

## Kullanım Talimatları - BluePrint FFPE Mikro Dizin

### Giriş

BluePrint testi, meme kanserini üç farklı alt tipe ayıran bir moleküler alt tiplendirme analizidir: gen ifadesi kullanılarak tümörün gerçek biyolojik profiline göre Luminal Tip, HER2 Tipi ve Bazal Tip. Histopatolojik özelliklerine göre bire bir aynı görünebilen tümörler aslında çok farklı klinik sonuçlara sahip olabileceğinden moleküler alt tiplendirme, tedavi atamasını iyileştirir. <sup>(1,2,3)</sup>

200 ilk meme kanseri hastası örneği ve dört bağımsız doğrulama kohortu (n=748) kullanılarak 80 genlik BluePrint profili oluşturulmuştur. <sup>(1)</sup> BluePrint; Luminal Tip, HER2 Tipi ve Bazal Tip olmak üzere üç intrinsik meme kanseri alt tipini birbirinden ayırır. Bu intrinsik alt gruplar, gen ifadesi panelleri kullanılarak standart IHC/FISH değerlendirmesine kıyasla daha doğru bir şekilde tanımlanır. <sup>(2,4)</sup>

BluePrint testi, tümör dokusu örneklerinden izole edilen RNA'yı özel cam mikro dizin lamalarının üzerinde teste tabi tutarak bir doku örneğindeki 80 spesifik genin ifade profilini analiz eder. BluePrint, tescilli bir algoritma kullanarak 80 genli profilin üç farklı moleküler alt tiplendirme sentroidinin her biriyle olan korelasyon indeksini belirler: Luminal Tip, HER2 Tipi ve Bazal Tip.

### ***Kullanım Amacı***

BluePrint FFPE, moleküler alt tipin belirlenmesi için formalinle fikse edilmiş parafine gömülü (FFPE) meme kanseri doku örneklerinden elde edilen gen ifadesi profili kullanılarak Agendia Tanı Hizmeti Laboratuvarı'nda gerçekleştirilen niteliksel, otomatik olmayan bir in vitro tanılama testidir.

BluePrint, meme kanseri olan hastalarda tedavi kararlarına rehberlik etmek için sistemik tedavi faydasının büyüklüğünü tahmin eder.

BluePrint genleri, kanserin temel özellikleri kapsamında meme kanseri hücrelerinin hayatta kalma, çoğalma, yayılma ve metastaz yapma olmak üzere çok adımlı gelişimine dair özellikleri ölçer<sup>(5)</sup>.

Test; Evre I, Evre II veya Evre III hastalığı olan kadın meme kanseri hastaları için gerçekleştirilir. BluePrint® FFPE sonucu, hekimler tarafından kullanım için endikedir ve diğer klinikopatolojik faktörlerle birlikte yorumlanmalıdır.

### ***Hedef Kullanıcı***

BluePrint FFPE mikro dizinin, kadın meme kanseri hastasını tedavi eden sağlık hizmeti sağlayıcısı tarafından talep edilmesi amaçlanmaktadır. Sağlık hizmeti sağlayıcısı, BluePrint FFPE mikro dizin testini talep ederek Agendia'dan Agendia Tanı Hizmeti Laboratuvarı'nda örnek üzerinde test gerçekleştirmesini talep etmiş olur.

### ***Test Prensipleri***

Analiz, çeşitli otomatik olmayan proselere dayanır: RNA'nın FFPE meme kanseri dokusu kesitlerinden izole edilmesi; RNA'nın revers transkripsiyonu sonucunda cDNA'nın elde edilmesi; cDNA'nın çoğaltılması ve etiketlenmesi; çoğaltılmış ve etiketlenmiş cDNA'nın diyagnostik mikro dizine hibritleştirilmesi; diyagnostik mikro dizinin yıkanıp taranması ve veri toplama (özellik çıkarımı); moleküler alt tipin hesaplanması ve belirlenmesi (BluePrint).

BluePrint analizi, bir doku örneğindeki belirli genlerin aktivitesini belirlemek için tasarlanmıştır. Sonuç, bir ifade profilidir ya da örneğin "parmak izi"dir. İfade profilinin şablonlar ile korelasyonu (Luminal Tip, Bazal Tip ve HER2 Tipi tümörlerin ortalama mRNA ifade seviyeleri) hesaplanır (BluePrint İndeksi) ve örneğin moleküler alt tipi belirlenir (ör. Bazal Tip, Luminal Tip, HER2 Tipi).

