



GIẢI PHÁP XÉT NGHIỆM GEN TRONG ĐIỀU TRỊ ĐÍCH UNG THƯ

Ths. VŨ HỮU NGHIỆP
Head of Application Team

Ths. LÊ THỊ BÍCH THẢO
Application & Product Specialist



Mr. Vũ Hữu Nghiệp
Field Application Specialist



Mrs. Lê Thị Bích Thảo
Application & Product Specialist

Giới thiệu giải pháp xét nghiệm di truyền của hãng EntroGen, ứng dụng trong chẩn đoán và điều trị đích ung thư, nhằm hướng tới điều trị đích cho bệnh nhân thông qua hai nền tảng công nghệ tiên tiến:

- Real-time PCR
- Giải trình tự gen thế hệ mới

Chưa có xét nghiệm đơn lẻ để đưa ra kết quả chẩn đoán mắc ung thư

Quy trình chẩn đoán:

- Tiền sử cá nhân và gia đình
- Khám sức khỏe
- Xét nghiệm hình ảnh
- Xét nghiệm sinh thiết

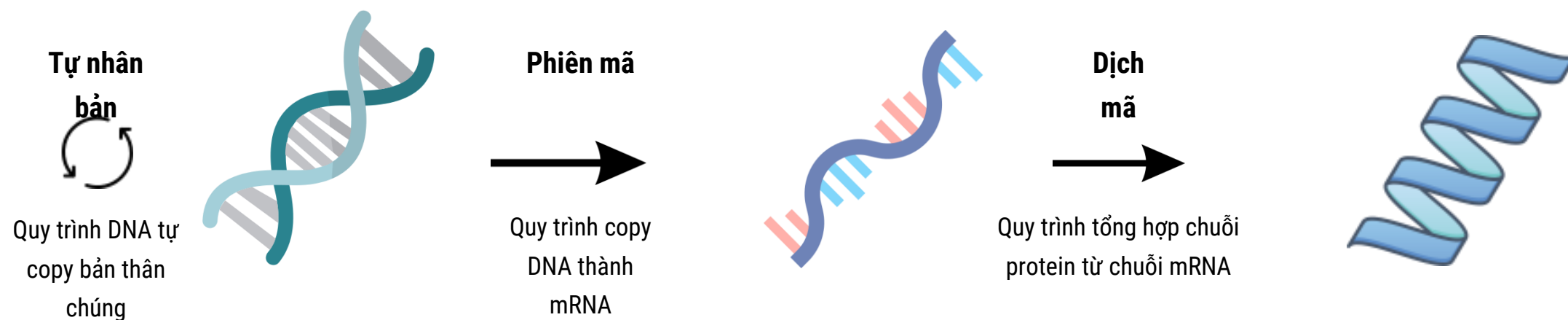


Sàng lọc & Chẩn đoán di truyền ung thư

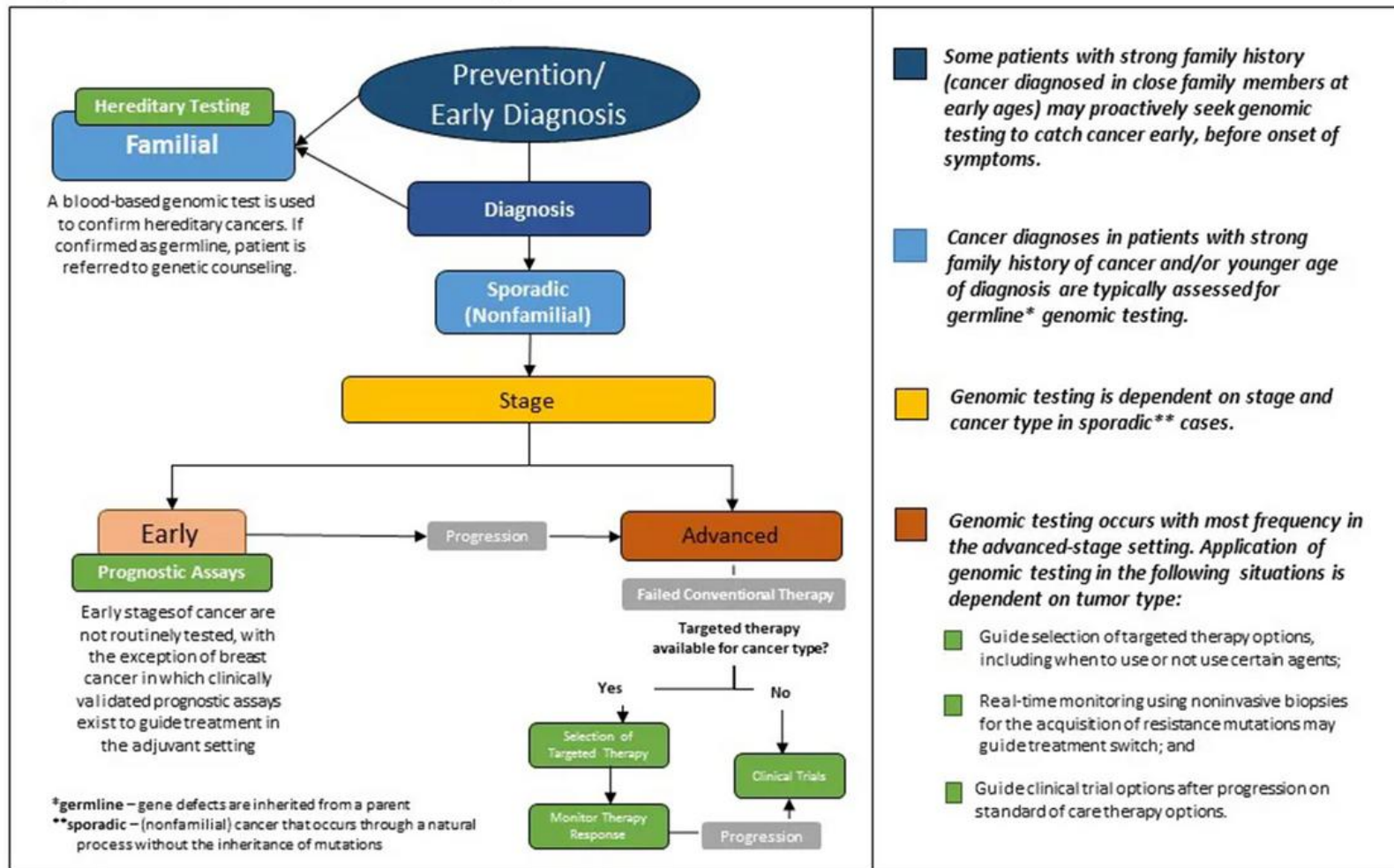


Tiêu chí	Sàng lọc	Chẩn đoán
Mục tiêu	Phát hiện nguy cơ tiềm ẩn mắc ung thư tại giai đoạn sớm để có thể điều trị hoặc chữa trị dễ dàng hơn	Xác định chính xác có hay không một bệnh di truyền cụ thể
Đối tượng được thực hiện	<ul style="list-style-type: none">-Có tiền sử về ung thư-Có tiền sử gia đình có người bị ung thư-Có đột biến gen liên quan đến ung thư-Tiếp xúc với tác nhân gây ung thư như khói thuốc lá, hóa chất...-Bị huyết khối không rõ nguyên nhân-Người cao tuổi.	Người đã có triệu chứng hoặc kết quả xét nghiệm sàng lọc gợi ý ung thư
