

Návod na použitie – Mikročip MammaPrint FFPE

Úvod

Test MammaPrint je profil génovej expresie určený na predpovedanie klinického výsledku u pacientok s rakovinou prsníka. Bol vyvinutý s odôvodnením, že prirodzená história nádoru je určená jeho základnými regulačnými génovými dráhami; preto profily génovej expresie môžu okrem štandardnej klinickej patológie presnejšie predpovedať prognózu a odpoveď na liečbu.

Použitím nezaujatého prístupu bol génový podpis MammaPrint určený vykonaním analýzy 25 000 génov v neliečených vzorkách primárneho nádoru prsníka v celom genóme a porovnaním profilov génovej aktivity pacientov, ktorí do 5 rokov nemali vzdialené metastázy, s tými, ktorí ich naopak mali. Výsledkom bol profil 70 génov, ktorý dokázal odlíšiť pacientov s vysokým rizikom vzniku metastáz od pacientov, u ktorých bolo dlhodobé riziko vzniku vzdialených metastáz dostatočne nízke na to, aby systémová liečba priniesla len malý alebo žiadny absolútny klinický prínos. ^(1,2)

Riziko recidívy - Test MammaPrint analyzuje expresiu 70 špecifických génov vo vzorke tkaniva spustením RNA izolovanej zo vzoriek nádoru prsníka na vlastných sklenených mikročipoch. Profil expresie sa potom použije vo vlastnom algoritme na kategorickú klasifikáciu pacienta ako s vysokým alebo nízkym rizikom recidívy rakoviny prsníka.

Zamýšľané použitie

MammaPrint® 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 posúdenie rizika pacientky pre vzdialené metastázy v rámci 5 rokov.

MammaPrint poskytuje prognostické informácie týkajúce sa rizika vzniku vzdialených metastáz u pacientky a predpovede veľkosti prínosu systémovej liečby, ktoré slúžia ako pomôcka pri rozhodovaní o liečbe pacientok s rakovinou prsníka.

Gény MammaPrint merajú charakteristiky viacstupňového vývoja buniek rakoviny prsníka, ktoré prežívajú, množia sa, šíria sa a metastázuju, ako sa zistilo v rámci charakteristických znakov rakoviny⁽³⁾.

Test sa vykonáva u pacientok s rakovinou prsníka v štádiu I alebo II, ktoré majú negatívne lymfatické uzliny alebo pozitívne lymfatické uzliny s maximálne 3 pozitívnymi uzlinami, s veľkosťou nádoru menšou alebo rovnou 5,0 cm, a u pacientok s ochorením v štádiu III. Výsledok MammaPrint® FFPE je indikovaný na použitie lekármi a má sa interpretovať spolu s ďalšími klinicko-patologickými faktormi.

Pre koho je test určený

Mikročip MammaPrint FFPE je určený na vyžiadanie poskytovateľom zdravotnej starostlivosti pacientky s rakovinou prsníka. Objednaním mikročipového testu MammaPrint FFPE poskytovateľ zdravotnej starostlivosti požiada spoločnosť Agendia o vykonanie testu na ich 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 rizika recidívy (MammaPrint).

Analýza MammaPrint je navrhnutá na určenie génovej aktivity špecifických génov vo vzorke tkaniva. Výsledkom je profil expresie alebo „odtlačok prsta“ vzorky. Pomocou tohto profilu expresie sa vypočíta index MammaPrint a určí sa molekulárny profil vzorky (nízke riziko, vysoké riziko).

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 MammaPrint by mala zodpovedať charakteristikám určenej populácie, ako je napríklad - nie však výlučne - rakovina prsníka u žien, skoré štádium a nádorové bunky aspoň z 30 %.

Výsledky MammaPrint sú okrem štandardných klinicko-patologických faktorov indikované na použitie lekármi ako molekulárny profil. Test nie je navrhnutý na stanovenie výsledku ochorenia.

Výsledok testu MammaPrint s nízkym rizikom nezaručuje, že do piatich rokov nedôjde ku vzdialenej recidíve. Podobne ani výsledok s vysokým rizikom nezaručuje, že dôjde ku vzdialenej recidíve. Výsledky testov by sa mali používať v spojení s klinicko-patologickými faktormi.

Postup

a) Výber pacientok

Pacientky sú vhodné, ak ide o ženy a majú diagnostikovaný karcinóm prsníka v štádiu I, v štádiu II alebo v štádiu III s negatívnymi lymfatickými uzlinami a pozitívnymi lymfatickými uzlinami (až 3 pozitívne uzliny), s veľkosťou nádoru ≤ 5,0 cm, nezávisle od stavu estrogénového receptora (ER+/-).

b) Odber, registrácia a odosielanie vzoriek.

