

Instrucțiuni de utilizare – Microarray FFPE MammaPrint

Introducere

Testul MammaPrint este un profil de expresie genică pentru predicția rezultatului clinic al pacientelor cu cancer mamar. Acesta a fost dezvoltat pe baza raționamentului conform căruia istoricul natural al unei tumori este determinat de căile genelor reglatoare care stau la baza acesteia; prin urmare, profilurile de expresie genică, în plus față de patologia clinică standard, pot face predicții mai precise pentru prognostic și răspunsul la tratament.

Folosind o abordare fără erori sistematice, semnătura genetică MammaPrint a fost determinată prin efectuarea unei analize la nivel de genom pe 25.000 de gene din eșantioane de tumori mamare primare netratate și prin compararea profilurilor de activitate genică ale pacientelor care nu au prezentat metastaze la distanță în termen de 5 ani cu cele care au prezentat metastaze. Aceasta a rezultat într-un profil de 70 de gene care ar putea distinge pacientele cu risc ridicat de a dezvolta metastaze de cele al căror risc de metastaze răspândite la distanță pe termen lung a fost suficient de scăzut încât terapia sistemică să ofere un beneficiu clinic absolut redus sau inexistent. ^(1,2)

Riscul de recidivă - Testul MammaPrint analizează expresia a 70 de gene specifice într-o probă de țesut prin rularea ARN-ului izolat din probe de tumori mamare pe lame microarray personalizate din sticlă. Profilul de expresie este apoi utilizat într-un algoritm brevetat pentru a clasifica pacienta ca având un Risc Ridicat sau Scăzut de recidivă a cancerului de sân.

Utilizare prevăzută

FFPE MammaPrint® este un test de diagnosticare in vitro calitativ, neautomatizat, efectuat în laboratorul de servicii de diagnostic Agendia, care utilizează profilul de expresie genică obținut din probe de țesut de cancer mamar fixate în formol și incluse în parafină (FFPE) pentru a evalua riscul unei paciente de metastaze la distanță în termen de 5 ani.

MammaPrint oferă informații prognostice cu privire la riscul pacientei de metastaze la distanță și la predicția magnitudinii beneficiului terapiei sistemice pentru a orienta deciziile de tratament la pacientele cu cancer mamar.

Genele MammaPrint măsoară caracteristicile dezvoltării în mai multe etape a celulelor cancerului de sân pentru a supraviețui, prolifera, disemina și metastaza, așa cum au fost descoperite în cadrul caracteristicilor cancerului⁽³⁾.

Testul se efectuează la pacientele cu cancer mamar în stadiul I sau II, cu ganglioni limfatici negativi sau cu ganglioni limfatici pozitivi cu până la 3 ganglioni pozitivi, cu o dimensiune a tumorii mai mică sau egală cu 5,0 cm și la pacientele în stadiul III. Rezultatul FFPE MammaPrint® este indicat pentru utilizare de către medici și trebuie interpretat împreună cu alți factori clinico-patologici.

Utilizator vizat

Microarray FFPE MammaPrint este prevăzut să fie solicitat de un furnizor de asistență medicală al pacientei cu cancer mamar. Prin comandarea testului microarray FFPE MammaPrint, furnizorul de asistență medicală solicită Agendia să efectueze testul pe probele sale în laboratorul de diagnosticare al Agendia.

Principiul testării

Analiza se bazează pe mai multe procese neautomatizate: izolarea ARN din secțiuni de țesut FFPE de cancer mamar; transcriptaza inversă a ARN care rezultă în ADNc; amplificarea și marcarea ADNc; hibridizarea ADNc amplificat și marcat pe microarray-ul de diagnosticare; spălarea și scanarea microarray-ului de diagnosticare și achiziția datelor (extragerea caracteristicilor); calcularea și determinarea riscului de recidivă (MammaPrint).

Analiza MammaPrint este concepută pentru a determina activitatea genetică a anumitor gene dintr-o probă de țesut. Rezultatul este un profil de expresie sau o „amprentă digitală” a probei. Folosind acest profil de expresie, se calculează indicele MammaPrint și se determină profilul molecular al probei (Risc Scăzut, Risc Ridicat).

Avertizări și precauții

Identificarea pacientului de pe formularul de cerere trebuie să corespundă corect cu identificarea probei în cadrul sistemului LIMS, care creează un identificator intern care ar trebui să se potrivească cu proba în procesul de laborator.

Completați formularul de solicitare a testului cu informațiile necesare.

Proba selectată pentru testarea MammaPrint trebuie să corespundă caracteristicilor populației destinate utilizării, cum ar fi, dar fără a se limita la, cancer mamar feminin, stadiu incipient și celule tumorale de cel puțin 30%.

Rezultatele MammaPrint sunt indicate pentru utilizarea de către medici ca profil molecular în plus față de factorii clinico-patologici standard. Testul nu este destinat să stabilească rezultatul bolii.

