

Οδηγίες χρήσης – Μικροσυστοιχία BluePrint FFPE

Εισαγωγή

Το BluePrint είναι μια δοκιμασία μοριακής υποτύπησης για την ταξινόμηση του καρκίνου του μαστού σε τρεις διακριτούς υποτύπους: αυλικός τύπος, HER2 τύπος και βασικός τύπος, με βάση το πραγματικό βιολογικό προφίλ γονιδιακής έκφρασης του όγκου. Η μοριακή υποτύπηση βελτιώνει τη διαδικασία επιλογής θεραπευτικής αντιμετώπισης, διότι όγκοι με πανομοιότυπη βάση των ιστοπαθολογοανατομικών χαρακτηριστικών τους εμφάνιση μπορεί στην πραγματικότητα να καταλήγουν σε πολύ διαφορετική κλινική έκβαση. ^(1,2,3)

Το προφίλ 80 γονιδίων του BluePrint δημιουργήθηκε με βάση 200 δείγματα ασθενών με αρχόμενο καρκίνο του μαστού και τέσσερις ανεξάρτητες κοόρτες επικύρωσης (n=748). ⁽¹⁾ Το BluePrint διακρίνει μεταξύ των τριών ενδογενών υποτύπων καρκίνου του μαστού: αυλικού τύπου, HER2 τύπου και βασικού τύπου. Οι τρεις ενδογενείς υποκατηγορίες προσδιορίζονται με μεγαλύτερη ακρίβεια με τη χρήση συνόλων γονιδιακής έκφρασης, τα οποία συγκρίνονται με την τυπική αξιολόγηση μέσω ανοσοϊστοχημείας (IHC)/φθορίζουσας υβριδοποίησης in situ (FISH). ^(2,4)

Η δοκιμασία BluePrint αναλύει την έκφραση 80 ειδικών γονιδίων σε δείγμα ιστού μέσω της ανάλυσης RNA απομονωμένου από δείγματα όγκου σε ειδικές γυάλινες αντικειμενοφόρες πλάκες μικροσυστοιχιών. Με τη χρήση ειδικού αλγόριθμου, το BluePrint καθορίζει τον δείκτη συσχέτισης του προφίλ 80 γονιδίων με καθένα από τα τρία κεντροειδή διακριτής μοριακής υποτύπησης: αυλικός τύπος, HER2 τύπος και βασικός τύπος.

Προβλεπόμενη χρήση

Το BluePrint FFPE είναι μια ποιοτική, μη αυτοματοποιημένη in-vitro διαγνωστική δοκιμασία, η οποία διενεργείται στο Εργαστήριο Υπηρεσιών Διάγνωσης της Agendia, με χρήση του προφίλ γονιδιακής έκφρασης όπως λαμβάνεται από δείγματα ιστού καρκίνου του μαστού σταθεροποιημένα με φορμαλίνη και ενσωματωμένα σε παραφίνη (FFPE) για τον καθορισμό του μοριακού υποτύπου.

Το BluePrint προβλέπει το μέγεθος του οφέλους της συστηματικής θεραπείας, για την καθοδήγηση των θεραπευτικών αποφάσεων σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού.

Τα γονίδια BluePrint μετρούν τα χαρακτηριστικά των διαφόρων σταδίων της ανάπτυξης των κυττάρων του καρκίνου του μαστού για την επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό, τη διασπορά και τη μετάστασή τους, όπως αναφέρονται στα βασικά χαρακτηριστικά του καρκίνου⁽⁵⁾.

Η δοκιμασία διενεργείται σε γυναίκες ασθενείς με καρκίνο του μαστού σταδίου I, σταδίου II ή σταδίου III. Το αποτέλεσμα της δοκιμασίας BluePrint® FFPE ενδείκνυται για χρήση από ιατρούς και πρέπει να λαμβάνονται υπόψη σε συνδυασμό με άλλους κλινικούς και παθολογοανατομικούς παράγοντες.