Các phương pháp thực hiện	<ul style="list-style-type: none">-Physical exam và lịch sử-Xét nghiệm: tissue/blood/urine-Hình ảnh x-ray, CT hay MRI-Xét nghiệm di truyền-Physical exam và lịch sử-Xét nghiệm: tissue/blood/urine-Hình ảnh x-ray, CT hay MRI-Xét nghiệm di truyền	<ul style="list-style-type: none">-Tương tự sàng lọc-Sinh thiết là phương pháp chắc chắn để biết
Kết quả	<ul style="list-style-type: none">-Phát hiện ung thư trước khi có triệu chứng xuất hiện-Điều trị và chữa trị dễ hơn khi phát hiện sớm-Giảm nguy cơ tử vong do ung thư	<ul style="list-style-type: none">-Cho kết quả xác nhận bị ung thư, giai đoạn tiến triển bệnh, nhóm nguy cơ của bệnh nhân-Lập kế hoạch điều trị
Nguy cơ kết quả	<ul style="list-style-type: none">-Dương giả thì làm bệnh nhân lo lắng và làm các test phía sau-Âm giả thì dẫn đến không làm xét nghiệm chẩn đoán-Xét nghiệm quá nhiều-Tác dụng phụ gây tổn thương hoặc chảy máu	<ul style="list-style-type: none">- Kết quả không đúng dẫn đến việc điều trị không hiệu quả
Tính chính xác	Thường độ nhạy cao nhưng độ đặc hiệu thấp nên có khả năng dẫn đến dương tính giả và âm tính giả	Độ chính xác cao, thường dùng kỹ thuật chuyên sâu
Tâm lý người bệnh	Có thể gây lo lắng nếu kết quả nguy cơ nhưng không rõ ràng	Có thể gây sốc/tác động lớn nếu chẩn đoán dương tính

Học Thuyết Trung Tâm – Central Dogma



Theo học thuyết này, thông tin di truyền được lưu trữ trong DNA, sau đó được phiên mã (transcription) thành RNA, và cuối cùng được dịch mã (translation) thành protein – các phân tử thực hiện chức năng sinh học trong cơ thể.



