

Instrucciones de uso – Microarray BluePrint FFPE

Introducción

El test BluePrint es una prueba de subtipificación molecular que clasifica el cáncer de mama en tres subtipos distintos: tipo luminal, tipo HER2 y tipo basal, según el verdadero perfil biológico del tumor, utilizando la expresión génica. La subtipificación molecular mejora la elección del tratamiento, ya que los tumores pueden parecer idénticos sobre la base de los atributos histopatológicos, pero en realidad tienen resultados clínicos muy diferentes. ^(1,2,3)

El perfil BluePrint de 80 genes se estableció utilizando 200 muestras de pacientes con cáncer de mama inicial y cuatro cohortes de validación independientes (n=748). ⁽¹⁾ BluePrint diferencia entre los tres subtipos intrínsecos de cáncer de mama: luminal, HER2 y basal. Estos subgrupos intrínsecos se identifican con mayor precisión con paneles de expresión génica que con la evaluación IHC/FISH estándar. ^(2,4)

El test BluePrint analiza el perfil de expresión de 80 genes específicos en una muestra de tejido utilizando ARN aislado de muestras de tejido tumoral en portaobjetos de microarrays de vidrio personalizados. Mediante un algoritmo patentado, BluePrint determina el índice de correlación del perfil de 80 genes con cada uno de los tres centroides distintos de la subtipificación molecular: tipo luminal, tipo HER2 y tipo basal.

Uso previsto

BluePrint FFPE es un test diagnóstico in vitro, cualitativo y no automatizado, que se lleva a cabo en el Laboratorio de Servicios Diagnósticos de Agendia utilizando el perfil de expresión génica obtenido a partir de muestras de tejido de cáncer de mama embebidas en parafina y fijadas con formol (FFPE) para determinar el subtipo molecular.

BluePrint predice el alcance del beneficio de la terapia sistémica para guiar la toma de decisiones de tratamiento en pacientes con cáncer de mama.

Los genes analizados con BluePrint miden las características del desarrollo en múltiples pasos de las células del cáncer de mama para su supervivencia, proliferación, diseminación y metástasis, según lo contemplado dentro de las características distintivas del cáncer⁽⁵⁾.

El test se realiza en pacientes mujeres con cáncer de mama en estadio I, estadio II o estadio III. El resultado de BluePrint® FFPE está indicado para el uso médico y debe interpretarse en combinación con otros factores clinicopatológicos.

Usuario previsto

El microarray BluePrint FFPE está concebido para ser solicitado por proveedores de asistencia sanitaria tratantes de pacientes mujeres con cáncer de mama. Al pedir el test de microarray BluePrint FFPE, el proveedor de asistencia sanitaria solicita a Agendia aplicar el test a su muestra en el Laboratorio de Servicios Diagnósticos de Agendia.

Principios del test

El análisis se basa en varios procesos no automatizados: aislamiento de ARN de secciones de tejido FFPE de cáncer de mama; transcripción inversa del ARN para obtener ADNc; amplificación y etiquetado del ADNc; hibridación del ADNc amplificado y etiquetado en el microarray de diagnóstico; lavado y escaneado del microarray de diagnóstico y obtención de datos (extracción de atributos); cálculo y determinación del subtipo molecular (BluePrint).

El análisis BluePrint está diseñado para determinar la actividad de genes específicos en una muestra de tejido. El resultado es un perfil de expresión, o «huella», de la muestra. Se calcula la correlación del perfil de expresión con las plantillas (los niveles medios de expresión de ARNm de tumores de tipo luminal, basal y HER2) (Índice BluePrint) y se determina el subtipo molecular de la muestra (es decir, tipo basal, tipo luminal o tipo HER2).

Advertencias y precauciones

La identificación de la paciente en el formulario de solicitud debe coincidir correctamente con la identificación del espécimen en el sistema LIMS, que crea un identificador interno que ha de coincidir correctamente con el espécimen en el proceso de laboratorio.

Complete el formulario de solicitud del test con la información apropiada.

El espécimen seleccionado para el test BluePrint debe coincidir con los criterios de la población correspondiente al uso previsto, que incluyen, entre otros, cáncer de mama femenino, en estadio temprano y contenido de células tumorales de al menos el 30 %.

Los resultados de BluePrint están indicados para el uso médico en combinación con factores clínicopatológicos estándar. El test no está concebido para determinar el resultado de la enfermedad.

