

Navodila za uporabo – mikromrežni test MammaPrint FFPE

Uvod

Test MammaPrint je profil izražanja genov za napoved kliničnega izida pri bolnicah z rakom dojk. Razvit je bil na podlagi dognanja, da je naravni potek tumorja odvisen od poti vzročnega regulacijskega gena, zaradi česar lahko profili izražanja genov skupaj s standardno klinično patologijo natančneje napovejo prognozo in odziv na zdravljenje.

Z nepristranskim pristopom so genski podpis testa MammaPrint določili z analizo celotnega genoma, tj. 25.000 genov, v neobdelanih vzorcih primarnega tumorja dojk in primerjavo profilov genske aktivnosti pri bolnicah, pri katerih se v obdobju 5 let niso pojavile oddaljene metastaze, s profili bolnic, pri katerih so se. Tako so dobili profil 70 genov, ki lahko razlikuje med bolnicami, pri katerih obstaja veliko tveganje za pojav metastaz, in tistimi, pri katerih je dolgoročno tveganje za oddaljene metastaze tako majhno, da bi bile absolutne klinične koristi sistemskega zdravljenja majhne ali pa jih sploh ne bi bilo. ^(1,2)

Tveganje za ponovitev bolezni – s testom MammaPrint analiziramo izražanje 70 specifičnih genov v vzorcu tkiva z analizo RNA, izolirane iz vzorcev tumorja dojk, na posebnih steklenih mikromrežnih ploščicah. Profil izražanja se nato uporabi v lastniškem algoritmu, ki bolnico razvrsti med bolnice z velikim ali majhnim tveganjem za ponoven pojav raka.

Predvidena uporaba

MammaPrint® FFPE je kvalitativen, neavtomatiziran diagnostični test in vitro, ki ga izvajamo v diagnostičnem laboratoriju podjetja Agendia z uporabo profila izražanja genov, pridobljenega iz vzorcev rakavega tkiva dojk, fiksiranih v formalinu in vklopljenih v parafin (FFPE), za oceno tveganja, da se pri bolnici v obdobju 5 let pojavijo oddaljene metastaze.

MammaPrint nudi prognostične informacije glede bolničinega tveganja za poznejše metastaze in predvideva obseg koristi sistemskega zdravljenja za vodenje odločitev o zdravljenju pri bolnicah z rakom dojke.

Geni MammaPrint merijo značilnosti večstopenjskega razvoja celic raka dojke za preživetje, razmnoževanje, razširjanje in metastaziranje, kot so odkrili v znakih raka. ⁽³⁾

Test se izvede pri bolnicah z rakom dojke v I. ali II. stadiju bolezni, ki so negativne na bezgavke ali pozitivne na bezgavke z do 3 pozitivnimi vozli, z velikostjo tumorja manj kot ali enako 5,0 cm, in za bolnice z boleznijo v III. stadiju. Rezultat testa MammaPrint® je indiciran za uporabo s strani zdravnikov in ga je treba razlagati skupaj z drugimi klinično-patološkimi dejavniki.

Predvideni uporabnik

Testiranje z mikromrežnim testom MammaPrint FFPE lahko naroči zdravnik bolnice z rakom dojk. Z naročilom testiranja z mikromrežnim testom MammaPrint FFPE zdravnik zaprosi podjetje Agendia, da v svojem diagnostičnem laboratoriju testira posredovani vzorec.

Princip delovanja testa

Analiza temelji na več neavtomatiziranih postopkih, ki so naslednji: izolacija RNA iz rezin rakavega tkiva dojk FFPE, reverzna transkripcija RNA, pri kateri nastane cDNA, amplifikacija in označevanje cDNA, hibridizacija amplificirane in označene cDNA na diagnostično mikromrežo, izpiranje in branje diagnostične mikromreže ter zajem podatkov (ekstrakcija lastnosti), izračun in določitev tveganja za ponovitev bolezni (MammaPrint).

