

# Návod na použitie – Mikročip BluePrint FFPE

## Úvod

Test BluePrint je test určený na molekulárnu subtypizáciu, ktorý následne klasifikuje rakovinu prsníka do troch odlišných podtypov: Luminálny typ, typ HER2 a bazálny typ na základe skutočného biologického profilu nádoru prostredníctvom génovej expresie. Molekulárna subtypizácia zlepšuje alokáciu liečby, pretože nádory, ktoré sa môžu zdať identické na základe histopatologických znakov, môžu mať v skutočnosti veľmi odlišné klinické výsledky. <sup>(1,2,3)</sup>

Použitím 200 počiatkových vzoriek pacientov s rakovinou prsníka a štyroch nezávislých validačných kohort (n=748) sa stanovil 80-génový profil BluePrint. <sup>(1)</sup> BluePrint rozlišuje celkovo tri podtypy rakoviny prsníka; luminálny typ, typ HER2 a bazálny typ. Tieto vnútorné podskupiny sú presnejšie identifikované pomocou panelov génovej expresie v porovnaní so štandardným hodnotením IHC/FISH. <sup>(2,4)</sup>

Test BluePrint analyzuje profil expresie 80 špecifických génov vo vzorke tkaniva spustením izolovanej RNA zo vzoriek nádorového tkaniva na vlastných sklenených mikročipoch. Pomocou vlastného algoritmu BluePrint určuje korelačný index profilu 80 génov s každým z troch rôznych ťažísk molekulárnej subtypizácie: Luminálny typ, typ HER2 a bazálny typ.

## ***Zamýšľané použitie***

---

BluePrint FFPE je kvalitatívny, neautomatizovaný diagnostický test in vitro, ktorý sa vykonáva v laboratóriu diagnostických služieb spoločnosti Agendia a využíva profil génovej expresie získaný zo vzoriek tkaniva rakoviny prsníka fixovaných vo formalíne a zaliatých parafínom (FFPE) na určenie molekulárneho podtypu rakoviny prsníka.

Test sa vykonáva u žien s rakovinou prsníka v štádiu I, v štádiu II alebo v štádiu III.

## ***Pre koho je test určený***

---

Mikročip BluePrint FFPE je určený na vyžiadanie ošetrojúcim zdravotníckym pracovníkom pacientky s rakovinou prsníka. Objednaním mikročipového testu BluePrint FFPE poskytovateľ zdravotnej starostlivosti požiada spoločnosť Agendia o vykonanie testu na vzorke v laboratóriu diagnostických služieb spoločnosti Agendia.

## ***Princíp fungovania testu***

---

Analýza je založená na niekoľkých neautomatizovaných procesoch: izolácia RNA z tkanivových rezov rakoviny prsníka FFPE; reverzná transkripcia RNA vedúca k cDNA; amplifikácia a značenie cDNA; hybridizácia amplifikovanej a značenej cDNA s diagnostickým mikročipom; umývanie a skenovanie diagnostického mikročipu a získavanie údajov (výber charakteristických znakov); výpočet a určenie molekulárneho podtypu (BluePrint).

Analýza BluePrint je navrhnutá na určenie aktivity špecifických génov vo vzorke tkaniva. Výsledkom je profil expresie alebo „odtlačok prsta“ vzorky. Vypočíta sa korelácia profilu expresie so šablónami (priemerné hladiny expresie mRNA nádorov luminálneho, bazálneho typu a typu HER2) (index BluePrint) a určí sa molekulárny podtyp vzorky (t. j. bazálny typ, luminálny typ, typ HER2).

## **Upozornenia a bezpečnostné opatrenia**

---

Identifikácia pacienta vo formulári žiadosti sa musí správne zhodovať s identifikáciou vzorky v systéme LIMS, čím sa vytvorí interný identifikátor, ktorý by sa mal správne priradiť ku vzorke v rámci laboratórneho procesu.

Vyplňte formulár žiadosti o test s príslušnými informáciami

Vzorka vybraná na testovanie prostredníctvom Blueprint by mala zodpovedať kritériám určenej populácie, ako je napríklad - nie však výlučne - rakovina prsníka u žien, včasné štádium, obsah nádorových buniek najmenej 30 %.