### **Uyarılar ve Önlemler**

---

Talep formundaki hasta kimliği, laboratuvar prosesinde örnekle doğru bir şekilde eşleştirilmesi gereken dâhilî bir tanımlayıcı oluşturan LIMS sistemindeki örnek kimliğiyle doğru bir şekilde eşleşmelidir.

Test talep formunu doğru bilgilerle doldurun

BluePrint testi için seçilen örnek; kadın meme kanseri, erken evre, en az %30 tümör hücresi içeriği dâhil ancak bunlarla sınırlı olmamak üzere kullanım amacı popülasyonu kriterlerine uygun olmalıdır.

BluePrint sonuçları, standart klinikopatolojik faktörlere ek olarak hekimler tarafından kullanım için endikedir. Test, hastalığın sonucunu belirlemek için tasarlanmamıştır.

### **Prosedür**

---

#### **a) Hasta seçimi**

Evre I, Evre II veya Evre III meme kanseri tanısı konulan hastalar uygundur.

#### **b) Örneklerin Toplanması, Kaydedilmesi ve Nakliyesi.**

Örneğin toplanması, taşınması ve hazırlanmasına ilişkin koşullar, kullanım talimatları aracılığıyla müşteriye sunulur: MKT-067. Bu kite aşağıdakiler dâhildir:

- 10 mikroskop lamı
- 2 beş lam taşıyıcı
- Küçük ve geniş fermuarlı plastik çanta
- Örnek alım talimatları
- Test Talep Formu
- Barkod etiketlerinin bulunduğu etiket sayfası
- Nakliye materyalleri

Örnek kaydı, siparişi veren sağlık hizmeti sağlayıcısı tarafından bildirimle başlatılır. Bu bildirim (Test Talep Formu), çevrimiçi müşteri portalı veya diğer iletişim kanalları aracılığıyla sunulabilir. Agendia, ilişkili tüm örnek ve hasta bilgilerini kaydeder. Örnek, siparişi veren sağlık hizmeti sağlayıcısı tarafından, ortam sıcaklığında olacak şekilde, sağlanan kurye taşıma malzemeleri kullanılarak doğrudan Agendia Tanı Hizmeti Laboratuvarı'na gönderilir.

#### **c) Agendia'da Örnek Analizi**

FFPE doku örnekleri için FFPE doku kesitlerinin olduğu, müşteri tarafından sağlanan cam lamalar kullanılır veya lamalar, standart bir mikrotom kullanılarak FFPE tümör blokundan yapılır. Total RNA, ticari olarak kullanıma sunulan standart izolasyon kiti kullanılarak doku kesitlerinden çıkarılır. RNA örneği, siyanin-CTP/dUTP floresan boya ile saflaştırılır, çoğaltılır ve etiketlenir.

RNA/cDNA örneği, özel olarak tasarlanan diyagnostik mikro dizin (8'li paket, Agilent Technologies) üzerinde hibritleştirilmiştir.

Agilent mikro dizin tarayıcısı, diyagnostik mikro dizini taramak için kullanılır ve sonuç, bir tarama dosyasıdır (TIFF). Bu dosya, Agilent Özellik Çıkarma Yazılımı tarafından kullanılır. Özellik Çıkarma Yazılımı, kontrol özelliklerini, normalizasyon özelliklerini ve raportör gen özelliklerini tanımlamak için bir şablon olarak diyagnostik mikro dizin çip tasarımı dosyasına karşılık bireysel özelliklerin ilgili floresan yoğunluklarını belirleyerek tarama dosyasını (TIFF) analiz eder. Özelliklerin floresan yoğunlukları, özel genlerin ifadesi için bir ölçümdür.

#### **d) Veri Analizi ve Raporlama**

Veri analizi, Blueprint İndeksleri'ni hesaplayan ve örneğin moleküler alt tipini (Bazal Tip, Luminal Tip veya HER2 Tipi) belirleyen özel Blueprint algoritmasına göre gerçekleştirilir.

Doğru analitik sonucu elde etmek adına Kapsamlı Kalite Kontrolleri (>25) uygulanır. Kalite Kontrolleri, sonuçla birlikte Laboratuvar Direktörü tarafından dâhilî olarak raporlanır ve onaylanır.