Analiza MammaPrint je namenjena ugotavljanju genske aktivnosti specifičnih genov v vzorcu tkiva. Rezultat je profil izražanja oziroma »prstni odtis« vzorca. Z uporabo tega profila izražanja se izračuna indeks MammaPrint in določi molekularni profil vzorca (majhno tveganje, veliko tveganje).

Opozorila in previdnostni ukrepi

Identifikacijski podatki bolnice na obrazcu za naročilo se morajo natančno ujemati z identifikacijskimi podatki vzorca v sistemu LIMS, ki ustvari interni identifikator, ki se mora natančno ujemati z vzorcem, ki se obdeluje v laboratoriju.

Obrazec za naročilo testiranja izpolnite s pravilnimi podatki.

Vzorec, izbran za testiranje s testom MammaPrint, se mora ujemati z značilnostmi populacije, za katero je predviden, kar med drugim vključuje raka dojk pri ženskah, zgodnji stadij in najmanj 30 % tumorskih celic.

Rezultati testa MammaPrint so indicirani za uporabo s strani zdravnikov kot molekularni profil poleg standardnih kliničnopatoloških dejavnikov. Test ni namenjen ugotavljanju izida bolezni.

Rezultat MammaPrint Low Risk ne zagotavlja, da v petih letih ne bo prišlo do oddaljene ponovitve bolezni. Podobno tudi rezultat visokega tveganja ne zagotavlja, da bo zagotovo prišlo do oddaljene ponovitve. Rezultate testa je treba uporabiti v povezavi s kliničnopatološkimi dejavniki.

Postopek

a) Izbira bolnikov

Primerne so bolnice, ki so jim diagnosticirali raka dojk v 1., 2. ali 3. stadiju z negativnimi bezgavkami ali pozitivnimi bezgavkami (največ 3 pozitivnimi) in velikostjo tumorja $\leq 5,0$ cm, ne glede na izraženost estrogenskega receptorja (ER+/-).

b) Odvzem, registracija in pošiljanje vzorca

Informacije o pogojih za odvzem vzorca, ravnanje z njim in njegovo pripravo so stranki na voljo v navodilih za uporabo: MKT-067. Ta komplet vsebuje naslednje:

- 10 mikroskopskih stekelc,
- 2 nosilca za pet stekelc,
- majhno in veliko plastično vrečko na zadrgo,
- navodila za odvzem vzorca,
- obrazec za naročilo testiranja,
- list z nalepkami s črtno kodo,
- embalažo za pošiljanje.

Registracija vzorca se izvede po prejemu naročila zdravnika, ki je naročil testiranje. Naročilo (obrazec za naročilo testiranja (TRF – Test Request Form)) lahko odda prek spletnega portala za stranke ali po drugih komunikacijskih kanalih, prek katerih podjetje Agendia registrira vse povezane podatke o vzorcih in bolnicah. Obrazec TRF se lahko uporabi le za eno bolnico. Zdravnik, ki je naročil testiranje, mora vzorec poslati neposredno v diagnostični laboratorij podjetja Agendia, in sicer pri temperaturi okolja in z uporabo priložene embalaže za pošiljanje po pošti.

c) Analiza vzorca v podjetju Agendia

Uporabljeni so odseki tkiva FFPE, ki jih zagotovijo stranke na stekelcih ali so pripravljene iz tumorskih blokov FFPE s standardnim mikrotomom. Iz tkivnih rezin z uporabo standardnega kompleta za izolacijo, ki je na voljo na trgu, ekstrahiramo celotno RNA. Vzorec RNA očistimo, amplificiramo in označimo s fluorescentnim barvilom cianin-CTP/dUTP.