Výsledky Blueprint sú okrem štandardných klinicko-patologických faktorov indikované na použitie lekárom. Test nie je navrhnutý na určenie výsledku ochorenia, ani na navrhovanie alebo odvodzovanie individuálnej odpovede pacienta na liečbu.

### **Postup a) Výber pacientiek**

---

Pacientky sú vhodné, ak im bola diagnostikovaná rakovina prsníka v štádiu I, II alebo III.

### **b) Odber, registrácia a odosielanie vzoriek.**

Podmienky odberu, manipulácie a prípravy vzorky sú zákazníkovi poskytnuté prostredníctvom návodu na použitie: M-ROW067. Táto súprava obsahuje nasledovné:

- 10 podložných sklíčok
- 2 nosiče s piatimi sklíčkami
- Malú a veľkú plastovú tašku na zips
- Pokyny na odber vzoriek
- Formulár žiadosti o test
- Etiketový hárok so štítkami a čiarovými kódmi
- Prepravné materiály

Registrácia vzorky sa iniciuje oznámením od objednávajúceho poskytovateľa zdravotnej starostlivosti. Toto oznámenie (formulár žiadosti o test) sa môže uskutočniť prostredníctvom online zákazníckeho portálu alebo iného komunikačného kanála. Spoločnosť Agendia registruje všetky súvisiace informácie o vzorke a pacientovi. Vzorka je odoslaná priamo do laboratória diagnostických služieb spoločnosti Agendia objednávajúcim poskytovateľom zdravotnej starostlivosti pri teplote okolia pomocou poskytnutých kuriérskych prepravných materiálov.

### **c) Analýza vzorky v spoločnosti Agendia**

Pre vzorky tkaniva FFPE sa používajú sklenené podložné sklíčka s tkanivovými rezmi FFPE poskytnuté zákazníkom alebo sa sklíčka vyrábajú z bloku nádoru FFPE poskytnutého zákazníkom pomocou štandardného mikrotómu. Celková RNA sa extrahuje z tkanivových rezov pomocou štandardnej komerčne dostupnej izolačnej súpravy. Vzorka RNA sa prečistí, amplifikuje a označí fluorescenčným farbivom cyanín-CTP/dUTP.

Vzorka RNA/cDNA sa hybridizuje na špecificky navrhnutom diagnostickom mikročipe (balenie po 8 kusoch, Agilent Technologies).

Na skenovanie diagnostického mikročipu sa používa skener Agilent a výsledkom je súbor skenu (TIFF). Tento súbor využíva softvér na extrakciu funkcií spoločnosti Agilent. Softvér určený na extrakciu funkcií analyzuje súbor skenu (TIFF) určením relatívnej intenzity fluorescencie jednotlivých prvkov oproti súboru návrhu diagnostického

mikročipu ako šablóny s cieľom identifikovať kontrolné prvky, normalizačné prvky a prvky reportérového génu. Intenzita fluorescencie prvkov je mierou pre expresiu konkrétnych génov.

#### **d) Analýza údajov a hlásenie**

Analýza údajov sa vykonáva podľa špecifického algoritmu BluePrint, ktorý vypočítava indexy BluePrint a určuje molekulárny podtyp vzorky (bazálny typ, luminálny typ alebo typ HER2).

Zavádzajú sa rozsiahle kontroly kvality (> 25), aby sa zabezpečil správny analytický výsledok. Kontroly kvality spolu s výsledkom hlási a interne schvaľuje riaditeľ laboratória.

#### **e) Hlásenie**

Objednávajúci poskytovateľ zdravotnej starostlivosti dostane správu o pacientovi, ako aj súhrn výsledkov pre každý objednaný mikročipový test BluePrint FFPE. Pokiaľ ide o osobné údaje pacientov, pozrite si naše podmienky spracovania údajov v Zásadách ochrany osobných údajov spoločnosti Agendia.

#### **Obmedzenia postupu**

---

BluePrint bol schválený na použitie len s nádorovým tkanivom rakoviny prsníka u žien. Testovanie iných typov vzoriek môže viesť k nesprávnym alebo žiadnym výsledkom. Spoľahlivé výsledky závisia od adekvátnych postupov odberu a prepravy vzoriek.