Procedimiento

a) Selección de pacientes

Las pacientes son aptas para el test si se les diagnostica cáncer de mama en estadio I, estadio II o estadio III.

b) Recogida de muestras, registro y envío

Las condiciones para la recogida, la manipulación y la preparación de la muestra se facilitan al cliente a través de las instrucciones de uso: MKT-067. Este kit incluye lo siguiente:

- 10 portaobjetos para microscopía
- 2 soportes para cinco portaobjetos
- Bolsa de plástico con cierre hermético, pequeña y grande
- Instrucciones para el muestreo de especímenes
- Formulario de solicitud del test
- Hoja de etiquetas con códigos de barras
- Materiales de envío

El registro de muestras se inicia mediante la notificación del proveedor de asistencia sanitaria solicitante. Esta notificación (Formulario de solicitud del test) puede efectuarse en el portal online de clientes o en otro canal de comunicación. Agendia registra todas las muestras y la información de las pacientes. El proveedor de asistencia

sanitaria solicitante enviará la muestra directamente al Laboratorio de Servicios Diagnósticos de Agendia a temperatura ambiente y utilizando los materiales de transporte suministrados.

c) Análisis de muestras en Agendia

Para las muestras de tejido FFPE se utilizan los portaobjetos de vidrio con secciones de tejido FFPE suministrados por el cliente o se elaboran portaobjetos a partir del bloque tumoral FFPE suministrado por el cliente empleando para ello un microtomo estándar. El ARN total se extrae de las secciones de tejido utilizando un kit de aislamiento estándar disponible comercialmente. La muestra de ARN se purifica, se amplifica y se etiqueta con un tinte fluorescente de cianina-CTP/dUTP.

La muestra de ARN/ADNc se hibrida en un microarray de diagnóstico de diseño específico (8-pack, Agilent Technologies).

Se utiliza un escáner de microarray de Agilent para escanear el microarray de diagnóstico, y el resultado es un archivo de escáner (TIFF). Este archivo se utiliza en el software de extracción de atributos de Agilent. El software de extracción de atributos analiza el archivo de escáner (TIFF) determinando las intensidades fluorescentes relativas de los atributos individuales frente al archivo de diseño del chip de microarray de diagnóstico (como plantilla) para identificar atributos de control, atributos de normalización y atributos de genes reporteros. Las intensidades fluorescentes de los atributos son una medida de la expresión de determinados genes.

d) Análisis y notificación de datos

El análisis de datos se lleva a cabo según un algoritmo BluePrint específico que calcula los Índices BluePrint y determina el subtipo molecular de la muestra (tipo basal, tipo luminal o tipo HER2).

Se aplican controles de calidad exhaustivos (>25) para garantizar un resultado analítico correcto. Los controles de calidad y el resultado se notifican y son aprobados internamente por el Director del Laboratorio.

e) Elaboración de informes

El proveedor de asistencia sanitaria solicitante recibe un Informe de la paciente, así como un Resumen de resultados, para cada test de microarray BluePrint FFPE solicitado. En cuanto al tratamiento de los datos personales de las pacientes, consulte nuestras condiciones de tratamiento de datos en la Política de privacidad de Agendia.

Limitaciones del procedimiento

BluePrint ha sido validado únicamente para el uso con tejido tumoral de cáncer de mama en mujeres. El análisis de otros tipos de especímenes puede producir resultados incorrectos o ningún resultado. La fiabilidad de los resultados depende de la aplicación de procedimientos adecuados para la recogida y transporte del espécimen.

BluePrint ha sido validado específicamente para tumores de carcinoma invasivo ductal o lobular. El análisis de otros tipos de especímenes (p. ej. ganglios linfáticos) no ha sido evaluado.

Valores esperados

El test BluePrint FFPE clasifica las muestras de tejido de cáncer de mama en tres subtipos distintos: tipo luminal, tipo HER2 y tipo basal. El subtipo con el mayor valor del índice determina el subtipo molecular del tumor.

Tipo luminal

Los cánceres de mama de tipo luminal se caracterizan por la expresión génica de las células epiteliales luminales que recubren los conductos y glándulas mamarios.

Tipo HER2

Los cánceres de mama de tipo HER2 se caracterizan por la amplificación o sobreexpresión del locus del gen HER2. Los cánceres de tipo HER2 suelen ser tumores HER2-positivos por IHC o FISH (HER2/neu positivo). Un resultado de Blueprint de tipo HER2 significa que el fenotipo tumoral se asemeja en mayor medida al subtipo intrínseco HER2.

Tipo basal

Los cánceres de mama de tipo basal se caracterizan por la expresión génica de las células basales/mioepiteliales de origen. Los cánceres de tipo basal suelen ser triplemente negativos para ER, PR y HER2 con un perfil de expresión génica específico.

Un resultado de Blueprint de tipo basal significa que el fenotipo tumoral se asemeja en mayor medida al subtipo intrínseco basal.

Características de rendimiento

Las características de rendimiento investigadas para Blueprint incluyen: precisión y reproducibilidad, rango de registro, especificidad analítica y límite de detección.