Un rezultat cu Risc Scăzut la testul MammaPrint nu garantează că nu va apărea o recidivă la distanță în termen de cinci ani. În mod similar, un rezultat cu Risc Ridicat nu garantează că va apărea o recidivă la distanță. Rezultatele testului trebuie utilizate împreună cu factorii clinici și patologici.

Procedură

a) Selecția pacientelor

Pacientele sunt eligibile dacă sunt de sex feminin și sunt diagnosticate cu cancer mamar în stadiul I, stadiul II sau stadiul III, cu ganglioni limfatici negativi și ganglioni limfatici pozitivi (până la 3 ganglioni pozitivi), cu o dimensiune a tumorii $\leq 5,0$ cm, independent de statusul receptorilor de estrogen (ER+/-).

b) Recoltarea, înregistrarea și expedierea probelor.

Condițiile de recoltare, manipulare și pregătire a probei sunt furnizate clientului prin IFU: MKT-067. Acest kit include următoarele:

- 10 lame pentru microscop
- 2 suporturi pentru cinci lame
- Pungi de plastic cu fermoar mici și mari
- Instrucțiuni de prelevare a probelor
- Formular de solicitare a testului
- Coală cu etichete cu coduri de bare
- Materiale de transport

Înregistrarea probelor este inițiată prin notificarea din partea furnizorului de asistență medicală care efectuează comanda. Această notificare (Formular de solicitare a testului - TRF) poate avea loc prin intermediul portalului online pentru clienți sau al altui canal de comunicare, unde Agendia înregistrează toate informațiile referitoare la probă și la pacient. TRF este destinat unui singur pacient. Proba este expediată direct la laboratorul de servicii de diagnostic Agendia de către furnizorul de asistență medicală care face comanda, la temperatura ambiantă, utilizând materialele de transport prin curier furnizate.

c) Analiza probelor la Agendia

Se utilizează secțiuni de țesut FFPE, fie furnizate de clienți pe lamele de sticlă, fie pregătite din blocuri tumorale FFPE cu ajutorul unui microtom standard. ARN-ul total este extras din secțiunile de țesut cu ajutorul unui kit standard de izolare disponibil pe piață. Proba de ARN este purificată, amplificată și marcată cu un colorant fluorescent cianină-CTP/ dUTP.

Proba de ARN/ADN este hibridizată pe un microarray de diagnosticare special conceput (8pack, Agilent Technologies). Se utilizează un scanner pentru microarray Agilent pentru scanarea microarray-ului de diagnosticare, iar rezultatul este un fișier de scanare (TIFF). Acest fișier este utilizat de software-ul Agilent Feature Extraction. Software-ul Feature Extraction analizează fișierul de scanare (TIFF) prin determinarea intensităților fluorescente relative ale caracteristicilor individuale în raport cu fișierul de proiectare a cipului microarray de diagnosticare ca șablon, pentru a identifica caracteristicile de control, caracteristicile de normalizare și caracteristicile genelor reporter. Intensitățile fluorescente ale caracteristicilor sunt o măsură pentru expresia anumitor gene.

d) Analiza datelor

Analiza datelor se efectuează în conformitate cu algoritmul MammaPrint, care calculează indicii MammaPrint și determină profilul molecular al probei (Risc Scăzut, Risc Ridicat). Probele cu o valoare a indicelui MammaPrint mai mare de 0 sunt clasificate ca Risc Scăzut, iar probele cu o valoare mai mică sau egală cu 0 sunt clasificate ca Risc Ridicat.

Indicele MammaPrint al unei probe se poate încadra într-o zonă predefinită în jurul pragului de clasificare între un MPI > -0,05 și <0,05, în care rezultatul MammaPrint are o precizie de clasificare <90%, dar nu mai mică de 50% (de exemplu, probă la limită).

Sunt implementate controale de calitate extinse (>25) pentru a asigura un rezultat analitic corect. QC, împreună cu rezultatul, sunt revizuite și aprobate intern de către directorul laboratorului.

e) Raportare

Furnizorul de asistență medicală care efectuează comanda primește un Raport privind pacientul, precum și un rezumat al rezultatelor pentru fiecare test microarray FFPE MammaPrint comandat. În ceea ce privește datele personale ale pacienților, vă rugăm să consultați condițiile noastre de prelucrare a datelor din Politica de confidențialitate a Agendia.

Limitări ale procedurii

MammaPrint a fost validat pentru utilizare numai cu țesut tumoral de cancer mamar feminin. Testarea altor tipuri de probe poate duce la rezultate incorecte sau la absența rezultatelor. Rezultatele fiabile depind de procedurile adecvate de colectare și transport al probei.