#### **e) Raporlama**

Sipariş edilen her Blueprint FFPE mikro dizin testi için siparişi veren sağlık hizmeti sağlayıcısına Hasta Raporu ve Sonuç Özeti gönderilir. Hastaların kişisel verileri konusunda lütfen Agendia'nın Gizlilik Politikasında yer alan veri işleme şartlarımıza bakın.

#### **Prosedürün Sınırları**

Blueprint yalnızca kadın meme kanseri tümörü dokusu ile kullanım için doğrulanmıştır. Diğer örnek türlerinin test edilmesi durumunda hatalı sonuçlar ortaya çıkabilir ya da hiçbir sonuç alınamayabilir. Güvenilir sonuçlar, yeterli örnek toplanmasına ve taşıma prosedürlerine bağlıdır.

Blueprint, özellikle invaziv duktal karsinom veya lobüler karsinom tümörleri için doğrulanmıştır. Diğer örnek türlerinin test edilmesi (ör. lenf nodları) konusunda değerlendirme yapılmamıştır.

#### **Beklenen Değerler**

Blueprint FFPE testi, meme kanseri dokusu örneklerini üç farklı alt tipe ayırır: Luminal Tip, HER2 Tipi ve Bazal Tip. En yüksek indeks skoruna sahip alt tip, tümörün moleküler alt tipini belirler.

##### *Luminal Tip*

Luminal Tip meme kanserleri, meme kanallarını ve salgı bezlerini oluşturan luminal epitel hücrelerin gen ifadesi ile karakterizedir.

##### *HER2 Tipi*

HER2 Tipi meme kanserleri, HER2 loküsünün çoğaltılması veya aşırı ifadesi ile karakterizedir.

HER2 Tipi kanserler tipik olarak IHC veya FISH'ye (HER2/neu pozitif) göre HER2 pozitif tümörlerdir. HER2 Tipteki bir Blueprint sonucu, tümör fenotipinin en fazla HER2 Tipi intrinsik alt tipe benzediği anlamına gelir.

##### *Bazal Tip*

Bazal Tip meme kanserleri, bazal/miyoeptilyal kök hücrelerin gen ifadesi ile karakterizedir. Bazal Tip kanserler tipik olarak ER, PR veya HER2 için üçlü negatiftir ve özel bir gen ifadesi profiline sahiptir.

Bazal Tipteki bir Blueprint sonucu, tümör fenotipinin en fazla Bazal Tip intrinsik alt tipine benzediği anlamına gelir.

### **Performans Özellikleri**

Blueprint için incelenen performans özellikleri şunlardır: kesinlik ve yeniden üretilebilirlik, raporlanabilir aralık, analitik özgüllük ve saptama sınırı

#### **Analitik performans**

Yeni ve FFPE dokularından elde edilen sonuçların uyumu iki çalışmada değerlendirilmiş olup Blueprint sonuçlarında doku türleri arasında yanlılık olmaksızın %97 (n=413) ve %90 (n=55) olarak belirlenmiştir.

Blueprint ayrıca zaman içinde kararlı olup aynı dokunun farklı izolasyonları arasında %97,6 ile %98,9 arasında yeniden üretilebilirlik göstermiştir ve alt tip (Cochran Q testi, p=1,0) ve indekslerde (ANOVA Luminal p=0,850, HER2 p=0,725 ve Bazal p=0,400) anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. Blueprint'in yeniden üretilebilirliği farklı konumlar arasında ve farklı tarayıcılar arasında %100 olmuştur. Ayrıca yüksek düzeyde kesinlik (%98,6) ve tekrar edilebilirlik (%99) gözlemlenmiştir (6).

Ek olarak, FG dizisi için tekrarlanan RNA izolasyonlarının sonuçları arasında kesinlik (sırasıyla Luminal, HER2 ve Bazal için %98,98, %98,87 ve %98,84), yeniden üretilebilirlik (sırasıyla Luminal, HER2 ve Bazal için %98,71, %98,43 ve %98,24) ve tekrar edilebilirlik (sırasıyla Luminal, HER2 ve Bazal için %99,08, %99,03 ve %98,96) açısından herhangi bir fark tespit edilmemiş ve iki ayrı veri setinin 8'li paket ve FG dizisi sonuçları arasındaki uyumun %98,91 (n = 92) ve %99,86 (n = 698) olduğu görülmüştür.