Podmienky odberu, manipulácie a prípravy vzorky sú zákazníkovi poskytnuté prostredníctvom návodu na použitie: MKT-067. 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- TRF) môže byť spustené prostredníctvom online zákaznickeho portálu alebo iného komunikačného kanála, kde Agendia registruje všetky súvisiace informácie o vzorke a pacientovi. TRF je určený výhradne pre jedného pacienta. 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

Používajú sa tkanivové rezy FFPE, ktoré buď poskytnú zákazníci na sklenených podložných sklíčkach, alebo sa pripravili z nádorových blokov FFPE 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 fluorescence jednotlivých prvkov oproti súboru návrhu diagnostického mikročipu ako šablóny s cieľom identifikovať kontrolné prvky, normalizačné prvky a prvky reportérového génu. Intenzita fluorescence prvkov je mierou pre expresiu konkrétnych génov.

d) Analýza údajov

Analýza údajov sa vykonáva na základe stanoveného algoritmu MammaPrint, ktorý vypočítava index MammaPrint a určuje molekulárny profil vzorky (nízke riziko, vysoké riziko). Vzorky s hodnotou indexu MammaPrint vyššou ako 0 sú klasifikované ako nízke riziko a vzorky s hodnotou menšou alebo rovnou 0 sú klasifikované ako vysoké riziko.

Index MammaPrint vzorky sa môže nachádzať vo vopred definovanej oblasti okolo klasifikačnej hranice medzi MPI $> -0,05$ a $<0,05$, v ktorej má výsledok MammaPrint $<90\%$ presnosť klasifikácie, ale nie nižšiu ako 50% (t. j. hraničná vzorka).

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

e) Hlásenie

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

Obmedzenia postupu

MammaPrint bol schválený na použitie výhradne 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.

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

Očakávané hodnoty

Výsledok MammaPrint sa zobrazí ako binárny výsledok a je kategorizovaný buď ako „nízke riziko“ alebo „vysoké riziko“ recidívy. Molekulárny profil vzorky sa určuje výpočtom indexu MammaPrint (MPI) na stupnici od -1,000 do +1,000.

Ako každý iný test, aj náš test má stanovený prah klasifikácie. Pre MammaPrint bol prah pre nízke a vysoké riziko nastavený na nulu, aby sa dosiahla čo najväčšia citlivosť, pričom hodnoty $> 0,000$ sú klasifikované ako nízke riziko a hodnoty $\leq 0,000$ sú klasifikované ako vysoké riziko. Celková priemerná presnosť MPI je 98,5 %, pričom skóre $< 0,1685$ alebo $> 0,168$ má presnosť > 99 %.

„Hraničné“ hodnoty MPI

Zatiaľ čo technická presnosť MammaPrint je extrémne vysoká, vzorky s hodnotou MPI veľmi blízko nulovému prahu majú o niečo nižšie percento presnosti ako vzorky nachádzajúce sa na stupnici ďalej od prahu. Konkrétne v okolí nulového prahu, medzi MPI $> -0,05$ a $< 0,05$, označovaného aj ako hraničná oblasť, klesá presnosť testu pod 90 %. Napríklad pri MPI 0,04 je istota 86 %, že výsledok MP je v pozitívnom rozsahu (nízke riziko), a pravdepodobnosť 14 %, že je v negatívnom rozsahu (vysoké riziko). Je dôležité poznamenať, že vzorky s hodnotami MPI mimo „hraničnej“ oblasti majú priemernú presnosť > 99 %.

Výkonnostná charakteristika

Výkonnostné charakteristiky skúmané pre MammaPrint zahŕňajú: precíznosť a reprodukovateľnosť, hlásiteľný rozsah a klasifikačnú prahovú hodnotu, analytickú špecifickosť a hranicu detekcie.

Analytický výkon

Zhoda výsledkov z čerstvých tkanív a tkanív FFPE sa hodnotila v dvoch štúdiách, v ktorých sa zistilo, že je 91,5 % ($n = 221$) a 94,3 % ($n = 345$), pričom medzi oboma typmi tkanív nedochádza k skresleniu výsledkov MammaPrint. Test MammaPrint je stabilný aj medzi rôznymi izoláciami, kde sa nezistil žiadny významný rozdiel ($p = 0,994/p = 0,290$), medzi rôznymi lokalitami, rôznymi skenermi a vykazuje vysokú precíznosť (97,3 %), reprodukovateľnosť (96 %) a opakovateľnosť (97,8 %) ⁽⁴⁾.

Okrem toho sa v prípade FG-array nezistil žiadny rozdiel medzi výsledkami opakovaných izolácií RNA, rozdiel v precízności (98,47 %), reprodukovateľnosti (97,73 %) a opakovateľnosti (98,74 %) a zistila sa zhoda medzi výsledkami 8pack a FG-array dvoch samostatných súborov údajov 98,52 % ($n = 135$) a 94,27 % ($n = 698$).

Hlásiteľný rozsah indexu MammaPrint je nastavený tak, aby pokrýval hodnoty od -1,00 do +1,00, a klasifikačná prahová hodnota indexu MammaPrint (MPI) je nastavená na +0,0. MPI nižší a rovný 0,0 označuje vysoké riziko, MPI vyšší ako 0,0 sa považuje za nízke riziko ^(1, 2, 4).

