

# BluePrint FFPE in microarray - Istruzioni per l'uso

## **Introduzione**

Il test BluePrint è un test di sottotipizzazione molecolare che consente di classificare il carcinoma mammario in tre sottotipi distinti (di tipo luminale, HER2 o basale) basandosi sul profilo biologico reale del tumore utilizzando l'espressione genica. La sottotipizzazione molecolare migliora l'allocazione del trattamento, poiché i tumori in apparenza identici in base alle caratteristiche istopatologiche possono infatti avere esiti clinici molto diversi. <sup>(1,2,3)</sup>

Utilizzando 200 campioni originali provenienti da pazienti affetti da carcinoma mammario e quattro coorti di validazione indipendenti (n=748), è stato stabilito un profilo BluePrint di 80 geni. <sup>(1)</sup> BluePrint opera una distinzione tra i tre sottotipi di carcinoma mammario intrinseco (tipo luminale, HER2 e basale). Questi sottogruppi intrinseci vengono individuati in modo più accurato utilizzando dei pannelli di espressione genica rispetto alla valutazione IHC/FISH standard. <sup>(2,4)</sup>

Il test BluePrint analizza il profilo di espressione di 80 geni specifici in un campione di tessuto utilizzando l'RNA isolato da campioni di tessuto tumorale su vetrini microarray personalizzati. Utilizzando un algoritmo proprietario, BluePrint determina l'indice di correlazione del profilo di 80 geni con ciascuno dei tre distinti centroidi di sottotipizzazione molecolare, ovvero il tipo luminale, HER2 e basale.

## ***Destinazione d'uso***

---

BluePrint FFPE è un test diagnostico in vitro qualitativo non automatizzato effettuato presso il Laboratorio per i servizi diagnostici di Agendia utilizzando il profilo di espressione genica ottenuto da campioni di tessuto di carcinoma mammario fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE) per determinare il sottotipo molecolare.

Il test viene effettuato su pazienti affette da carcinoma mammario al primo, secondo o terzo stadio.

## ***A chi è destinato***

---

Il BluePrint FFPE in microarray deve essere richiesto dal medico curante della paziente affetta da carcinoma mammario. Ordinando il test BluePrint FFPE in microarray, il professionista sanitario richiederà ad Agendia di effettuare il test su un campione presso il Laboratorio per i servizi diagnostici di Agendia.

## ***Principio del test***

---

L'analisi si basa su vari processi non automatizzati: isolamento dell'RNA da sezioni di tessuto di carcinoma mammario FFPE, retrotrascrizione dell'RNA risultante in cDNA, amplificazione e marcatura del cDNA, ibridazione del cDNA amplificato e marcato in microarray diagnostico, lavaggio e scansione del microarray diagnostico e acquisizione dati (estrazione delle caratteristiche), calcolo e determinazione del sottotipo molecolare (BluePrint).

L'analisi BluePrint è stata appositamente studiata per stabilire l'attività di determinati geni in un campione di tessuto. Il risultato è un profilo di espressione o "impronta digitale" del campione. Viene calcolata la correlazione del profilo di espressione con i template (i livelli medi di espressione dell'mRNA dei tumori di tipo luminale, basale e HER2) (indice BluePrint) e viene determinato il sottotipo molecolare del campione (es. tipo basale, luminale, HER2).

## ***Avvertenze e precauzioni***

---

L'identificativo della paziente riportato nel modulo di richiesta dovrà corrispondere esattamente all'identificativo riportato sul campione all'interno del sistema LIMS, che genera un identificativo interno da abbinare correttamente al campione nella procedura di laboratorio.

Si prega di inserire nel modulo di richiesta di effettuazione del test tutte le informazioni rilevanti.

Il campione selezionato per il test BluePrint dovrà corrispondere ai criteri previsti per la popolazione target come ad esempio carcinoma mammario, stadio iniziale e contenuto di cellule tumorali di almeno il 30%.

