

Gebruiksaanwijzing - BluePrint FFPE Microarray

Inleiding

De BluePrint-test is een moleculaire subtyperingstest die borstkanker in drie verschillende subtypen indeelt: Luminaal-Type, HER2-Type en Basaal-Type, gebaseerd op het juiste biologische profiel van de tumor aan de hand van genexpressie. Moleculaire subtypering verbetert de behandelingstoewijzing, aangezien tumoren die op basis van histopathologische kenmerken identiek lijken, in feite zeer verschillende klinische uitkomsten kunnen hebben. ^(1,2,3)

Aan de hand van 200 monsters van borstkankerpatiënten en vier onafhankelijke validatiecohorten (n=748) werd het 80-genen BluePrint-profiel vastgesteld. ⁽¹⁾ BluePrint maakt onderscheid tussen de drie intrinsieke subtypen van borstkanker: Luminaal-Type, HER2-Type en Basaal-Type. Deze intrinsieke subgroepen worden nauwkeuriger geïdentificeerd met behulp van genexpressiepanels in vergelijking met standaard IHC/FISH-beoordeling. ^(2,4)

De BluePrint-test analyseert het expressieprofiel van 80 specifieke genen in een weefselmonster door geïsoleerd RNA van tumorweefselmonsters op speciale glazen microarray-plaatjes aan te brengen. Met behulp van een algoritme bepaalt BluePrint de correlatie-index van het 80-genenprofiel met elk van de drie verschillende moleculaire subtyperings centroids: Luminaal-Type, HER2-Type en Basaal-Type.

Beoogd gebruik

BluePrint FFPE is een kwalitatieve, niet-geautomatiseerde in vitro diagnostische test, uitgevoerd in het gespecialiseerde laboratorium van Agendia (Agendia's Diagnostic Service Laboratory), die gebruik maakt van het genexpressieprofiel verkregen uit in formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde (FFPE) weefselmonsters van borstkanker om het moleculaire subtype te bepalen.

BluePrint voorspelt de omvang van het voordeel van een systemische behandeling ter ondersteuning van behandelbeslissingen bij patiënten met borstkanker.

De BluePrint-genen meten de kenmerken van de meerstappenontwikkeling van borstkankercellen om te overleven, te prolifereren, zich te verspreiden en te metastaseren, zoals beschreven binnen de kenmerken van kanker (Hallmarks of Cancer)⁽⁵⁾.

De test wordt uitgevoerd bij vrouwelijke patiënten met borstkanker in stadium I, stadium II of stadium III. De uitslag van de BluePrint® FFPE is uitsluitend bedoeld voor gebruik door artsen en dient samen met andere klinisch-pathologische factoren te worden geïnterpreteerd.

Beoogde gebruiker

Het is de bedoeling dat de BluePrint FFPE microarray wordt aangevraagd door een zorgverlener van de borstkankerpatiënt. Door de BluePrint FFPE microarray-test te bestellen, verzoekt de zorgverlener Agendia om het monster te testen in Agendia's Diagnostic Service Laboratory.

Testprincipe

De analyse is gebaseerd op verschillende niet-geautomatiseerde processen: isolatie van RNA uit FFPE-weefselcoupons van borstkanker; reverse transcription van RNA resulterend in cDNA; amplificatie en labeling van het cDNA; hybridisatie van het geamplificeerde en gelabelde cDNA op de diagnostische microarray; wassen en scannen van de diagnostische microarray en gegevensvastlegging (feature extraction); berekening en bepaling van het moleculaire subtype (BluePrint).

De BluePrint-analyse is bedoeld om de activiteit van specifieke genen in een weefselmonster te bepalen. Het resultaat is een expressieprofiel, of 'vingerafdruk', van het monster. De correlatie van het expressieprofiel met de templates (de gemiddelde mRNA-expressieniveaus van tumoren van het Luminaal-, Basaal- en HER2-Type) wordt berekend (BluePrint Index) en het moleculaire subtype van het monster wordt bepaald (d.w.z. Basaal-Type, Luminaal-Type, HER2-Type).

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

De patiëntidentificatie op het aanvraagformulier moet correct overeenkomen met de identificatie van het monster in het LIMS-systeem, dat een interne identificatiecode creëert die in het laboratoriumproces correct aan het monster moet worden gekoppeld.

Vul het testaanvraagformulier in met de juiste informatie.

Het voor BluePrint geselecteerde monster moet voldoen aan de criteria voor de beoogde gebruikspopulatie, zoals, maar niet beperkt tot, borstkanker bij vrouwen, vroeg stadium, tumorcelpercentage van ten minste 30%.

De uitslagen van BluePrint zijn geïndiceerd voor gebruik door artsen als aanvulling op de standaard klinisch-pathologische factoren. De test is niet bedoeld om de uitkomst van een ziekte te bepalen.

Procedure

a) Selectie van patiënten

Patiënten komen in aanmerking als bij hen borstkanker in stadium I, stadium II of stadium III is vastgesteld.

b) Monsterafname, -registratie en -verzending.