Some patients with strong family history (cancer diagnosed in close family members at early ages) may proactively seek genomic testing to catch cancer early, before onset of symptoms.

Cancer diagnoses in patients with strong family history of cancer and/or younger age of diagnosis are typically assessed for germline* genomic testing.

Genomic testing is dependent on stage and cancer type in sporadic** cases.

Genomic testing occurs with most frequency in the advanced-stage setting. Application of genomic testing in the following situations is dependent on tumor type:

- Guide selection of targeted therapy options, including when to use or not use certain agents;
- Real-time monitoring using noninvasive biopsies for the acquisition of resistance mutations may guide treatment switch; and
- Guide clinical trial options after progression on standard of care therapy options.

SPRINGER NATURE Link

Find a journal Publish with us Track your research Search

Home > Journal of Translational Medicine > Article

Liquid biopsies: the future of cancer early detection

Review | [Open access](#) | Published: 11 February 2023

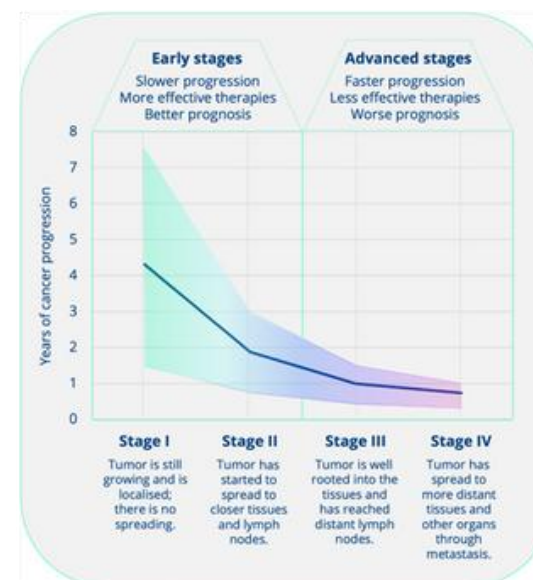
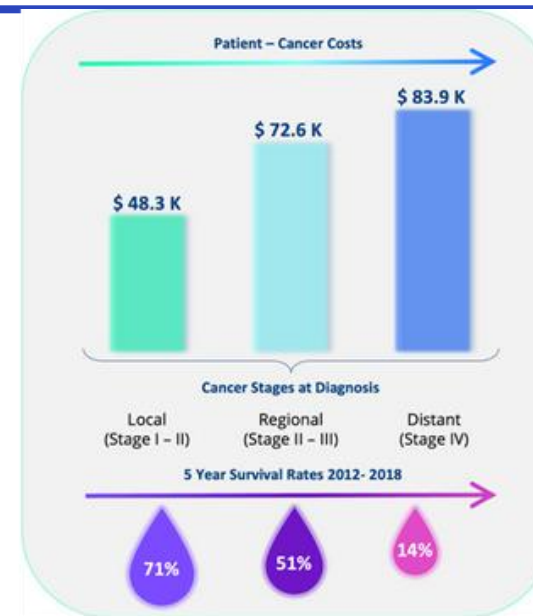
Volume 21, article number 118, (2023) [Cite this article](#)

Download PDF

✓ You have full access to this [open access](#) article

Siobhan Connal, James M. Cameron, Alexandra Sala, Paul M. Brennan, David S. Palmer, Joshua D. Palmer, Haley Perlow & Matthew J. Baker