MammaPrint a fost validat în mod specific pentru tumorile care sunt carcinom ductal invaziv sau carcinom lobular. Testarea altor tipuri de probe (de exemplu, ganglionii limfatici) nu a fost evaluată.

Valori așteptate

Rezultatul MammaPrint este furnizat ca rezultat binar și este clasificat ca „Risc Scăzut” sau „Risc Ridicat” de recidivă. Profilul molecular al unei probe este determinat prin calcularea indicelui MammaPrint (MPI) pe o scară de la -1,000 la +1,000.

Ca orice alt test, și testul nostru are un prag de clasificare stabilit. Pentru MammaPrint, pragul pentru Risc Scăzut și Ridicat a fost stabilit la zero pentru a atinge cea mai mare sensibilitate posibilă, iar valorile >0,000 sunt clasificate ca risc scăzut, iar valorile $\leq 0,000$ sunt clasificate ca Risc Ridicat. Precizia medie generală a MPI este de 98,5%, cu scoruri < 0,1685 sau > 0,168 având o precizie de >99%.

Valori MPI „la limită”

Deși precizia tehnică a MammaPrint este extrem de ridicată, probele cu o valoare MPI foarte apropiată de pragul zero au un procent de precizie ușor mai scăzut decât probele mai îndepărtate de prag. Mai exact, în jurul pragului zero, între un MPI de > -0,05 și <0,05, denumită și regiune limită, precizia testului scade sub 90%. De exemplu, la un MPI de 0,04, există o certitudine de 86% că rezultatul MP se află în intervalul pozitiv (Risc Scăzut) și o posibilitate de 14% ca acesta să fie în intervalul negativ (Risc Ridicat). Este important de remarcat faptul că probele cu valori MPI în afara regiunii „limită” au o precizie medie >99%.

Caracteristici de performanță

Caracteristicile de performanță investigate pentru MammaPrint cuprind: precizia și reproductibilitatea, intervalul raportabil și pragul de clasificare, specificitatea analitică și limita de detecție.

Performanță analitică

Concordanța rezultatelor obținute din țesuturile proaspete și FFPE a fost evaluată în două studii, unde s-a constatat că aceasta a fost de 91,5% (n=221) și 94,3% (n=345), fără nicio distorsiune în rezultatele MammaPrint între ambele tipuri de țesuturi. MammaPrint este, de asemenea, stabil între diferite izolări, unde nu s-au observat diferențe semnificative ($p=0,994/p=0,290$), diferite locații, diferite scanere, și prezintă o precizie ridicată (97,3%), reproductibilitate (96%) și repetabilitate (97,8%)⁽⁴⁾.

În plus, pentru matricea FG, nu s-a constatat nicio diferență între rezultatele izolărilor repetate de ARN, precizia (98,47%) reproductibilității (97,73%) și repetabilitatea (98,74%) și acordul dintre rezultatele 8pack și matricea FG a două seturi de date separate a fost de 98,52% (n = 135) și 94,27% (n = 698).

Intervalul raportabil al indicelui MammaPrint este stabilit să acopere valori cuprinse între -1,00 și + 1,00, iar pragul de clasificare al indicelui MammaPrint (MPI) este stabilit la +0,0. MPI mai mic sau egal cu 0,0 este determinat ca Risc Ridicat, MPI mai mare de 0,0 este considerat ca Risc Scăzut ^(1, 2, 4).

Un studiu de interferență a fost efectuat pe matricea genomului complet (matrice FG) pentru a evalua dacă patru substanțe relevante interferează cu rezultatele FFPE MammaPrint. Rezultatele au arătat o contaminare a ADN-ului de până la 2,5 ori mai mare decât nivelurile de fond și vârfurile de proteine în timpul izolării ARN-ului, precum și transferul de etanol și AMPure XP în timpul purificării ADN-ului nu au afectat rezultatele MammaPrint. În

general, componentele tisulare care interferează nu influențează indicele MammaPrint, deoarece seria tumorală originală a fost reprezentativă pentru probele de cancer mamar și, de asemenea, celelalte componente tisulare au fost distribuite aleatoriu și nu au fost legate de un rezultat al bolii ⁽¹⁾.

Pentru a evalua limita de detecție, rezultatele FFPE MammaPrint au fost comparate pe diferite diluții și au arătat rezultate foarte stabile chiar și la intrări foarte mici de ADNc pe matrice. Pe baza rezultatelor, limita de detecție pentru intrarea ADNc este de 900 ng. În plus, LoD pentru intrarea ARN derivată dintr-un studiu separat s-a dovedit a fi de 8,24 ng.

Validarea clinică

Rezultatele se bazează pe datele publicate anterior pentru profilul molecular cu 70 de gene ⁽¹⁾ în cazul tumorilor mamare. Pacientele cu rezultate bune sunt clasificate ca având Risc Scăzut (adică fără metastaze la distanță în decurs de cel puțin 5 ani). Pacientele cu rezultate mai slabe sunt clasificate ca având Risc Ridicat (adică probabilitate mai mare de metastaze la distanță în termen de 5 ani). Este furnizată valoarea numerică a indicelui MammaPrint.