Rendimiento analítico

La concordancia de los resultados de los tejidos Fresh y FFPE se evaluó en dos estudios en los que se observó que era del 97 % (n = 413) y del 90 % (n = 55), sin sesgo en los resultados de Blueprint entre los tipos de tejido.

Blueprint también es estable en el tiempo con una reproducibilidad de entre el 97,6 % y el 98,9 %, así como es reproducible entre diferentes aislamientos del mismo tejido donde no se observaron diferencias significativas ni en el subtipo (Prueba Q de Cochran, p = 1,0) ni en los índices (prueba ANOVA para tipo luminal p = 0,850, HER2 p = 0,725 y basal p = 0,400). La reproducibilidad de Blueprint entre diferentes ubicaciones fue del 100 %, así como también fue del 100 % entre diferentes escáneres. Además, se observó una elevada precisión (98,6 %) y repetibilidad (99 %)(6).

Asimismo, en cuanto al array del FG (array del genoma completo), no se encontraron diferencias entre los resultados de los aislamientos repetidos de ARN, la precisión (98,98 %, 98,87 % y 98,84 % para tipo luminal, HER2 y basal, respectivamente), la reproducibilidad (98,71 %, 98,43 % y 98,24 % para tipo luminal, HER2 y basal, respectivamente) y la repetibilidad (99,08 %, 99,03 % y 98,96 % para tipo luminal, HER2 y basal, respectivamente), y la concordancia entre los resultados del 8pack y el array del FG de dos conjuntos de datos independientes resultó ser del 98,91 % (n = 92) y del 99,86 % (n = 698).

El rango de registro del Índice de Blueprint FFPE es la correlación del perfil de expresión con las plantillas (los niveles medios de expresión de ARNm de tumores de tipo luminal, basal y HER2). Después, se determina el subtipo molecular de la muestra mediante el que tenga el Índice Blueprint más alto.

Se realizó un estudio de interferencia en el array del FG para evaluar la interferencia o no de cuatro sustancias relevantes en los resultados de Blueprint FFPE. Los resultados mostraron que la contaminación del ADN hasta 2,5 veces los niveles de fondo y los picos de proteínas durante el aislamiento del ARN, así como el remanente de

etanol y de perlas AMPure XP durante la purificación del ADNc, no afectaron a los resultados de BluePrint. En general, los componentes de tejido interferentes no influyen en el resultado de BluePrint, ya que la serie tumoral original ha sido representativa de los especímenes de cáncer de mama y, también en este caso, los otros componentes de tejido se distribuyeron aleatoriamente y no estaban relacionados con el resultado de enfermedad⁽¹⁾.

Para evaluar el límite de detección (LDD), se compararon los resultados de BluePrint FFPE con las distintas diluciones y se observó que los resultados eran muy estables incluso con cantidades muy bajas de ADNc en el array. Según los resultados, el límite de detección para la cantidad de ADNc es de 900 ng. Además, se observó que el LDD para la cantidad de ARN procedente de un estudio independiente era de 19,98 ng.

Solicitud del test

Su persona de contacto en Agendia le proporcionará un kit de recogida de muestras. Haciendo uso del kit, coloque la muestra tumoral en los portaobjetos según lo indicado en las instrucciones, o prepare un bloque FFPE. Realice su solicitud a través de nuestro portal online o rellenando el formulario de solicitud del test que encontrará en el kit de recogida de especímenes; encontrará más detalles en las instrucciones de uso de este kit.

Si necesita asistencia o información adicional, póngase en contacto con nosotros en Customerservice@agendia.com o en el teléfono +31 (0)20 462 1510.

Referencias

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

Advertencia:

Notifique cualquier incidente grave relativo a BluePrint FFPE al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro. El fabricante notificará dicho incidente grave a la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el usuario/la paciente.

Enmiendas de Mejora de Laboratorios Clínicos

(CLIA) Certificados de acreditación: Agendia, Inc.:
05D1089250

Datos de fabricación



Agendia NV
Radarweg 60
1043 NT Ámsterdam, Países Bajos
Teléfono: +31 (0)20 462 1510
Correo electrónico:
customerservice@agendia.com

Dirección del Laboratorio de Servicios
Diagnósticos de Agendia Agendia, Inc.:
22 Morgan,
Irvine, CA 92618, EE. UU.
Teléfono: +1 888 321 2732
Fax: +1 866 756 7548
www.agendia.com

UDI-DI básico: 0850024841BlueprintBB



© 2021 Agendia, NV. Todos los derechos reservados. Agendia, el logo de Agendia y BluePrint son marcas registradas de Agendia, NV.

MKT-518-2

Fecha de emisión: Febrero de 2025

Modificaciones a la versión anterior

Versión 2 - Actualización del uso previsto, la sección de referencias, las características de rendimiento y las advertencias y precauciones

Publicación inicial – Noviembre de 2022