Na súbore celého genómu (FG-array) sa vykonala štúdia interferencie s cieľom posúdiť, či štyri relevantné látky interferujú s výsledkami MammaPrint FFPE. Výsledky ukázali, že kontaminácia DNA až do 2,5-násobku úrovně pozadia a prídanie proteínov počas izolácie RNA, ako aj prenos etanolu a AMPure XP Beads počas purifikácie cDNA, neovplyvnili výsledky MammaPrint. Celkovo interferujúce zložky tkaniva neovplyvňujú index MammaPrint, keďže pôvodná séria nádorov bola reprezentatívna pre vzorky rakoviny prsníka a aj tu boli ostatné zložky tkaniva náhodne rozložené a nesúviseli s výsledkom ochorenia ⁽¹⁾.

Na posúdenie hranice detekcie sa výsledky MammaPrint FFPE porovnali v rôznych riedeniach a ukázali sa veľmi stabilné výsledky aj pri veľmi nízkych pridaných množstvách cDNA na čip (array). Na základe výsledkov je hranica detekcie pre pridanú cDNA 900 ng. Okrem toho sa zistilo, že LoD pre pridané množstvo RNA získaný zo samostatnej štúdie je 8,24 ng.

Klinická validácia

Výsledky sú založené na predtým publikovaných údajoch pre molekulárny profil 70 génov⁽¹⁾ pri nádoroch prsníka. Pacienti s dobrým výsledkom sú klasifikovaní ako pacienti s nízkym rizikom (t. j. bez vzdialených metastáz v rámci najmenej 5 rokov). Pacienti s horším výsledkom sú klasifikovaní ako pacienti s vysokým rizikom (t. j. vyššia pravdepodobnosť vzdialených metastáz v rámci 5 rokov). Poskytuje sa číselná hodnota indexu MammaPrint.

MammaPrint bol vyvinutý s účasťou adjuvantne neliečených, prevažne európskych pacientov s negatívnymi lymfatickými uzlinami s cieľom zachytiť biológiu primárneho nádoru v profile génovej expresie.^(1,2) V januári 2013 boli publikované 5-ročné výsledky prospektívnej pozorovacej štúdie RASTER⁽⁴⁾. Táto štúdia vplyvu bola štúdiou zameranou na biomarkery a bola „prvou svojho druhu“. V rámci nej sa test MammaPrint Fresh vykonal a zaznamenal na 427 pacientkach s včasným štádiom rakoviny prsníka vo veku 18 – 61 rokov, pT1 a pT2, s negatívnymi lymfatickými uzlinami, ER+/-, HER 2 +/- pred rozhodnutím lekára a pacienta o adjuvantnej liečbe. Pacienti boli liečení podľa štandardných praktických usmernení, berúc do úvahy všetky relevantné klinicko-patologické faktory a výsledky podpisu MammaPrint.

Následne sa MammaPrint vykonal aj na tkanive FFPE od pacientov zo štúdie RASTER. Výsledky MammaPrint boli porovnané pomocou 345 párových čerstvých a FFPE vzoriek RASTER s 5-ročnými výsledkami. Bez zohľadnenia akýchkoľvek kovariát okrem výsledku testu MammaPrint u pacientov, ktorí boli klasifikovaní ako „nízkorizikovní“ podľa MammaPrint FFPE (71 adjuvantne liečených a 108 neadjuvantne liečených), sa preukázala pravdepodobnosť 1,3 % (95 % CI 0 – 3,1) recidívy rakoviny v rámci 5 rokov⁽⁶⁾.

U pacientov klasifikovaných ako „vysokorizikovní“ podľa MammaPrint FFPE (145 adjuvantne liečených a 21 neadjuvantne liečených) sa preukázala 11,7 % pravdepodobnosť (95 % CI 6,6 – 16,8) recidívy rakoviny v priebehu 5 rokov⁽⁶⁾.

MammaPrint bol nezávisle overený v štúdiách u viac ako 75 000 pacientok s rakovinou prsníka s výsledkami publikovanými v popredných odborných lekárskejších a vedeckých časopisoch na medzinárodnej úrovni, pričom sa preukázalo, že poskytujú informácie nezávislé od hodnotenia klinicko-patologického rizika^(6,7).

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 určenej na odber vzoriek. Podrobnosti nájdete v návode na použitie tejto súpravy.

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

Odkazy

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

Dôležité upozornenie:

Akýkoľvek vážny incident súvisiaci s BluePrint FFPE bezodkladne nahláste 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

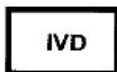
Podrobnosti ohľadom výroby



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

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

Základný UDI-DI: 0850024841MammaprintK9



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

MKT-517-V2

Dátum vydania: Február 2025

Úpravy predchádzajúcej verzie

Verzia 2 – rozšírenie zamýšľaného použitia, aktualizácia analytického výkonu, časti s referenciami, upozornení a bezpečnostných opatrení

Prvé vydanie – 3. november 2022