

Instrucțiuni de utilizare – Microarray FFPE BluePrint

Introducere

Testul BluePrint este un test de subtipizare moleculară care clasifică cancerul de sân în trei subtipuri distincte: Tipul Luminal, tipul HER2 și tipul Basal pe baza profilului biologic real al tumorii, utilizând expresia genică. Subtipizarea moleculară îmbunătățește alocarea tratamentului, deoarece tumorile care pot părea identice pe baza caracteristicilor histopatologice pot avea, de fapt, rezultate clinice foarte diferite. ^(1,2,3)

Folosind 200 de probe inițiale de la paciente cu cancer mamar și patru cohorte independente de validare (n=748), a fost stabilit profilul BluePrint cu 80 de gene. ⁽¹⁾ BluePrint discriminează între cele trei subtipuri intrinseci de cancer mamar: luminal, HER2 și bazal. Aceste subgrupuri intrinseci sunt identificate mai precis cu ajutorul panelurilor de expresie genetică comparativ cu evaluarea standard IHC/FISH. ^(2,4)

Testul BluePrint analizează profilul de expresie a 80 de gene specifice într-o probă de țesut prin rularea ARN-ului izolat din probe de țesut tumoral pe lame microarray personalizate din sticlă. Folosind un algoritm propriu, BluePrint determină indicii de corelație al profilului de 80 de gene cu fiecare dintre cele trei centre distincte de subtipizare moleculară: Luminal, HER2 și Bazal.

Utilizare prevăzută

FFPE BluePrint este un test de diagnosticare in vitro calitativ, neautomatizat, efectuat în laboratorul de servicii de diagnostic Agendia, care utilizează profilul de expresie genetică obținut din probe de țesut de cancer mamar fixate în formol și incluse în parafină (FFPE) pentru a evalua subtipul molecular.

BluePrint prezice amploarea beneficiului terapiei sistemice pentru a orienta deciziile de tratament la pacienții cu cancer mamar.

Genele BluePrint măsoară caracteristicile dezvoltării în mai multe etape a celulelor cancerului de sân pentru a supraviețui, prolifera, disemina și metastaza, așa cum se prevede în cadrul caracteristicilor cancerului⁽⁵⁾.

Testul se efectuează la pacientele cu cancer mamar în stadiul I, II sau III al bolii. Rezultatul FFPE BluePrint® este indicat pentru utilizare de către medici și trebuie interpretat împreună cu alți factori clinico-patologici.

Utilizator vizat

Microarray FFPE BluePrint este prevăzut să fie solicitat de un furnizor de asistență medicală curant al pacientei cu cancer mamar. Prin comandarea testului microarray FFPE BluePrint, furnizorul de asistență medicală solicită Agendia să efectueze testul pe probă 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 subtipului molecular (BluePrint).

Analiza BluePrint este concepută pentru a determina activitatea anumitor gene dintr-o probă de țesut. Rezultatul este un profil de expresie sau o „amprentă digitală” a probei. Se calculează corelația profilului de expresie cu șabloanele (nivelurile medii de expresie ARNm ale tumorilor de tip Luminal, Bazal și HER2) (indicele BluePrint) și se determină subtipul molecular al probei (de exemplu, tip Bazal, tip Luminal, tip HER2).

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 BluePrint trebuie să corespundă criteriilor populației destinate utilizării, cum ar fi, dar fără a se limita la, cancer mamar feminin, stadiu incipient și conținut celular tumoral de cel puțin 30%.

Rezultatele BluePrint sunt indicate pentru utilizarea de către medici în plus față de factorii clinici și patologici standard. Testul nu este destinat să stabilească rezultatul bolii.

Procedură

a) Selecția pacienților

Pacientele sunt eligibile dacă sunt diagnosticate cu cancer mamar, în stadiul I, II sau III al bolii.

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 (formularul de solicitare a testului) se poate face prin intermediul portalului online pentru clienți sau prin alt canal de comunicare. Agendia înregistrează toate informațiile referitoare la probă și la 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

Pentru probele de țesut FFPE, se utilizează lamele de sticlă furnizate de client cu secțiuni de țesut FFPE sau se obțin lamele din blocul tumoral FFPE furnizat de client utilizând un 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 fluorescențe 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 fluorescențe ale caracteristicilor sunt o măsură pentru expresia anumitor gene.

d) Analiza și raportarea datelor

Analiza datelor se efectuează în conformitate cu un algoritm specific BluePrint care calculează indicii BluePrint și determină subtipul molecular al probei (tip Bazal, Luminal sau HER2).

