

Instruções de utilização – Microarranjo BluePrint FFPE

Introdução

O teste BluePrint é um ensaio de subtipagem molecular que classifica o cancro da mama em três subtipos distintos: Tipo Luminal, Tipo HER2 e Tipo Basal, com base no verdadeiro perfil biológico do tumor utilizando a expressão genética. A subtipagem molecular melhora a alocação do tratamento, uma vez que tumores que podem parecer idênticos com base nas características histopatológicas podem, de facto, apresentar resultados clínicos muito diferentes. ^(1,2,3)

Recorrendo a 200 amostras iniciais de doentes com cancro da mama e quatro coortes de validação independentes (n=748), foi estabelecido o perfil de 80 genes BluePrint. ⁽¹⁾ O BluePrint faz a discriminação entre os três subtipos intrínsecos de cancro da mama; Tipo Luminal, Tipo HER2 e Tipo Basal. Estes subgrupos intrínsecos são identificados com maior precisão utilizando painéis de expressão genética em comparação com a avaliação IHC/FISH padrão. ^(2,4)

O teste BluePrint analisa o perfil de expressão de 80 genes específicos numa amostra de tecido ao testar o RNA isolado das amostras de tecido tumoral em lâminas de microarranjo de vidro personalizadas. Utilizando um algoritmo patenteado, o BluePrint determina o índice de correlação do perfil de 80 genes com cada um dos três centroides de subtipagem molecular distintos: Tipo Luminal, Tipo HER2 e Tipo Basal.

Utilização prevista

O BluePrint FFPE é um teste de diagnóstico in vitro qualitativo e não automatizado, o qual é realizado no Laboratório do Serviço de Diagnóstico da Agendia, que utiliza o perfil de expressão genética obtido a partir de amostras de tecido de cancro da mama fixadas em formol e incluídas em parafina (FFPE) para determinar o subtipo molecular.

O teste é realizado para doentes com cancro da mama do sexo feminino, com doença em Estádio I, Estádio II ou Estádio III.

Utilizador pretendido

O microarranjo BluePrint FFPE destina-se a ser solicitado pelos prestadores de cuidados de saúde que tratam os doentes com cancro da mama do sexo feminino. Ao encomendar o teste de microarranjo BluePrint FFPE, o prestador de cuidados de saúde solicita à Agendia a execução do teste na amostra no Laboratório do Serviço de Diagnóstico da Agendia.

Princípio do teste

A análise baseia-se em vários processos não automatizados: isolamento de RNA das secções de tecido FFPE do cancro da mama; transcrição reversa do RNA resultando no cDNA; amplificação e rotulagem do cDNA; hibridização do cDNA amplificado e rotulado para o microarranjo de diagnóstico; lavagem e leitura do microarranjo de diagnóstico e aquisição de dados (extração de características); cálculo e determinação do subtipo molecular (BluePrint).

A análise BluePrint foi concebida para determinar a atividade de genes específicos numa amostra de tecido. O resultado é um perfil de expressão, ou "impressão digital", da amostra. A correlação do perfil de expressão com os modelos (os níveis de expressão médios de mRNA dos tumores de Tipo Luminal, Basal e HER2) é calculada (índice BluePrint) e o subtipo molecular da amostra é determinado (ou seja, Tipo Basal, Tipo Luminal, Tipo HER2).

Avisos e precauções

A identificação do doente no formulário de pedido tem de corresponder corretamente à identificação da amostra no sistema LIMS, que cria um identificador interno que deve corresponder corretamente à amostra no processo laboratorial.

Preencha o formulário de pedido do teste com a informação adequada

A amostra selecionada para o teste BluePrint deve corresponder aos critérios da população à qual se destina, como (mas não apenas) cancro da mama feminino, estágio inicial e conteúdo de célula tumoral de, pelo menos, 30%.

Os resultados BluePrint são indicados para serem utilizados pelos médicos, para além dos fatores clínico-patológicos padrão. O teste não pretende determinar o desfecho da doença nem sugerir ou inferir a resposta de um doente individual à terapia.

Procedimento a) Seleção de doentes

Os doentes são elegíveis se forem diagnosticados com cancro da mama, no Estádio I, Estádio II ou Estádio III da doença.

b) Recolha, registo e envio de amostras.

As condições de recolha, manuseamento e preparação da amostra são fornecidas ao cliente através de IFU: M-R0W067. Este kit inclui o seguinte:

- 10 lâminas microscópicas
- 2 porta-lâminas para cinco lâminas
- Sacos de plástico pequeno e grande com fecho
- Instruções de recolha de amostras
- Formulário de pedido do teste
- Folha de etiquetas com código de barras
- Materiais de envio

O registo das amostras tem início com a notificação do prestador de cuidados de saúde que fez o pedido. Esta notificação (formulário de pedido do teste) pode ser feita através do portal de cliente online ou de outro canal de comunicação. A Agendia regista todas as informações relacionadas com as amostras e os doentes. A amostra é enviada diretamente para o Laboratório do Serviço de Diagnóstico da Agendia pelo prestador de cuidados de saúde que fez o pedido, à temperatura ambiente, utilizando os materiais de transporte fornecidos pelo correio.

c) Análise de amostras na Agendia

Para amostras de tecido FFPE, são utilizadas as lâminas de vidro fornecidas pelo cliente com secções de tecido FFPE ou as lâminas são feitas a partir do bloco tumoral FFPE fornecido pelo cliente utilizando um micrótomo

padrão. O RNA total é extraído das secções de tecido utilizando um kit de isolamento comum disponível comercialmente. A amostra de RNA é purificada, amplificada e rotulada com um corante fluorescente de cianina-CTP/dUTP.