Προοριζόμενος χρήστης

Η μικροσυστοιχία BluePrint FFPE διατίθεται κατόπιν αιτήματος στον πάροχο υγειονομικής περίθαλψης της ασθενούς με καρκίνο του μαστού. Παραγγέλλοντας τη δοκιμασία μικροσυστοιχίας BluePrint FFPE ο πάροχος υγειονομικής περίθαλψης ζητά αυτομάτως από την Agendia την εκτέλεση της δοκιμασίας επί του σχετικού δείγματος στο Εργαστήριο Υπηρεσιών Διάγνωσης της Agendia.

Αρχή διενέργειας της εξέτασης

Η ανάλυση βασίζεται σε ορισμένες μη αυτοματοποιημένες διαδικασίες: απομόνωση του RNA από τομές ιστού καρκίνου του ιστού FFPE, αντίστροφη μεταγραφή RNA για τη σύνθεση cDNA, ενίσχυση και σήμανση του cDNA, υβριδοποίηση του ενισχυμένου και επισημασμένου cDNA στη διαγνωστική μικροσυστοιχία, πλύση και σάρωση της διαγνωστικής μικροσυστοιχίας και λήψη δεδομένων (εξαγωγή χαρακτηριστικών), υπολογισμός και καθορισμός του μοριακού υποτύπου (BluePrint).

Η ανάλυση BluePrint έχει σχεδιαστεί για τον καθορισμό της δραστηριότητας ειδικών γονιδίων σε δείγματα ιστού. Το αποτέλεσμα της δοκιμασίας συνίσταται σε προφίλ έκφρασης, ή «γενετικό αποτύπωμα», του δείγματος. Υπολογίζεται η συσχέτιση του προφίλ γονιδιακής έκφρασης ως προς τα υποδείγματα (τα μέσα επίπεδα έκφρασης mRNA σε όγκους αυλικού, βασικού και HER2 τύπου) (δείκτης BluePrint) και καθορίζεται ο μοριακός υπότυπος του δείγματος (ήτοι βασικός τύπος, αυλικός τύπος, HER2 τύπος).

Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Η ταυτοποίηση της ασθενούς στο έντυπο αιτήματος πρέπει να αντιστοιχεί ακριβώς με την ταυτοποίηση του δείγματος στο σύστημα LIMS, το οποίο δημιουργεί έναν εσωτερικό αναγνωριστικό κωδικό που θα πρέπει να αντιστοιχεί επακριβώς στο δείγμα που υποβάλλεται σε εργαστηριακή επεξεργασία.

Συμπληρώστε στο έντυπο αιτήματος τις απαραίτητες πληροφορίες

Το δείγμα που επιλέγεται για τη δοκιμασία BluePrint θα πρέπει να ανταποκρίνεται στα χαρακτηριστικά του πληθυσμού για τον οποίο προορίζεται η χρήση, ήτοι, μεταξύ άλλων, σε γυναίκες με καρκίνο του μαστού, πρώιμου σταδίου και με ελάχιστο ποσοστό καρκινικών κυττάρων 30%.

Τα αποτελέσματα του BluePrint ενδείκνυνται για χρήση από ιατρούς σε συνδυασμό με τυπικούς κλινικούς και παθολογοανατομικούς παράγοντες. Στόχος της δοκιμασίας δεν είναι να καθορίσει την έκβαση της νόσου.

Διαδικασία

α) Επιλογή ασθενών

Επιλέξιμες είναι ασθενείς που έχουν διαγνωστεί με καρκίνο του μαστού σταδίου I, σταδίου II ή σταδίου III.

β) Λήψη, καταγραφή και αποστολή δειγμάτων.