L'esito del test BluePrint può essere utilizzato dai medici insieme a fattori clinico-patologici standard. Lo scopo del test non è quello di determinare l'esito della malattia né di suggerire o dedurre la reazione di una determinata paziente alla terapia.

## ***Procedura a) Selezione delle pazienti***

---

Le pazienti sono selezionabili se è stato loro diagnosticato un carcinoma mammario al primo, secondo o terzo stadio.

### ***b) Raccolta, registrazione e spedizione del campione.***

Le condizioni a cui sono subordinate la raccolta, la manipolazione e la preparazione del campione sono riportate nelle istruzioni per l'uso M-ROW067. Questo kit include:

- 10 vetrini microscopici
- 2 portavetrini per cinque vetrini
- Una sacca di plastica con cerniera piccola e una grande
- Istruzioni per il prelievo dei campioni
- Modulo di richiesta di effettuazione del test
- Foglio con etichette provviste di codice a barre
- Materiale di spedizione

La registrazione del campione inizia con la notifica da parte del professionista sanitario committente. Questa notifica (Modulo di richiesta di effettuazione del test) può avvenire tramite il portale clienti online o un altro canale di comunicazione. Agendia registra tutte le informazioni relative al campione e alla paziente. Il campione dovrà essere spedito direttamente al Laboratorio per i servizi diagnostici di Agendia dal professionista sanitario committente a temperatura ambiente utilizzando il materiale di trasporto fornito.

### ***c) Analisi del campione da parte di Agendia***

Per i campioni di tessuto FFPE vengono utilizzati vetrini in vetro forniti dal committente con sezioni di tessuto FFPE oppure vengono realizzati dei vetrini dal blocco tumorale FFPE fornito dal cliente utilizzando un microtomo standard. L'RNA totale viene estratto dalle sezioni di tessuto utilizzando un kit di isolamento normalmente disponibile in commercio. Il campione di RNA viene purificato, amplificato ed etichettato con un colorante fluorescente cianina-CTP/dUTP.

Il campione di RNA/cDNA viene ibridato su un microarray diagnostico appositamente studiato (confezione da 8, Agilent Technologies).

Utilizzando uno scanner per microarray Agilent, si effettua la scansione del microarray diagnostico e il risultato è un file di scansione (TIFF) che verrà utilizzato dal software Agilent Feature Extraction. Il software di estrazione delle caratteristiche analizza il file di scansione (TIFF) determinando le intensità di fluorescenza relative delle singole caratteristiche rispetto al file di progettazione del chip di microarray diagnostico come modello per individuare le caratteristiche di controllo, le caratteristiche di normalizzazione e le caratteristiche del gene reporter. Le intensità di fluorescenza delle caratteristiche sono una misura per l'espressione di determinati geni.

#### ***d) Analisi dei dati e rendicontazione***

L'analisi dei dati viene eseguita secondo uno specifico algoritmo BluePrint che calcola gli indici BluePrint determinando il sottotipo molecolare del campione (tipo basale, luminale o HER2).

Vengono attuati controlli di qualità estesi (>25) al fine di garantire un corretto risultato analitico. I CQ unitamente all'esito vengono rendicontati e approvati internamente dal Responsabile di Laboratorio.

#### ***e) Rendicontazione***

Il professionista sanitario committente riceve un referto e un riepilogo dei risultati per ciascun test BluePrint FFPE in microarray ordinato. Relativamente ai dati personali delle pazienti, si rimanda alle condizioni inerenti al trattamento dei dati riportate nell'Informativa sulla privacy di Agendia.

#### ***Limiti della procedura***

---

L'utilizzo di BluePrint è stato validato esclusivamente con tessuto di carcinoma mammario. L'analisi di altri tipi di campioni può produrre risultati errati o nessun risultato. Un esito affidabile dipende da procedure adeguate di raccolta e trasporto dei campioni.

BluePrint è stato specificamente validato per i carcinomi duttali invasivi o i carcinomi lobulari. Non sono stati valutati test su altri tipi di campioni (ad es. linfonodi).