MammaPrint a fost dezvoltat utilizând paciente care nu au primit tratament adjuvant, cu ganglioni limfatici negativi, în principal din Europa, pentru a surprinde biologia tumorii primare într-un profil de expresie genică. ^(1,2) În ianuarie 2013, au fost publicate rezultatele la 5 ani ale studiului prospectiv, observațional RASTER ⁽⁴⁾. Acest studiu de impact a fost un studiu centrat pe biomarker, „primul de acest tip”, în care testul MammaPrint Fresh a fost efectuat și raportat la 427 de paciente cu cancer de sân în stadiu incipient, cu vârsta cuprinsă între 18 și 61 de ani, pT1 și pT2, ganglioni limfatici negativi, ER+/-, HER 2 +/- înainte de decizia medic-pacient pentru terapia adjuvantă. Pacientele au fost tratate în conformitate cu orientările standard de practică, luând în considerare toți factorii clinici și patologici relevanți și rezultatele semnăturii MammaPrint.

Ulterior, MammaPrint a fost efectuat și pe țesut FFPE de la pacienții RASTER. Rezultatele MammaPrint au fost comparate folosind 345 de probe RASTER proaspete și FFPE potrivite cu date privind rezultatele la 5 ani. Fără a lua în considerare alte covariate în afară de rezultatul testului MammaPrint al pacientului, pacienții clasificați drept „Risc Scăzut” prin FFPE MammaPrint (71 tratați adjuvant și 108 netratați adjuvant), au demonstrat o probabilitate de 1,3% (ÎI 95% 0 - 3,1) de recidivă a cancerului în termen de 5 ani ⁽⁶⁾.

Pacienții clasificați ca având „Risc Ridicat” prin FFPE MammaPrint (145 tratați adjuvant și 21 netratați adjuvant), au demonstrat o probabilitate de 11,7% (ÎI 95% 6,6 - 16,8) de recidivă a cancerului în termen de 5 ani ⁽⁶⁾.

MammaPrint a fost validat în mod independent în studii efectuate la peste 75.000 de paciente cu cancer mamar, rezultatele fiind publicate în reviste medicale și științifice de renume la nivel internațional și s-a demonstrat că furnizează informații independente de evaluarea riscului clinic și patologic ^(6,7).

Comandarea testului

Persoana de contact Agendia vă va furniza un kit de prelevare a probelor. Cu ajutorul kitului, adăugați proba de tumoră pe lame în conformitate cu instrucțiunile sau pregătiți un bloc FFPE. Plasați comanda prin intermediul portalului nostru online sau completând formularul de solicitare a testului pe care îl găsiți în kitul de prelevare a probelor. Detalii pot fi găsite în IFU al acestui kit.

Dacă aveți nevoie de asistență sau informații suplimentare, vă rugăm să ne contactați la Customerservice@agendia.com sau +31 (0)20 462 1510.

Referințe

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. Haan et. Al. Genes Chromosomes Cancer 2021; (61):148-160
4. Sapino et al. J Mol Diagnostics 2014; 16: 190-197
5. Drukker et al. Int J Cancer 2013; 133(4): 929-936
6. Beumer et al. Breast Cancer Res Treat 2016; DOI 10.1007/s10549-016-3764-5
7. Piccart et al. Lancet Oncol. 2021;22(4):476-488

Notă informativă:

Raportați producătorului și autorității competente din statul membru orice incident grav legat de FFPE MammaPrint. Producătorul va raporta incidentele grave autorității competente din statul membru în care este stabilit utilizatorul/pacientul.

Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA)

Certificate de acreditare: Agendia, Inc.:
05D1089250

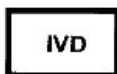
Detalii privind fabricarea



Agendia NV
Radarweg 60
1043 NT Amsterdam, Olanda
Nr. telefon: +31 (0)20 462 1510
e-mail: customerservice@agendia.com

Adresa laboratorului de servicii de diagnosticare Agendia
Agendia, Inc.:
22 Morgan,
Irvine, CA 92618, USA
Phone: +1 888 321 2732
Fax: +1 866 756 7548
www.agendia.com

UDI-DI de bază: 0850024841MammaprintK9



© 2021 Agendia, NV. Toate drepturile rezervate. Agendia, logo-ul Agendia și MammaPrint sunt mărci înregistrate ale Agendia, NV.

MKT-517-V2

Data lansării: februarie 2025

Modificări față de versiunea anterioară

Versiunea 2 - Extinderea utilizării prevăzute, actualizarea performanței analitice, secțiunea de referință, avertismente și precauții

Versiune inițială – 03 noiembrie 2022