумора наподобява най-много на присъщия подтип на базалния тип.

## **Характеристики на ефективност**

---

Изследваните характеристики на ефективност на Blueprint включват: прецизност, възпроизводимост, граница на отчитане и точност.

Техническата валидност на Blueprint е определена чрез многобройни индивидуални експерименти за валидиране и комплексно междулабораторно сравнително проучване. <sup>(5)</sup> Въз основа на аналитичната ефективност на Blueprint, точността на класифициране на една проба като Луминален подтип, Базалоиден подтип или подтип Her2 е 98,6%, а надеждността на измерването е 99,0%. Определената стойност на възпроизводимостта е 98,3%.

Характеристиките на ефективността са определени въз основа на изброените по-долу изследвания и документи.

### **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, подробности 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. Krijgsman et al. Breast Cancer Res Treat 2011; 133(1): 37-47
2. Glück et al. Breast Cancer Res Treat 2013; 139(3): 759-767
3. Whitworth et al. Ann Surg Oncol 2017; 24(3): 669-675

4. Beitsch et al. Ann Surg Oncol 2017; 24(9): 2539-2546
5. Mittempergher et al. Transl Oncol 2020; 13(4): 100756

**Пояснителна забележка:**

Докладвайте всеки сериозен инцидент, свързан с BluePrint 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

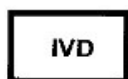
**Данни за производителя**



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:** 0850024841BlueprintBB



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

M-ROW-388-V1

Дата на издаване: 03Nov2022

**Модификации на предишната версия**

Първо издание – xx-xxx-2021