#### ***Valori previsti***

---

Il test BluePrint FFPE consente di classificare i campioni di tessuto di carcinoma mammario in tre sottotipi distinti, ovvero il tipo luminale, HER2 e basale. Il sottotipo con l'indice più elevato determina il sottotipo molecolare del tumore.

##### ***Tipo luminale***

I carcinomi mammari di tipo luminale sono caratterizzati dall'espressione genica delle cellule epiteliali luminali che rivestono i dotti e le ghiandole mammarie.

##### ***Tipo HER2***

I carcinomi mammari di tipo HER2 sono caratterizzati da un'amplificazione o una sovraespressione del locus HER2. I carcinomi mammari di tipo HER2 sono tipicamente tumori HER2-positivi per IHC o FISH (HER2/neu positivi). Un esito BluePrint di tipo HER2 significa che il fenotipo del tumore è più simile al sottotipo intrinseco di tipo HER2.

### *Tipo basale*

I carcinomi mammari di tipo basale sono caratterizzati dall'espressione genica delle cellule basali/mioepiteliali originarie. I tumori di tipo basale sono tipicamente triplo-negativi per ER, PR e HER2 con uno specifico profilo di espressione genica.

Un esito Blueprint di tipo basale significa che il fenotipo del tumore assomiglia maggiormente al sottotipo intrinseco di tipo basale.

### **Caratteristiche di prestazione**

---

Tra le caratteristiche di prestazione analizzate per Blueprint figurano la precisione, la riproducibilità, il limite di rilevamento e l'accuratezza.

La validità tecnica di Blueprint è stata determinata da più esperimenti di validazione individuali e da uno studio comparativo interlaboratorio completo. <sup>(5)</sup> Sulla base delle prestazioni analitiche di Blueprint, la precisione della classificazione come "di tipo luminale", "di tipo basale" o "di tipo Her2" è del 98,6%, con una ripetibilità della misurazione del 99%. È stato stabilito che la riproducibilità è pari al 98,3%.

Le caratteristiche di prestazione si basano sugli studi e sui documenti elencati di seguito.

### **Ordinazione del test**

---

Il suo referente di Agendia provvederà a fornirle un kit per la raccolta dei campioni. Utilizzando il kit, dovrà aggiungere il campione tumorale ai vetrini seguendo le istruzioni o preparare un blocco FFPE. Effettui l'ordine sul nostro portale online o compilando il modulo di richiesta di effettuazione del test che troverà nel kit di raccolta di campioni. Troverà maggiori informazioni nelle istruzioni per l'uso di questo kit.

Per ulteriore assistenza, la invitiamo a contattarci all'indirizzo e-mail [customerservice@agendia.com](mailto:customerservice@agendia.com) o a telefonare al numero +31 (0)20 462 1510.

### **Bibliografia**

---

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

### **Avvertenza:**

si prega di segnalare qualsiasi incidente grave relativo a Blueprint FFPE al costruttore e alle autorità competenti dello Stato membro. Il costruttore provvederà a segnalare eventuali incidenti gravi occorsi alle autorità competenti dello Stato membro in cui risiede l'utilizzatore o la paziente.

**Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA)** Certificati di accreditamento: Agendia, Inc.:  
05D1089250

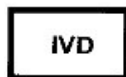
#### Dati relativi al costruttore



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

Indirizzo del laboratorio per i servizi diagnostici di  
Agendia, Inc.:  
22 Morgan,  
Irvine, CA 92618, USA  
Tel.: +1 888 321 2732 Fax:  
+1 866 756 7548  
[www.agendia.com](http://www.agendia.com)

**UDI-DI di base:** 0850024841BlueprintBB



© 2021 Agendia, NV. Tutti i diritti riservati. Agendia, il logo Agendia e BluePrint sono marchi registrati di Agendia, NV.

M-ROW-388-V1

Data di pubblicazione: 3nov2022

#### Modifiche della versione precedente

Versione originaria: xx-xxx-2021