Οι προϋποθέσεις για τη λήψη, τον χειρισμό και την προετοιμασία του δείγματος παρέχονται στον πελάτη μέσω των Οδηγιών Χρήσης: MKT-067. Στο κιτ περιέχονται τα ακόλουθα:

- 10 αντικειμενοφόρες πλάκες μικροσκοπίου
- 2 καλάθια χωρητικότητας πέντε αντικειμενοφόρων πλακών
- Μικρή και μεγάλη πλαστική σακούλα με κούμπωμα που ανοιγοκλείνει με φερμουάρ
- Οδηγίες λήψης δείγματος
- Έντυπο αιτήματος δοκιμασίας
- Φύλλο ετικετών με ετικέτες με γραμμικό κώδικα
- Εξοπλισμός για την αποστολή

Η καταχώριση του δείγματος ξεκινά με την κοινοποίηση από τον πάροχο υγειονομικής περίθαλψης που υποβάλλει την παραγγελία. Η εν λόγω κοινοποίηση (έντυπο αιτήματος δοκιμασίας) μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω διαδικτυακής πύλης για τους πελάτες ή άλλο δίαυλο επικοινωνίας. Η Agendia καταχωρεί όλες τις πληροφορίες σχετικά με τα δείγματα και τις ασθενείς. Το δείγμα αποστέλλεται από τον αιτούντα πάροχο υγειονομικής περίθαλψης απευθείας στο Εργαστήριο Υπηρεσιών Διάγνωσης της Agendia σε θερμοκρασία δωματίου, με χρήση του εξοπλισμού μεταφοράς που παρέχεται από τον ταχυμεταφορέα.

γ) Ανάλυση δειγμάτων στην Agendia

Για τα δείγματα ιστού FFPE χρησιμοποιούνται οι παρεχόμενες από τον πελάτη γυάλινες αντικειμενοφόρες πλάκες με τομές ιστού FFPE ή δημιουργούνται αντικειμενοφόρες πλάκες από τον παρεχόμενο από τον πελάτη κύβο όγκου FFPE με τη χρήση συμβατικού μικροτόμου. Το ολικό RNA εξάγεται από τις τομές ιστού με τη χρήση απλού κιτ απομόνωσης διαθέσιμου στο εμπόριο. Ακολουθεί καθαρισμός, ενίσχυση και επισήμανση του δείγματος RNA με χρωστική φθορισμού κυανίνης CTP/dUTP.

Το δείγμα RNA/cDNA υβριδοποιείται σε ειδικά σχεδιασμένη διαγνωστική μικροσυστοιχία (8πλή, Agilent Technologies).

Ένας σαρωτής μικροσυστοιχιών Agilent χρησιμοποιείται για τη σάρωση της διαγνωστικής μικροσυστοιχίας ώστε να δημιουργηθεί ένα αρχείο σάρωσης (TIFF). Το εν λόγω αρχείο προορίζεται για ανάλυση με χρήση του λογισμικού εξαγωγής χαρακτηριστικών (Feature Extraction Software) της Agilent. Το λογισμικό Agilent Feature Extraction Software αναλύει το αρχείο σάρωσης (TIFF) καθορίζοντας τις σχετικές εντάσεις φθορισμού των επιμέρους χαρακτηριστικών σε αντιπαραβολή με το αρχείο διαγνωστικού σχεδιασμού πλακιδίων (chip) μικροσυστοιχιών που χρησιμοποιείται ως υπόδειγμα προκειμένου να προσδιοριστούν τα χαρακτηριστικά ελέγχου, τα χαρακτηριστικά κανονικοποίησης και τα χαρακτηριστικά των γονιδίων-ανταποκριτών. Οι εντάσεις φθορισμού των χαρακτηριστικών συνιστούν τη μονάδα μέτρησης για την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων.

δ) Ανάλυση και αναφορά δεδομένων

Η ανάλυση των δεδομένων διενεργείται με τη χρήση ειδικού αλγόριθμου του BluePrint που υπολογίζει τους δείκτες BluePrint και καθορίζει τον μοριακό υπότυπο του δείγματος (βασικός τύπος, αυλικός τύπος ή HER2 τύπος).