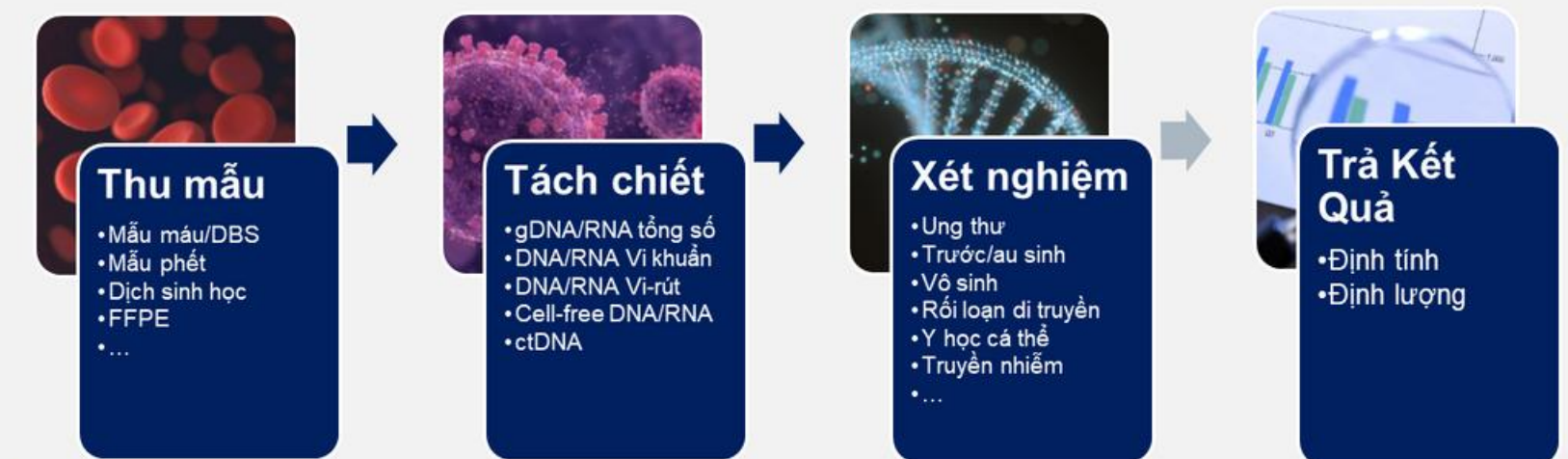
23k Accesses 156 Citations 126 Altmetric 17 Mentions [Explore all metrics](#)



Giải Pháp Xét Nghiệm Trọn Vẹn

Quy trình xét nghiệm sinh học phân tử được gói gọn trong các sản phẩm được Việt Huy phân phối để đáp ứng một quy trình hoàn thiện, dễ dàng quản lý và vận hành hiệu quả

Quy Trình Xét Nghiệm Sinh Học Phân Tử



Các sản phẩm của **Việt Huy** phân phối trong quy trình:

- ✓ Chứng nhận **CE-IVD** và/hoặc **FDA**
- ✓ **Giấy phép lưu hành** theo phân loại quy định của **Bộ Y Tế Việt Nam**
- ✓ Quy trình **đơn giản**, hiệu quả và ổn định

Giải pháp điều trị đích

- Ung thư đại trực tràng (CRC)

- Ung thư phổi (NSCLC)

- Bệnh máu ác tính (leukemia)

- Ung thư tuyến giáp

- Ung thư hắc tố

- U nguyên bào thần kinh đệm

- U mô đệm đường tiêu hoá (GIST)

- Ung thư vú, buồng trứng, tuyến tiền liệt

- Đa ung thư (pan-cancer)

realtime PCR

NGS

- Mẫu mô vùi nén (FFPE)

- Mẫu mô tươi đông lạnh

- Mẫu huyết tương

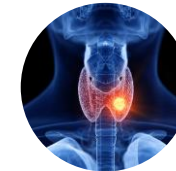
- Mẫu sinh thiết kim (FNA)