De voorwaarden voor het verzamelen, behandelen en prepareren van het monster worden via de gebruiksaanwijzing (IFU) aan de klant meegedeeld: MKT-067. Deze kit bevat het volgende:

- 10 Objectglasjes
- 2 Houders voor vijf objectglasjes
- Kleine en grote plastic zak met rits
- Instructies voor monsterafname
- Testaanvraagformulier
- Etiketvel met barcode-etiketten
- Verzendmaterialen

De registratie van het monster wordt in gang gezet door middel van een kennisgeving van de opdrachtgevende zorgverlener. Deze melding (via het testaanvraagformulier, TRF) kan plaatsvinden via de online klantenportal of een ander communicatiekanaal. Agendia registreert alle gerelateerde monster- en patiëntinformatie. Het monster

wordt door de aanvragende zorgverlener rechtstreeks naar Agendia's Diagnostic Service Laboratory verzonden, bij omgevingstemperatuur, gebruikmakend van het bijgeleverde materiaal voor verzending per koerier.

c) Monsteranalyse bij Agendia

Voor FFPE-weefselmonsters wordt gebruik gemaakt van de door de klant geleverde objectglaasjes met FFPE-weefselcoupes of worden objectglaasjes gemaakt van het door de klant geleverde FFPE-tumorblok met behulp van een standaard microtome. Totaal RNA wordt uit de weefselcoupes geëxtraheerd met behulp van een standaard in de handel verkrijgbare isolatiekit. Het RNA-monster wordt gezuiverd, geamplificeerd en gelabeld met een fluorescerende cyanine-CTP/dUTP-kleurstof.

Het RNA/cDNA-monster wordt gehybridiseerd op een speciaal ontworpen diagnostische microarray (8-pack, Agilent Technologies).

Een Agilent-microarray scanner wordt gebruikt voor het scannen van de diagnostische microarray en het resultaat is een scanbestand (TIFF). Dit bestand wordt gebruikt door de Agilent Feature Extraction Software. De Feature Extraction Software analyseert het scanbestand (TIFF) door de relatieve fluorescentie-intensiteit van de afzonderlijke kenmerken te bepalen ten opzichte van het ontwerpbestand van de diagnostische microarray-chip als een template, om controle features, normaliserings features en reportergeren features te identificeren. De fluorescentie-intensiteit van de features is een maat voor de expressie van bepaalde genen.

d) Data analyse en rapportage

De data analyse wordt uitgevoerd volgens een specifiek Blueprint-algoritme dat de Blueprint-indices berekent en het moleculaire subtype van het monster (Basaal-, Luminaal- of HER2-Type) bepaalt.

Er worden uitgebreide kwaliteitscontroles (>25) uitgevoerd om een correct analyseresultaat te garanderen. De kwaliteitscontroles worden samen met de uitslag gerapporteerd en intern goedgekeurd door de Laboratory Director.

e) Rapportage

De aanvragende zorgverlener ontvangt een patiëntenrapport en een samenvatting van de resultaten voor elke bestelde Blueprint FFPE microarray-test. Met betrekking tot persoonsgegevens van patiënten verwijzen we u naar onze voorwaarden voor gegevensverwerking in het Privacybeleid van Agendia.

Beperkingen van de procedure

Blueprint is uitsluitend gevalideerd voor gebruik met tumorweefsel van vrouwelijke borstkanker. Testen van andere soorten monsters kunnen onjuiste of geen resultaten opleveren. Betrouwbare resultaten zijn afhankelijk van de juiste procedures voor monsterafname en vervoer.

Blueprint is specifiek gevalideerd voor de tumortypen invasief ductaal carcinoom of lobulair carcinoom. Het testen van andere soorten monsters (bijv. lymfeklieren) is niet beoordeeld.

Verwachte waarden

De Blueprint FFPE-test classificeert weefselmonsters van borstkanker in drie verschillende subtypen: Luminaal-Type, HER2-type en Basaal-Type. Het subtype met de hoogste indexscore bepaalt het moleculaire subtype van de tumor.

Luminaal-Type

Borstkanker van het Luminale Type wordt gekenmerkt door genexpressie van de luminale epitheelcellen die de borstkanalen en -klieren bekleden.

HER2-type

Borstkanker van het HER2-Type wordt gekenmerkt door amplificatie of overexpressie van de HER2-locus.

Kankers van het HER2-Type zijn meestal HER2-positieve tumoren door IHC of FISH (HER2/neu positief). Een HER2-Type als BluePrint-uitslag betekent dat het tumorfenotype het meest lijkt op het intrinsieke HER2-subtype.

Basaal-type

Borstkanker van het Basale Type wordt gekenmerkt door genexpressie van de basale/myo-epitheliale oorsprongscellen. Kankers van het basale type zijn meestal triple-negatief voor ER, PR en HER2 met een specifiek genexpressieprofiel.

Een Basaal-Type als BluePrint-uitslag betekent dat het tumorfenotype het meest lijkt op het basale intrinsieke subtype.

Prestatiekenmerken

De voor BluePrint onderzochte prestatiekenmerken zijn: precisie en reproduceerbaarheid, reportable range, analytische specificiteit en Limit of Detection.