A amostra de RNA/cDNA é hibridizada num microarranjo de diagnóstico especificamente concebido (pacote de 8 unidades, Agilent Technologies).

É utilizado um scanner de microarranjo da Agilent para a leitura do microarranjo de diagnóstico, resultando num ficheiro de análise (TIFF). Este ficheiro é utilizado pelo software de extração de características da Agilent. O software de extração de características verifica o ficheiro de análise (TIFF) determinando as intensidades fluorescentes relativas das características individuais por oposição ao ficheiro de conceção do chip do microarranjo de diagnóstico como um modelo, de modo a identificar as características de controlo, as características de normalização e as características do gene repórter. As intensidades fluorescentes das características constituem uma medida para a expressão de genes particulares.

d) Análise de dados e relatórios

A análise de dados é realizada de acordo com um algoritmo BluePrint específico, que calcula os índices BluePrint e determina o subtipo molecular da amostra (Tipo Basal, Tipo Luminal ou Tipo HER2).

São implementados Controlos de Qualidade extensivos (>25) a fim de assegurar o resultado analítico correto. Os CQ e o resultado são comunicados e aprovados internamente pelo Diretor do Laboratório.

e) Relatórios

O prestador de cuidados de saúde que fez o pedido recebe um Relatório do Doente, assim como um Resumo dos Resultados para cada teste de microarranjo BluePrint FFPE pedido. No que diz respeito aos dados pessoais dos doentes, consulte os nossos termos de tratamento de dados na Política de Privacidade da Agendia.

Limitações do procedimento

O BluePrint foi validado para ser utilizado apenas com tecido tumoral do cancro da mama feminino. Os testes de outros tipos de amostra podem resultar em resultados incorretos ou na ausência de resultados. Os resultados fiáveis dependem dos procedimentos adequados de recolha e transporte de amostras.

O BluePrint foi especificamente validado para tumores que são carcinomas ductais ou carcinomas lobulares invasivos. Os testes de outros tipos de amostra (por exemplo, gânglios linfáticos) não foram avaliados.

Valores previstos

O teste BluePrint FFPE classifica as amostras de tecido de cancro da mama em três subtipos distintos: Tipo Luminal, Tipo HER2 e Tipo Basal. O subtipo com a pontuação de índice mais alta determina o subtipo molecular do tumor.

Tipo Luminal

Os cancros da mama do Tipo Luminal caracterizam-se pela expressão genética das células epiteliais luminiais que revestem as glândulas e os ductos mamários.

Tipo HER2

Os cancros da mama do Tipo HER2 caracterizam-se pela amplificação ou sobre-expressão do locus HER2.

Os cancros do Tipo HER2 são tipicamente tumores HER2-positivo por IHC ou FISH (HER2/neu positivo). Um resultado Blueprint do Tipo HER2 significa que o fenótipo do tumor assemelha-se muito ao subtipo intrínseco do Tipo HER2.

Tipo Basal

Os cancros da mama do Tipo Basal caracterizam-se pela expressão genética das células basais/mioepiteliais de origem. Os cancros do Tipo Basal são tipicamente triplos negativos para ER, PR e HER2 com um perfil de expressão genética específico.

Um resultado Blueprint do Tipo Basal significa que o fenótipo do tumor assemelha-se muito ao subtipo intrínseco do Tipo Basal.

Características de desempenho

As características de desempenho investigadas para o Blueprint incluem: precisão, reprodutibilidade, Limite de Detecção e precisão.

A validade técnica do Blueprint é determinada com base em múltiplas experiências de validação individuais e num estudo de comparação interlaboratorial abrangente. ⁽⁵⁾ Com base no desempenho analítico do Blueprint, a precisão de classificar como Tipo Luminal, Tipo Basal ou Tipo Her2 é de 98,6%, com uma repetibilidade da medição de 99,0%. A reprodutibilidade foi determinada como sendo de 98,3%.

As características de desempenho baseiam-se nos estudos e documentos listados abaixo.

Pedido do teste

Será fornecido um kit de recolha de amostras pela pessoa de contacto da Agendia. Utilizando o kit, adicione a amostra do tumor às lâminas de acordo com as instruções ou prepare um bloco FFPE. Faça o seu pedido através do nosso portal online ou preencha o formulário de pedido do teste que encontra no kit de recolha de amostra. Encontra todos os detalhes nas IFU deste kit.

Se necessitar de apoio ou informação adicional, entre em contacto connosco através de Customerservice@agendia.com ou +31 (0)20 462 1510.

Referências

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

Nota de aviso:

Comunique qualquer incidente grave relacionado com o BluePrint FFPE ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro. O fabricante comunicará o incidente grave à autoridade competente do Estado-Membro em que o utilizador/doente está estabelecido.

Clinical Laboratory Improvement Amendments

(CLIA) Certificados de acreditação: Agendia, Inc.:
05D1089250

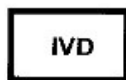
Detalhes de fabrico



Agendia NV
Radarweg 60
1043 NT Amesterdão, Países Baixos
Telefone: +31 (0)20 462 1510
E-mail: customerservice@agendia.com

Endereço do Laboratório do Serviço de Diagnóstico (Diagnostic Service Laboratory) da Agendia Agendia, Inc.:
22 Morgan,
Irvine, CA 92618, EUA
Telefone: +1 888 321 2732
Fax: +1 866 756 7548
www.agendia.com

UDI-DI básico: 0850024841BlueprintBB



© 2021 Agendia, NV. Todos os direitos reservados. Agendia, o logótipo da Agendia e BluePrint são marcas registadas da Agendia, NV.

M-ROW-388-V1

Data de publicação: 03Nov2022

Modificações à versão anterior

Publicação inicial – xx-xxx-2021