Đa dạng mẫu



NSCLC

- EGFR
- ALK, ROS1, RET, MET
- KRAS
- BRAF
- KRAS, BRAF



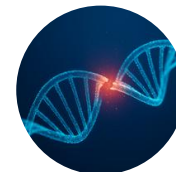
Thyroid

- BRAF, KRAS, NRAS, HRAS
- RET-PTC1/3, PAX8-PPAR γ



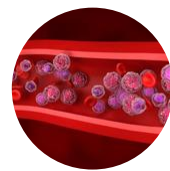
CRC

- KRAS, NRAS (RAS)
- BRAF
- PIK3CA
- MLH1^m
- RAS, BRAF, PIK3CA, AKT1



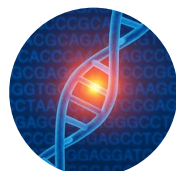
BRCA

- BRCA1
- BRCA2
- TP53
- CHEK2
- PALB2
- RAD51C



Leukemia

- IDH1/2
 - P210
 - P190
 - E2A-PBX1
 - TEL-AML1
 - MLL-AF4
 - PML-RAR α
 - CBFB-MYH11
 - AML1-ETO
- Đơn/đa gen



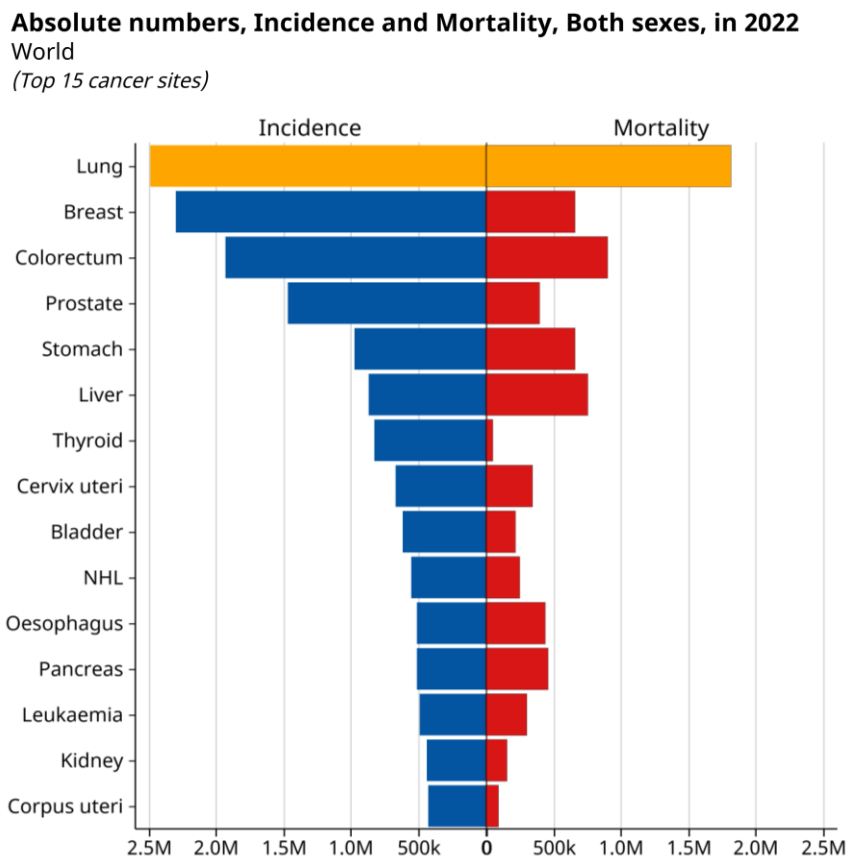
NGS Targeted Hotspot Panel

- EGFR
- KRAS
- NRAS
- HRAS
- BRAF
- ERBB2
- MET
- RET
- PIK3CA
- TP53
- TERT
- JAK2
- C-KIT
- PDGFRA
- IDH1, 2
- PTEN (*)

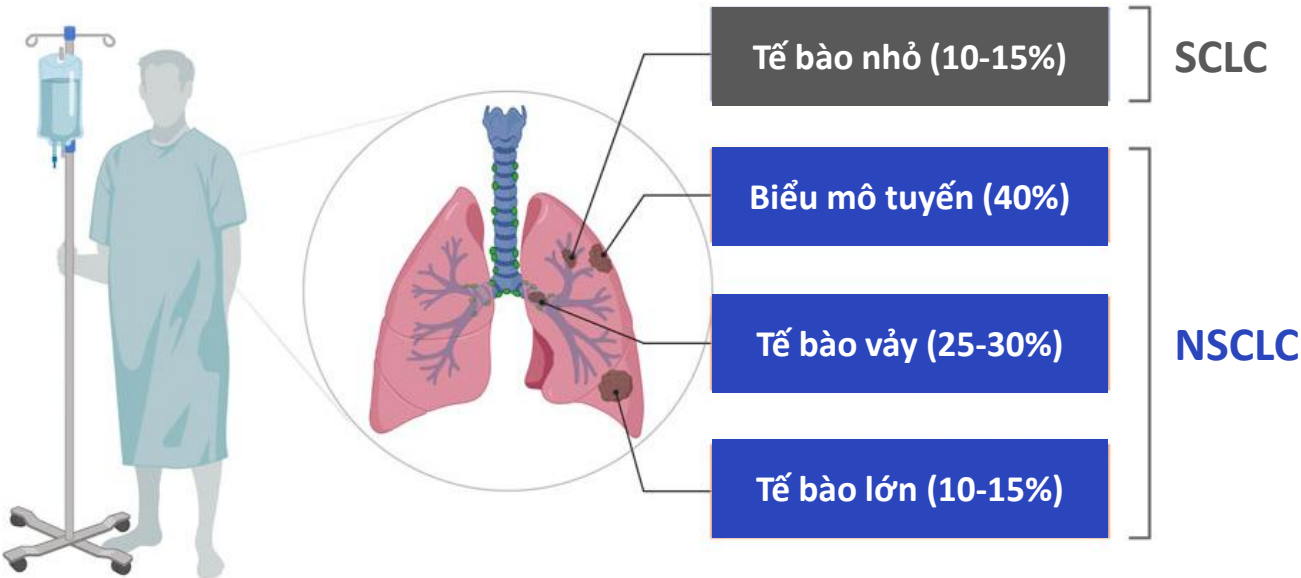
GIẢI PHÁP REAL-TIME PCR CHO UNG THƯ PHỔI