Analytische prestaties

De concordantie van de uitslagen van de verse en FFPE-weefsels werd beoordeeld in twee onderzoeken en bleek 97% (n=413) en 90% (n=55) te zijn, zonder bias in de BluePrint-uitslagen tussen weefseltypen.

Verder is BluePrint stabiel in de loop van de tijd met een reproduceerbaarheid tussen 97,6% en 98,9% en reproduceerbaar tussen verschillende isolaties van hetzelfde weefsel, waarbij geen significant verschil werd waargenomen in subtype (Cochran's Q-test, $p=1,0$) en indices (ANOVA Luminaal $p=0,850$, HER2 $p=0,725$, en Basaal $p=0,400$). De reproduceerbaarheid van BluePrint tussen verschillende locaties evenals tussen verschillende scanners was 100%. Bovendien werden een hoge precisie (98,6%) en herhaalbaarheid (99%) waargenomen (6). Daarnaast werd voor de FG-array geen verschil gevonden tussen de uitslagen van herhaalde RNA-isolaties, de precisie (98,98%, 98,87% en 98,84% voor respectievelijk Luminaal, HER2 en Basaal), de reproduceerbaarheid (98,71%, 98,43% en 98,24% voor respectievelijk Luminaal, HER2 en Basaal) en de herhaalbaarheid (99,08%, 99,03% en 98,96% voor respectievelijk Luminaal, HER2 en Basaal), en de overeenkomst tussen 8pack- en FG-arrayuitslagen van twee afzonderlijke datasets bleek 98,91% (n = 92) en 99,86% (n = 698) te zijn.

Het reportable range van de BluePrint FFPE-index is de correlatie van het expressieprofiel met de templates (de gemiddelde mRNA-expressieniveaus van tumoren van het Luminaal-, Basaal- en HER2-type). Het moleculaire subtype van het monster wordt vervolgens bepaald door het subtype met de hoogste BluePrint-index.

Er is een interferentie studie uitgevoerd op de full genome array (FG-array) om te beoordelen of vier relevante stoffen interfereren met de BluePrint FFPE-uitslagen. De uitslagen toonden aan dat DNA-verontreiniging tot 2,5x de achtergrondniveaus en eiwitpieken tijdens RNA-isolatie, evenals ethanol en carry-over van AMPure XP Beads tijdens cDNA-zuivering geen invloed hadden op de BluePrint-uitslagen. Over het algemeen hebben interfererende weefselcomponenten geen invloed op de BluePrint-uitslag, omdat de oorspronkelijke tumorserie

representatief was voor borstkankermonsters en ook hier waren de andere weefselcomponenten willekeurig verdeeld en niet gerelateerd aan een ziekte-uitkomst⁽¹⁾.

Om de Limit of Detection (LoD) te beoordelen werden de BluePrint FFPE-uitslagen vergeleken over de verschillende verdunningen en deze lieten zeer stabiele uitslagen zien, zelfs bij zeer lage input van cDNA op de array. Op basis van de uitslagen is de detectiegrens voor de input van cDNA 900 ng. Daarnaast bleek uit een afzonderlijk onderzoek dat de LoD voor RNA-input 19,98 ng bedroeg.

Testen bestellen

Uw Agendia-contactpersoon zal u een monsterafnamekit verstrekken. Gebruik de kit en breng het tumormonster volgens de instructies aan op de objectglaasjes, of prepareer een FFPE-blok. Plaats uw bestelling via onze onlineportal of door het testaanvraagformulier in te vullen dat bij de monsterafnamekit zit. Nadere gegevens vindt u in de gebruiksaanwijzing (IFU) van deze kit.

Indien u aanvullende ondersteuning of informatie wenst, neem dan contact met ons op via Customerservice@agendia.com of +31 (0)20 462 1510.

Literatuurverwijzing

-
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. Haan et. al. Gen Chromosomes Cancer 2021; (61):148-160
 6. Mittempergher et al. Transl Oncol 2020; 13(4): 100756

Adviserende kennisgeving:

Meld elk ernstig incident in verband met BluePrint FFPE aan de fabrikant en aan de bevoegde autoriteit. De fabrikant zal het ernstige incident melden aan de bevoegde autoriteit van de lidstaat waar de gebruiker/patiënt gevestigd is.

Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA)

Accreditatie certificaten: Agendia, Inc.: 05D1089250

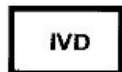
Productie-informatie



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

Agendia's Diagnostic Service Laboratory adres
Agendia, Inc.:
22 Morgan,
Irvine, CA 92618, VS
Telefoon: +1 888 321 2732
Fax: +1 866 756 7548
www.agendia.com

Basic UDI-DI: 0850024841BlueprintBB



© 2021 Agendia, NV. Alle rechten voorbehouden. Agendia, het Agendia-logo en BluePrint zijn geregistreerde handelsmerken van Agendia, NV.

MKT-518-2

Datum van uitgifte: februari 2025

Wijzigingen ten opzichte van de vorige versie

Version 2 - update van beoogd gebruik, de literatuurverwijzing, prestatiekenmerken en waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Eerste uitgave – november 2022