Vzorec RNA/cDNA hibridiziramo na posebno diagnostično mikromrežo (8 kosov, Agilent Technologies). S čitalnikom za mikromreže podjetja Agilent preberemo diagnostično mikromrežo in rezultate dobimo v datoteki z rezultati branja (TIFF). To datoteko uporabimo v programski opremi podjetja Agilent za ekstrakcijo lastnosti. Programska oprema za ekstrakcijo lastnosti analizira datoteko z rezultati branja (TIFF), pri čemer ugotavlja relativne intenzivnosti fluorescence posameznih lastnosti glede na datoteko z zasnovo diagnostične mikromreže, ki jo uporabi kot predlogo, da opredeli kontrolne lastnosti, lastnosti normaliziranja in lastnosti označevalnega gena. Intenzivnosti fluorescence lastnosti so merilo za izražanje določenih genov.

d) Analiza podatkov

Podatki se analizirajo v skladu z algoritmom MammaPrint, ki izračuna indeks MammaPrint in določi molekularni profil vzorca (majhno tveganje, veliko tveganje). Vzorci z vrednostjo indeksa MammaPrint več kot 0 so opredeljeni kot vzorci z majhnim tveganjem, vzorci z vrednostjo 0 ali manj pa so opredeljeni kot vzorci z velikim tveganjem.

Vrednost indeksa vzorca MammaPrint je lahko znotraj vnaprej določenega območja blizu mejnih vrednosti za razvrščanje od $> -0,05$ do $< 0,05$, v katerem točnost razvrščanja na podlagi rezultata testa MammaPrint znaša $< 90\%$, vendar ne manj kot 50% (tj. mejni vzorec).

Za zagotovitev pravih analitičnih rezultatov se uporabljajo številne kontrole kakovosti (> 25). Preverjanja kakovosti skupaj z rezultati interno pregleda in odobri vodja laboratorija.

e) Poročanje

Zdravnik, ki je naročil testiranje, prejme izvid bolnice ter povzetek rezultatov za vsak naročeni mikromrežni test MammaPrint FFPE. Glede osebnih podatkov bolnic si preberite naše pogoje obdelave podatkov v pravilniku o zasebnosti podjetja Agendia.

Omejitve postopka

Test MammaPrint so potrdili le za uporabo z rakavim tkivom dojk žensk. Pri testiranju drugih vrst vzorcev lahko dobimo napačne rezultate ali pa rezultatov sploh ne dobimo. Zanesljivi rezultati so odvisni od odvzema zadostne količine vzorca in načina pošiljanja.

Test MammaPrint so posebej potrdili za tumorje, ki so invazivni duktalni karcinomi ali lobularni karcinomi. Testiranja drugih vrst vzorcev (npr. bezgavk) niso ocenjevali.

Pričakovane vrednosti

Rezultat testiranja s testom MammaPrint je v binarni obliki in je opredeljen kot »majhno tveganje« ali »veliko tveganje« za ponovitev bolezni. Molekularni profil vzorca se določi z izračunom indeksa MammaPrint (MPI – MammaPrint Index) v razponu od –1,000 do +1,000.

Tako kot vsi drugi testi ima tudi ta test določeno mejno vrednost za razvrščanje. Pri testu MammaPrint je mejna vrednost za majhno in veliko tveganje nastavljena na 0, da bi tako zagotovili največjo možno občutljivost; pri tem so vrednosti $> 0,000$ opredeljene kot majhno tveganje, vrednosti $\leq 0,000$ pa kot veliko tveganje. Na splošno je povprečna točnost MPI 98,5 %, pri čemer je pri rezultatih $< 0,1685$ ali $> 0,168$ točnost > 99 %.

»Mejne« vrednosti MPI

Čprav je tehnična točnost testa MammaPrint zelo velika, je pri vzorcih z vrednostjo MPI zelo blizu mejne vrednosti 0 odstotek točnosti nekoliko manjši kot pri vzorcih, ki niso tako blizu mejne vrednosti. Natančneje, okrog mejne vrednosti 0, tj. med vrednostjo MPI $> -0,05$ in $< 0,05$, kar imenujemo tudi mejno območje, je točnost testa manj kot 90 %. Na primer, pri vrednosti MPI 0,04 obstaja 86-odstotna verjetnost, da je rezultat MP znotraj pozitivnega razpona (majhno tveganje), in 14-odstotna verjetnost, da je znotraj negativnega razpona (veliko tveganje). Pomembno pa je poudariti, da je povprečna točnost pri vzorcih z vrednostjo MPI zunaj »mejnega« območja 99 %.