BluePrint bol špeciálne schválený pre nádory, ktoré sú invazívnym duktálnym karcinómom alebo lobulárnym karcinómom. Testovanie iných typov vzoriek (napr. lymfatických uzlín) nebolo hodnotené.

#### **Očakávané hodnoty**

---

Test BluePrint FFPE klasifikuje vzorky tkaniva rakoviny prsníka do troch odlišných podtypov: Luminálny typ, typ HER2 a bazálny typ. Podtyp s najvyšším indexovým skóre určuje molekulárny podtyp nádoru.

##### *Luminálny typ*

Rakoviny prsníka luminálneho typu sú charakterizované génovou expresiou luminálnych epiteliálnych buniek, ktoré lemujú prsné kanáliky a žľazy.

##### *Typ HER2*

Rakoviny prsníka typu HER2 sú charakterizované amplifikáciou alebo nadmernou expresiou lokusu HER2. Rakoviny typu HER2 sú typicky HER2-pozitívne nádory podľa IHC alebo FISH (HER2/neu pozitívne). Výsledok BluePrint typu HER2 znamená, že fenotyp nádoru sa najviac podobá vnútornému podtypu typu HER2.

##### *Bazálny typ*

Rakoviny prsníka bazálneho typu sú charakterizované génovou expresiou pôvodných bazálnych/myoepiteliálnych buniek. Rakoviny bazálneho typu sú typicky trojnásobne negatívne na ER, PR a HER2 so špecifickým profilom génovej expresie.

Výsledok BluePrint bazálneho typu znamená, že fenotyp nádoru sa najviac podobá vnútornému podtypu bazálneho typu.

## **Výkonnostná charakteristika**

---

Výkonnostná charakteristika skúmaná pre BluePrint zahŕňa: precíznosť, reprodukovateľnosť, hranicu detekcie a presnosť.

Technická platnosť BluePrint sa určuje na základe viacerých individuálnych validačných experimentov a komplexnej medzilaboratórnej porovnávacej štúdie. <sup>(5)</sup> Na základe analytického výkonu BluePrint je precíznosť klasifikácie luminálneho typu, bazálneho typu alebo typu Her2 98,6 %, pričom opakovateľnosť merania je 99,0 %. Reprodukovateľnosť bola stanovená na 98,3 %.

Výkonnostná charakteristika je založená na štúdiách a dokumentoch uvedených nižšie.

## **Objednanie testu**

---

Súpravu na odber vzoriek vám poskytne vaša kontaktná osoba spoločnosti Agendia. Pomocou súpravy pridajte vzorku nádoru na podložné sklíčka podľa pokynov alebo pripravte blok FFPE. Objednávku vykonajte prostredníctvom nášho online portálu alebo vyplnením formulára žiadosti o test, ktorý nájdete v súprave na odber vzoriek, podrobnosti nájdete v návode na použitie tejto súpravy.

Ak potrebujete dodatočnú podporu alebo informácie, kontaktujte nás prosím na adrese [Customerservice@agendia.com](mailto:Customerservice@agendia.com) alebo +31 (0)20 462 1510.

## **Odkazy**

---

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

### **Dôležité upozornenie:**

Akýkoľvek vážny incident súvisiaci s BluePrint FFPE nahláste bezodkladne výrobcovi a príslušnému orgánu členského štátu. Výrobca nahlási závažný incident príslušnému orgánu členského štátu, v ktorom má používateľ/pacient sídlo.

### **Dodatky na zlepšenie klinického laboratória (CLIA)**

Osvedčenia o akreditácii: Agendia, Inc.: 05D1089250

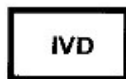
## **Podrobnosti ohľadom výroby**



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

Adresa laboratória diagnostických služieb spoločnosti Agendia Agendia, Inc.:  
22 Morgan,  
Irvine, CA 92618, USA  
Telefón: +1 888 321 2732  
Fax: +1 866 756 7548  
[www.agendia.com](http://www.agendia.com)

**Základný UDI-DI:** 0850024841BlueprintBB



© 2021 Agendia, NV. Všetky práva vyhradené. Agendia, logo Agendia a BluePrint sú registrované ochranné známky spoločnosti Agendia, NV.

M-ROW-388-V1

Dátum vydania: 3. november 2022

**Úpravy predchádzajúcej verzie**

Prvé vydanie – xx-xxx-2021