Πραγματοποιούνται εκτεταμένοι ποιοτικοί έλεγχοι (> 25) προκειμένου να διασφαλιστεί το σωστό αποτέλεσμα της ανάλυσης. Οι ποιοτικοί έλεγχοι αναφέρονται σε συνδυασμό με το αποτέλεσμα και εγκρίνονται εσωτερικά από τον Διευθυντή του Εργαστηρίου.

ε) Αναφορά

Ο πάροχος υγειονομικής περίθαλψης που υποβάλλει την παραγγελία λαμβάνει μια αναφορά ασθενούς καθώς και μια περίληψη αποτελεσμάτων για κάθε παραγγελθείσα δοκιμασία μικροσυστοιχίας BluePrint FFPE. Σε ό,τι αφορά τα προσωπικά δεδομένα των ασθενών, ανατρέξτε στους όρους επεξεργασίας δεδομένων της εταιρείας μας που παρουσιάζονται στην Πολιτική Απορρήτου της Agendia.

Περιορισμοί της διαδικασίας

Το BluePrint έχει εγκριθεί για χρήση αποκλειστικά με ιστό όγκου από γυναίκες ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Η αξιολόγηση άλλων τύπων δειγμάτων μπορεί να καταλήξει σε λανθασμένα ή καθόλου αποτελέσματα. Η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων εξαρτάται από την καταλληλότητα των διαδικασιών συλλογής και μεταφοράς των δειγμάτων.

Το BluePrint έχει εγκριθεί ειδικά για όγκους διηθητικού πορογενούς καρκινώματος ή λοβιακού καρκινώματος. Η δοκιμασία δεν έχει αξιολογηθεί σε άλλους τύπους δειγμάτων (π.χ. λεμφαδένες).

Αναμενόμενες τιμές

Η δοκιμασία BluePrint FFPE ταξινομεί δείγματα ιστού καρκίνου του μαστού σε τρεις διακριτούς υποτύπους: αυλικός τύπος, HER2 τύπος και βασικός τύπος. Ο υπότυπος με την υψηλότερη τιμή δείκτη καθορίζει τον μοριακό υποτύπο του όγκου.

Αυλικός τύπος

Οι αυλικού τύπου καρκίνοι του μαστού χαρακτηρίζονται από γονιδιακή έκφραση των αυλικών επιθηλιακών κυττάρων, τα οποία επενδύουν τους πόρους και τους αδένες του μαστού.

HER2 τύπος

Οι HER2 τύπου καρκίνοι του μαστού χαρακτηρίζονται από ενίσχυση ή υπερέκφραση του γονιδίου HER2. Στην περίπτωση των HER2 τύπου καρκίνων πρόκειται συνήθως για HER2-θετικούς όγκους όπως ανιχνεύονται με μεθόδους IHC ή FISH (HER2/neu θετικοί). Ένα αποτέλεσμα HER2 τύπου καρκίνου στη δοκιμασία BluePrint σημαίνει ότι ο φαινότυπος του όγκου προσομοιάζει σε μεγάλο βαθμό στον ενδογενή υπότυπο του HER2 τύπου καρκίνου.

Βασικός τύπος

Οι βασικού τύπου καρκίνοι του μαστού χαρακτηρίζονται από γονιδιακή έκφραση των βασικών/μυοεπιθηλιακών κυττάρων προέλευσης. Οι βασικού τύπου καρκίνοι είναι συνήθως τριπλά αρνητικοί για τα γονίδια ER, PR και HER2 με ειδικό προφίλ γονιδιακής έκφρασης.

Ένα αποτέλεσμα βασικού τύπου καρκίνου στη δοκιμασία BluePrint σημαίνει ότι ο φαινότυπος του όγκου προσομοιάζει σε μεγάλο βαθμό στον ενδογενή υπότυπο του βασικού τύπου καρκίνου.