Blueprint FFPE indeksinin raporlanabilir aralığı, ifade profilinin şablonlar ile korelasyonudur (Luminal tip, Bazal tip ve HER2 tipi tümörlerin ortalama mRNA ifade seviyeleri). Örneğin moleküler alt tipi daha sonra Blueprint indeksi en yüksek olana göre belirlenir.

Dört ilgili maddenin Blueprint FFPE sonuçlarını etkileyip etkilemediğini değerlendirmek için tüm genom dizisi (FG dizisi) üzerinde bir interferans çalışması yürütülmüştür. Sonuçlar, RNA izolasyonu sırasında arka plan seviyelerinin 2,5 katına kadar DNA kontaminasyonunun ve protein artışlarının yanı sıra cDNA saflaştırması sırasında etanol ve AMPure XP Boncuklarının taşınmasının Blueprint sonuçlarını etkilemediğini ortaya koymuştur. Orijinal tümör serisi, meme kanseri örneklerini temsil ettiğinden ve burada ayrıca diğer doku bileşenleri rastgele dağılmış olup hastalık sonucuyla ilişkili olmadığından, interferans yapan doku bileşenleri genel olarak Blueprint sonucunu etkilemez<sup>(1)</sup>.

Saptama sınırını değerlendirmek için Blueprint FFPE sonuçları farklı seyreltmelerde karşılaştırılmış ve dizideki çok düşük cDNA girdilerinde dahi çok kararlı sonuçlar göstermiştir. Sonuçlara göre cDNA girdisi için saptama sınırı 900 ng'dir. Ayrıca farklı bir çalışmada RNA girdisi için saptama sınırı 19,98 ng olarak bulunmuştur.

### **Testin sipariş edilmesi**

Agendia iletişim kişiniz tarafından bir örnek toplama kiti sağlanacaktır. Kiti kullanarak tümör örneğini talimatlarla uygun şekilde lamlara ekleyin veya bir FFPE bloku hazırlayın. Çevrimiçi portalımız aracılığıyla veya Örnek Toplama kitinde yer alan test talep formunu doldurarak siparişinizi oluşturun. Ayrıntılı bilgi için bu kitin kullanım talimatlarına bakın.

Daha fazla destek veya bilgiye ihtiyacınız varsa lütfen [Customerservice@agendia.com](mailto:Customerservice@agendia.com) adresinden veya +31 (0)20 462 1510 numaralı telefondan bizimle iletişime geçin.

### Referanslar

1. Krijgsman ve ark. Breast Cancer Res Treat 2011; 133(1): 37-47
2. Glück ve ark. Breast Cancer Res Treat 2013; 139(3): 759-767
3. Whitworth ve ark. Ann Surg Oncol 2017; 24(3): 669-675
4. Beitsch ve ark. Ann Surg Oncol 2017; 24(9): 2539-2546
5. Haan ve ark. Genes Chromosomes Cancer 2021; (61):148-160
6. Mittempergher ve ark. Transl Oncol 2020; 13(4): 100756

### Tavsiye:

BluePrint FFPE ile ilgili ciddi olayları üreticiye ve Üye Ülkenin yetkili makamına bildirin. Üretici, ciddi durumları kullanıcının/hastanın bulunduğu Üye Ülkenin yetkili makamına bildirecektir.

### Klinik Laboratuvar İyileştirme Değişiklikleri (CLIA)

Akreditasyon Sertifikaları: Agendia, Inc.: 05D1089250

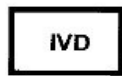
### Üretim Bilgileri



Agendia NV  
Radarweg 60  
1043 NT Amsterdam, Hollanda  
Telefon: +31 (0)20 462 1510  
e-posta: [customerservice@agendia.com](mailto:customerservice@agendia.com)

Agendia Tanı Hizmeti Laboratuvarı'nın adresi  
Agendia, Inc.:  
22 Morgan,  
Irvine, CA 92618, ABD  
Telefon: +1 888 321 2732  
Faks: +1 866 756 7548  
[www.agendia.com](http://www.agendia.com)

Temel UDI-DI: 0850024841BlueprintBB



© 2021 Agendia, NV. Tüm hakları saklıdır. Agendia, Agendia logosu ve BluePrint; Agendia, NV'nin tescilli ticari markalarıdır.

MKT-518-2

Yayın tarihi: Şubat 2025

**Önceki versiyona göre değişiklikler**

Versiyon 2 - kullanım amacının, referans bölümünün, performans özelliklerinin, uyarıların ve önlemlerin güncellenmesi

İlk sürüm - Kasım 2022