Lastnosti delovanja

Značilnosti delovanja, raziskane za test MammaPrint, vključujejo: natančnost in ponovljivost, razpon, o katerem se poroča, in prag razvrščanja, analitično specifičnost in mejo zaznave.

Analitična učinkovitost

Skladnost rezultatov iz tkiv Fresh in FFPE je bila ocenjena v dveh študijah, kjer je bilo ugotovljeno, da znaša 91,5 % (n=221) in 94,3 % (n=345), brez pristranskosti v rezultatih testa MammaPrint med obema vrstama tkiv. Test MammaPrint je stabilen tudi med različnimi izolacijami, kjer ni bilo opaziti pomembne razlike ($p=0,994/p=0,290$), različnimi lokacijami, različnimi skenerji, in kaže visoko natančnost (97,3 %), ponovljivost (96 %) in ponovljivost (97,8 %).⁽⁴⁾

Poleg tega za niz FG ni bilo ugotovljene razlike med rezultati ponavljajočih se izolacij RNA, natančnostjo (98,47 %) ponovljivostjo (97,73 %) in ponovljivostjo (98,74 %), ujemanje med rezultati 8pack in FG-matrike dveh ločenih nizov podatkov pa je bilo 98,52 % (n = 135) in 94,27 % (n = 698).

Razpon indeksa testa MammaPrint, o katerem se poroča, je nastavljen tako, da zajema vrednosti od -1,00 do +1,00, prag klasifikacije indeksa MammaPrint (MPI) pa je nastavljen na +0,0. MPI pod in enak 0,0 so opredeljeni kot visoko tveganje, MPI nad 0,0 se štejejo za nizko tveganje ^(1, 2, 4).

Študija interference je bila izvedena na celotnem genomskem nizu (FG-array), da bi ocenili, ali štiri pomembne snovi motijo rezultate testa MammaPrint FFPE. Rezultati so pokazali kontaminacijo DNK do 2,5-krat večjo od ravni ozadja in skoke beljakovin med izolacijo RNK ter prenos etanola in kroglic AMPure XP Beads med čiščenjem cDNK niso vplivali na rezultate testa MammaPrint. Na splošno moteče komponente tkiva ne vplivajo na indeks testa MammaPrint, saj je bila prvotna serija tumorjev reprezentativna za vzorce raka dojke in tudi tukaj so bile druge komponente tkiva naključno porazdeljene in niso bile povezane z izidom bolezni ⁽¹⁾.

Za oceno meje zaznavnosti so rezultate testa MammaPrint FFPE primerjali med različnimi razredčitvami in pokazali zelo stabilne rezultate tudi pri zelo nizkih vnosih cDNA v nizu. Na podlagi rezultatov je meja detekcije za vnos cDNA 900 ng. Poleg tega je bilo ugotovljeno, da je LoD za vnos RNA, pridobljen iz ločene študije, 8,24 ng.

Klinična potrditev

Rezultati temeljijo na predhodno objavljenih podatkih za molekularni profil 70 genov⁽¹⁾ pri tumorjih dojk. Bolnice z ugodnim izidom so razvrščene med bolnice z majhnim tveganjem (kar pomeni, da v obdobju najmanj 5 let ne bodo imele oddaljenih metastaz). Bolnice s slabšim izidom so razvrščene med bolnice z velikim tveganjem (kar pomeni, da obstaja večja verjetnost, da se bodo v obdobju 5 let pojavile oddaljene metastaze). Podana je številčna vrednost indeksa MammaPrint.

Test MammaPrint so razvijali pri bolnicah, ki še niso prejemale adjuvantnega zdravljenja, so imele negativne bezgavke in so večinoma prihajale iz Evrope; s tem so želeli v profilu izražanja genov zajeti biološke značilnosti primarnega tumorja. ^(1,2) Januarja 2013 so bili objavljeni rezultati izidov v obdobju 5 let v prospektivni opazovalni študiji RASTER ⁽⁴⁾. Ta študija učinka je bila »prvo tovrstno« preskušanje, osredotočeno na biološke označevalce, v katerem so izvedli test MammaPrint Fresh in poročali o njegovih rezultatih pri 427 bolnicah, starih od 18 do 61 let, z rakom dojk v zgodnjem stadiju kategorije pT1 oziroma pT2, negativnimi bezgavkami, ER+/- in HER2 +/-, preden sta bolnica in zdravnik sprejela odločitev glede adjuvantnega zdravljenja. Bolnice so zdravili v skladu s standardnimi praktičnimi smernicami ob upoštevanju vseh pomembnih kliničnopatoloških dejavnikov in rezultatov genskega podpisa testa MammaPrint.