Χαρακτηριστικά αποτελεσματικότητας

Στα χαρακτηριστικά αποτελεσματικότητας που διερευνήθηκαν για το BluePrint περιλαμβάνονται τα εξής: ακρίβεια μέτρησης και αναπαραγωγικότητα, αναφερόμενο εύρος, προσδιοριστικότητα ανάλυσης και όριο ανίχνευσης

Αποτελεσματικότητα ανάλυσης

Η συμφωνία των αποτελεσμάτων από τους νωπούς και τους FFPE ιστούς αξιολογήθηκε σε δύο μελέτες, όπου διαπιστώθηκε ότι ήταν 97% (n=413) και 90% (n=55), χωρίς κάποιο σφάλμα μεροληψίας στα αποτελέσματα του BluePrint μεταξύ των τύπων ιστών.

Το BluePrint είναι επίσης σταθερό με την πάροδο του χρόνου με αναπαραγωγικότητα μεταξύ 97,6% και 98,9% και αναπαραγωγικότητα μεταξύ διαφορετικών απομονώσεων του ίδιου ιστού, στις οποίες δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στον υπότυπο (δοκιμή Cochran Q, p=1,0) και στους δείκτες [Ανάλυση διασποράς (ANOVA) αυλικού τύπου p=0,850, HER2 τύπου p=0,725 και βασικού τύπου p=0,400]. Η αναπαραγωγικότητα του BluePrint μεταξύ διαφορετικών τοποθεσιών ήταν 100%. Μεταξύ διαφορετικών σαρωτών, ήταν επίσης 100%. Επιπλέον, παρατηρήθηκε υψηλή ακρίβεια (98,6%) και επαναληψιμότητα (99%) (6).

Επιπλέον, δεν εντοπίστηκε καμία διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων των επαναλαμβανόμενων απομονώσεων RNA για την FG-συστοιχία, η ακρίβεια (98,98%, 98,87% και 98,84% για όγκους αυλικού, HER2 και βασικού τύπου, αντίστοιχα), η αναπαραγωγικότητα (98,71%, 98,43% και 98,24%, για όγκους αυλικού, HER2 και βασικού τύπου, αντίστοιχα) και η επαναληψιμότητα (99,08%, 99,03% και 98,96% για όγκους αυλικού, HER2 και βασικού τύπου, αντίστοιχα), καθώς και η συμφωνία μεταξύ των αποτελεσμάτων της δοκιμής 8pack και της FG-συστοιχίας με δύο ξεχωριστά σύνολα δεδομένων βρέθηκε να είναι 98,91% (n = 92) και 99,86% (n = 698).

Ως αναφερόμενο εύρος του δείκτη BluePrint FFPE ορίζεται η συσχέτιση του προφίλ γονιδιακής έκφρασης ως προς τα υποδείγματα (τα μέσα επίπεδα έκφρασης mRNA σε όγκους αυλικού, βασικού και HER2 τύπου). Στη συνέχεια, ο μοριακός υπότυπος του δείγματος προσδιορίζεται από τον υψηλότερο δείκτη BluePrint.

Πραγματοποιήθηκε μελέτη παρεμβολών για την πλήρη συστοιχία γονιδιώματος (FG-συστοιχία), προκειμένου να εκτιμηθεί κατά πόσον τέσσερις σχετικές ουσίες επηρεάζουν τα αποτελέσματα της δοκιμής BluePrint FFPE. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι η μόλυνση με DNA που αγγίζει έως και 2,5 φορές τις βασικές τιμές και οι πρωτεϊνικές ακίδες κατά την απομόνωση RNA, καθώς και η μεταφορά αιθανόλης και σφαιριδίων AMPure XP κατά τον καθαρισμό cDNA, δεν επηρέασαν τα αποτελέσματα του BluePrint. Συνολικά, τα συστατικά των ιστών που θα μπορούσαν να προκαλέσουν παρεμβολή δεν επηρεάζουν το αποτέλεσμα του BluePrint, δεδομένου ότι η αρχική σειρά όγκων ήταν αντιπροσωπευτική των δειγμάτων καρκίνου του μαστού και ότι και σε αυτή την περίπτωση τα άλλα συστατικά των ιστών ήταν τυχαία κατανεμημένα και δεν σχετίζονταν με την έκβαση της νόσου⁽¹⁾.