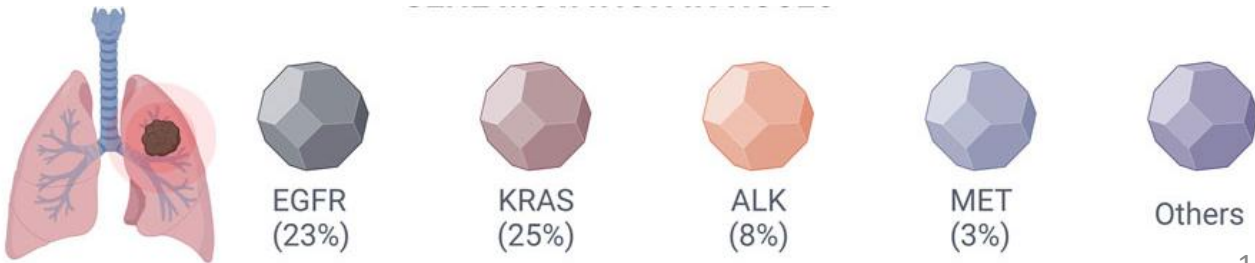
Loại ung thư phổ biến hàng đầu 2.5M ca mắc và 1.8M ca tử vong (2022)

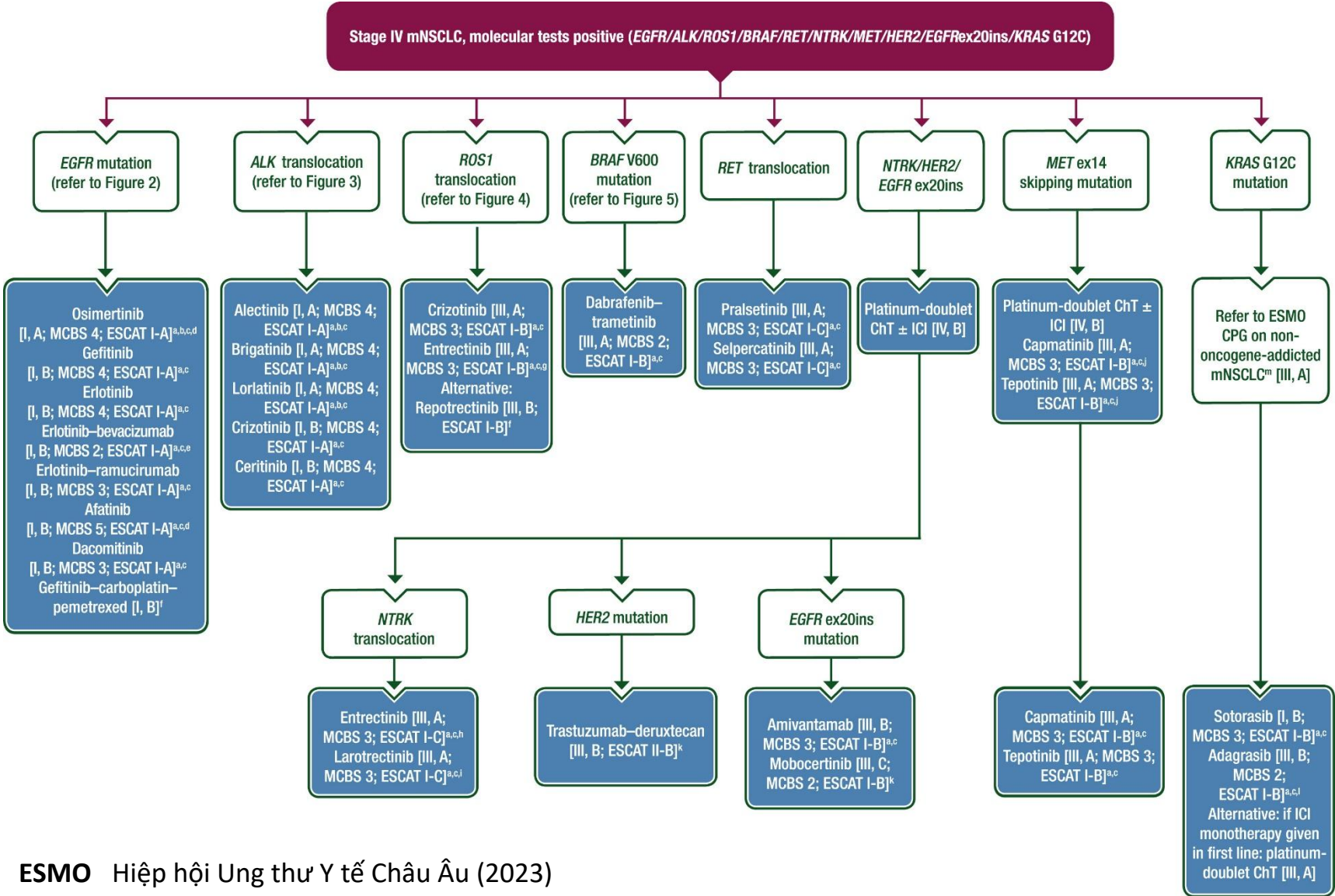


Phân loại ung thư phổi Ung thư phổi không tế bào nhỏ (NSCLC) chiếm 85%