Sunt implementate controale de calitate extinse (>25) pentru a asigura un rezultat analitic corect. QC, împreună cu rezultatul, sunt raportate 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 BluePrint 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

BluePrint 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.

BluePrint 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

Testul FFPE BluePrint clasifică probele de țesut de cancer mamar în trei subtipuri distincte: Luminal, HER2 și Bazal. Subtipul cu cel mai mare scor index determină subtipul molecular al tumorii.

Tipul Luminal

Cancerle mamare de tip luminal se caracterizează prin expresia genică a celulelor epiteliale luminale care căptușesc ductele și glandele mamare.

Tipul HER2

Cancerle mamare de tip HER2 sunt caracterizate prin amplificarea sau supraexpresia locusului genei HER2. Cancerle de tip HER2 sunt de obicei tumori HER2-pozitive la testele IHC sau FISH (HER2/neu pozitive). Un rezultat BluePrint de tip HER2 înseamnă că fenotipul tumoral seamănă cel mai mult cu subtipul intrinsec tip HER2.

Tipul Bazal

Cancerle mamare de tip Bazal sunt caracterizate prin expresia genică a celulelor bazale/mioepiteliale de origine. Cancerle de tip Bazal sunt de obicei triplu-negative pentru ER, PR și HER2 cu un profil specific de expresie genică. Un rezultat Blueprint de tip Bazal înseamnă că fenotipul tumoral seamănă cel mai mult cu subtipul intrinsec tip Bazal.

Caracteristici de performanță

Caracteristicile de performanță analizate pentru Blueprint includ: precizia și reproductibilitatea, intervalul raportabil, 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 a fost de 97% (n=413) și 90% (n=55), fără ca rezultatele Blueprint să fie distorsionate între tipurile de țesut.

Blueprint este, de asemenea, stabil în timp, cu o reproductibilitate între 97,6% și 98,9% și reproductibil între diferite izolări ale aceluiași țesut, unde nu s-a observat nicio diferență semnificativă în subtip (testul Q al lui Cochran, p=1,0) și indici (ANOVA Luminal p=0,850, HER2 p=0,725 și Basal p=0,400). Reproductibilitatea Blueprint între diferite locații a fost de 100% și între diferite scanere a fost, de asemenea, de 100%. În plus, au fost observate o precizie ridicată (98,6%) și o repetabilitate (99%)⁽⁶⁾.

În plus, pentru matricea FG, nu s-a constatat nicio diferență între rezultatele izolărilor repetate de ARN, precizia (98,98%, 98,87% și 98,84% pentru Luminal, HER2 și, respectiv, Basal), reproductibilitatea (98,71%, 98,43% și 98,24% pentru Luminal, HER2 și, respectiv, Basal) și repetabilitatea (99,08%, 99,03% și, respectiv, 98,96% pentru Luminal, HER2 și, respectiv, Basal), iar acordul dintre rezultatele 8pack și matricea FG a două seturi de date separate s-a dovedit a fi 98,91% (n = 92) și 99,86% (n = 698).

Intervalul raportabil al indicelui FFPE Blueprint este corelația profilului de expresie cu șabloanele (nivelurile medii de expresie ARNm ale tumorilor de tip Luminal, Basal și HER2). Subtipul molecular al probei este apoi determinat de cel cu cel mai mare indice Blueprint.

Un studiu de interferență a fost efectuat pe matricea genomului complet (matrice FG) pentru a evalua dacă patru substanțe relevante interferează cu rezultatele FFPE Blueprint. 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 Blueprint. În general, componentele tisulare care interferează nu influențează rezultatul Blueprint, 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 rezultatul bolii⁽¹⁾.

Pentru a evalua limita de detecție, rezultatele FFPE Blueprint 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 19,98 ng.

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, detaliile 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 or +31 (0)20 462 1510.

Referințe

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

Notă informativă:

Raportați producătorului și autorității competente din statul membru orice incident grav legat de FFPE BluePrint. 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

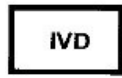
Detalii privind fabricarea



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, Inc.:
22 Morgan,
Irvine, CA 92618, SUA
Nr. telefon: +1 888 321
2732 Fax: +1 866 756 7548
www.agendia.com

UDI-DI de bază: 0850024841BlueprintBB



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

MKT-518-2

Data lansării: februarie 2025

Modificări față de versiunea anterioară

Versiunea 2 - actualizarea utilizării prevăzute, a secțiunii de referință, a caracteristicilor de performanță și a avertismentelor și precauțiilor

Versiune inițială – noiembrie 2022