Για τον υπολογισμό του ορίου ανίχνευσης, τα αποτελέσματα του BluePrint FFPE συγκρίθηκαν στις διάφορες αραιώσεις και κατέδειξαν εξαιρετικά σταθερά αποτελέσματα, ακόμη και με πολύ περιορισμένη λήψη στοιχείων cDNA στη συστοιχία. Με βάση τα αποτελέσματα, το όριο ανίχνευσης για τη λήψη στοιχείων cDNA είναι 900ng. Επιπλέον, το όριο ανίχνευσης (LoD) για τη λήψη στοιχείων RNA που προέκυψε από ξεχωριστή μελέτη βρέθηκε να είναι 19,98 ng.

Παραγγελία της δοκιμασίας

Το άτομο επικοινωνίας της Agendia θα σας παραδώσει ένα κιτ δειγματοληψίας. Με τη χρήση του κιτ τοποθετήστε το δείγμα όγκου στις αντικειμενοφόρες πλάκες σύμφωνα με τις οδηγίες, ή παρασκευάστε έναν κύβο FFPE. Υποβάλετε την παραγγελία σας μέσω της διαδικτυακής πύλης μας ή συμπληρώνοντας το έντυπο αιτήματος δοκιμασίας που θα βρείτε στο κιτ δειγματοληψίας. Περισσότερες πληροφορίες είναι διαθέσιμες στις οδηγίες χρήσης του κιτ.

Για περαιτέρω υποστήριξη ή πληροφορίες επικοινωνήστε μαζί μας στη διεύθυνση Customerservice@agendia.com ή στο τηλέφωνο +31 (0)20 462 1510.

Βιβλιογραφικές αναφορές

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

Σύσταση:

Οποιοδήποτε σοβαρό συμβάν σχετικά με τη δοκιμασία BluePrint FFPE πρέπει να αναφέρεται στον κατασκευαστή και στην αρμόδια αρχή του κράτους μέλους. Ο κατασκευαστής θα αναφέρει το σοβαρό περιστατικό στην αρμόδια αρχή του Κράτους Μέλους στο οποίο διαμένει ο χρήστης/ασθενής.

Clinical Laboratory Improvement Amendments

(CLIA) Πιστοποιητικά διαπίστευσης: Agendia, Inc.:
05D1089250

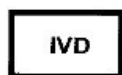
Στοιχεία κατασκευαστή



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

Διεύθυνση Εργαστηρίου Υπηρεσιών Διάγνωσης
της Agendia Agendia, Inc.:
22 Morgan,
Irvine, CA 92618, ΗΠΑ
Τηλέφωνο: +1 888 321
2732 Fax: +1 866 756 7548
www.agendia.com

Βασικό αναγνωριστικό ιατροτεχνολογικού προϊόντος (UDI-DI): 0850024841BlueprintBB



© 2021 Agendia, NV. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος. Η επωνυμία Agendia, το λογότυπο Agendia και η επωνυμία BluePrint είναι σήματα κατατεθέντα της Agendia, NV.

MKT-518-2

Ημερομηνία έκδοσης: Φεβρουάριος 2025

Τροποποιήσεις ως προς την προηγούμενη έκδοση

Έκδοση 2 - επικαιροποίηση της προβλεπόμενης χρήσης, ενότητα βιβλιογραφικών αναφορών, χαρακτηριστικά αποτελεσματικότητας και προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Πρώτη έκδοση – Νοέμβριος 2022