Pozneje so s testom MammaPrint testirali tudi tkiva FFPE bolnic, ki so sodelovale v študiji RASTER. Rezultate testa MammaPrint so primerjali z uporabo 345 svežih vzorcev in vzorcev FFPE istih bolnic iz študije RASTER, ki so jih primerjali s podatki o izidih v obdobju 5 let. Če ne upoštevamo nobene druge spremenljivke, razen rezultata testa MammaPrint pri bolnici, je pri bolnicah, ki jih je test MammaPrint FFPE razvrstil med bolnice »z majhnim tveganjem« (71 bolnic, ki so prejemale adjuvantno zdravljenje, in 108 bolnic, ki ga niso), verjetnost za ponovitev raka v obdobju 5 let znašala 1,3 % (95-odstotni IZ 0–3,1)⁽⁶⁾.

Pri bolnicah, ki jih je test MammaPrint FFPE razvrstil med bolnice »z velikim tveganjem« (145 bolnic, ki so prejemale adjuvantno zdravljenje, in 21 bolnic, ki ga niso), je verjetnost za ponovitev raka v obdobju 5 let znašala 11,7 % (95-odstotni IZ 6,6–16,8)⁽⁶⁾.

Test MammaPrint so neodvisno potrdili v študijah pri več kot 75.000 bolnicah z rakom dojk, rezultati pa so bili objavljeni v vodilnih mednarodnih strokovno pregledanih medicinskih in znanstvenih revijah in so dokazali, da test omogoča pridobitev informacij, ki so neodvisne od ocene kliničnopatološkega tveganja ^(6,7).

Naročilo testiranja

Kontaktna oseba pri podjetju Agendia vam bo posredovala komplet za odvzem vzorca. Z uporabo kompleta vzorec tumorja nanesite na stekelca v skladu z navodili ali pa pripravite blok FFPE. Oddajte naročilo prek našega spletnega portala ali izpolnite obrazec za naročilo testiranja, ki je priložen kompletu za odvzem vzorca. Podrobnosti so v navodilih za uporabo tega kompleta.

Če potrebujete dodatno pomoč ali informacije, stopite v stik z nami prek Customerservice@agendia.com ali +31 (0)20 462 1510.

Seznam literature

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

Opozorilo:

O vseh morebitnih resnih zapletih, povezanih s testom MammaPrint FFPE, poročajte proizvajalcu in pristojnemu organu države članice. Proizvajalec bo o resnem zapletu poročal pristojnemu organu države članice, v kateri se nahaja uporabnik oziroma bolnica.

Spremembe in dopolnila, namenjena izpolnitvam v kliničnem laboratoriju (CLIA – Clinical Laboratory Improvement Amendments)

Potrdila o akreditaciji: Agendia, Inc.: 05D1089250

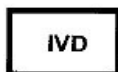
Podatki o proizvajalcu



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

Naslov diagnostičnega laboratorija podjetja
Agendia, Inc.:
22 Morgan,
Irvine, CA 92618, ZDA
Telefon: +1 888 321 2732
Faks: +1 866 756 7548
www.agendia.com

Osnovni UDI-DI: 0850024841MammaprintK9



© 2021 Agendia, NV. Vse pravice pridržane. Agendia, logotip Agendia in MammaPrint so registrirane blagovne znamke podjetja Agendia, NV.

MKT-517-V2

Datum izdaje: Februar 2025

Spremembe prejšnje različice

Različica 2 - Razširitev predvidene uporabe, posodobitev analitične zmogljivosti, referenčni del, opozorilo in previdnostni ukrepi

Prva izdaja – 3. november 2022