Các đột biến NSCLC phổ biến

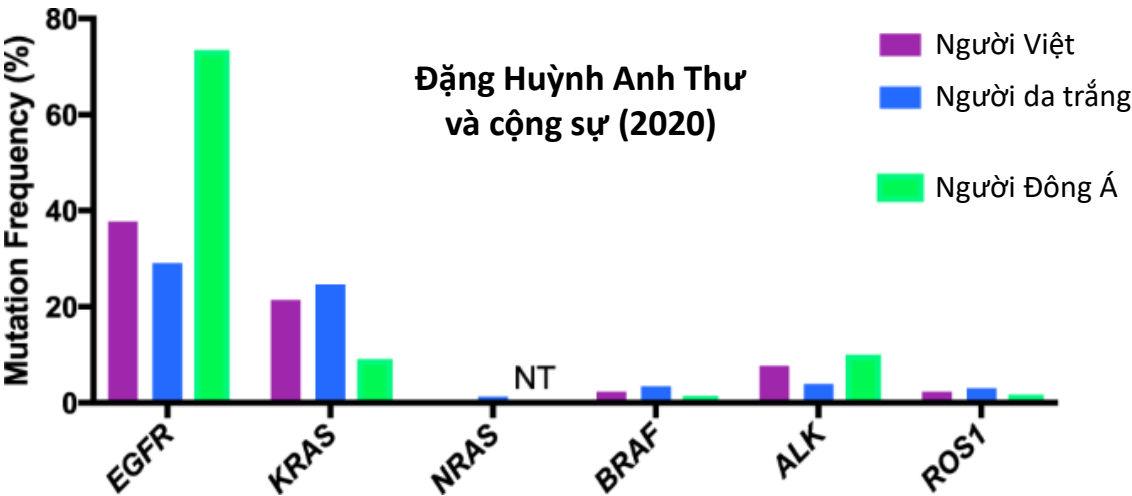




- Đột biến điều trị đích trong ESMO CPG 2023**
1. EGFR
 2. KRAS G12C
 3. BRAF V600
 4. ALK
 5. ROS1
 6. RET
 7. MET exon 14 skipping
 8. NTRK
 9. HER2

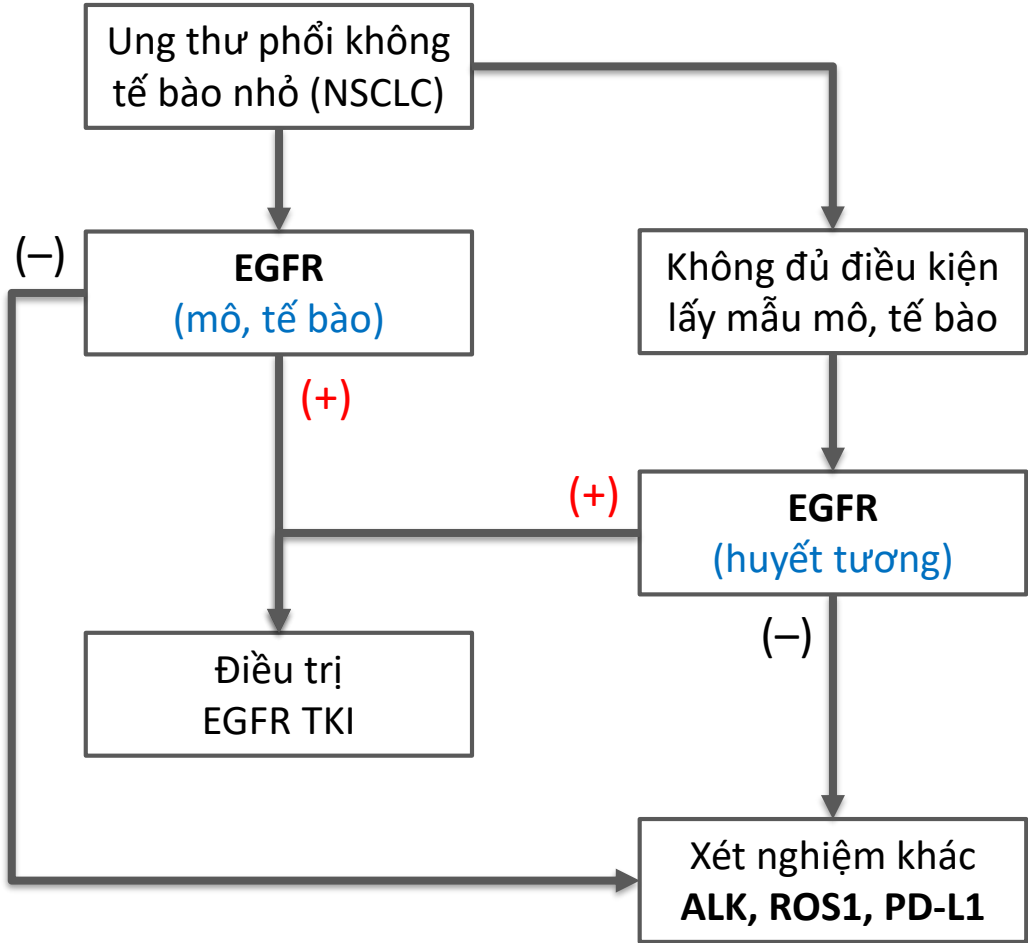
EGFR là đột biến phổ biến nhất ở người Việt

STT	Đột biến	Tỷ lệ ở VN
1	EGFR	37.7%
2	KRAS	21.4%
3	ALK	7.7%
4	ROS1	2.3%
5	BRAF	2.3%
6	NRAS	0.5%



Hướng dẫn của Bộ Y Tế Việt Nam

4825/QĐ-BYT (2018)



Giải pháp ung thư phổi



EGFR



KRAS, BRAF



KRAS G12C



NTRK



ALK, ROS1, RET, MET



PIK3CA



EGFR (ctDNA EGFR)

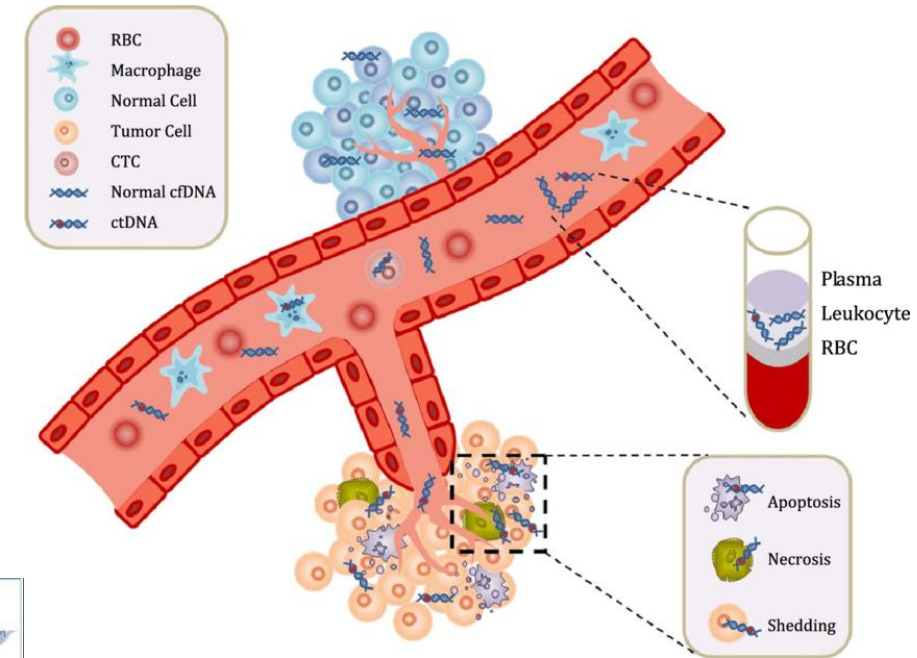


KRAS, NRAS

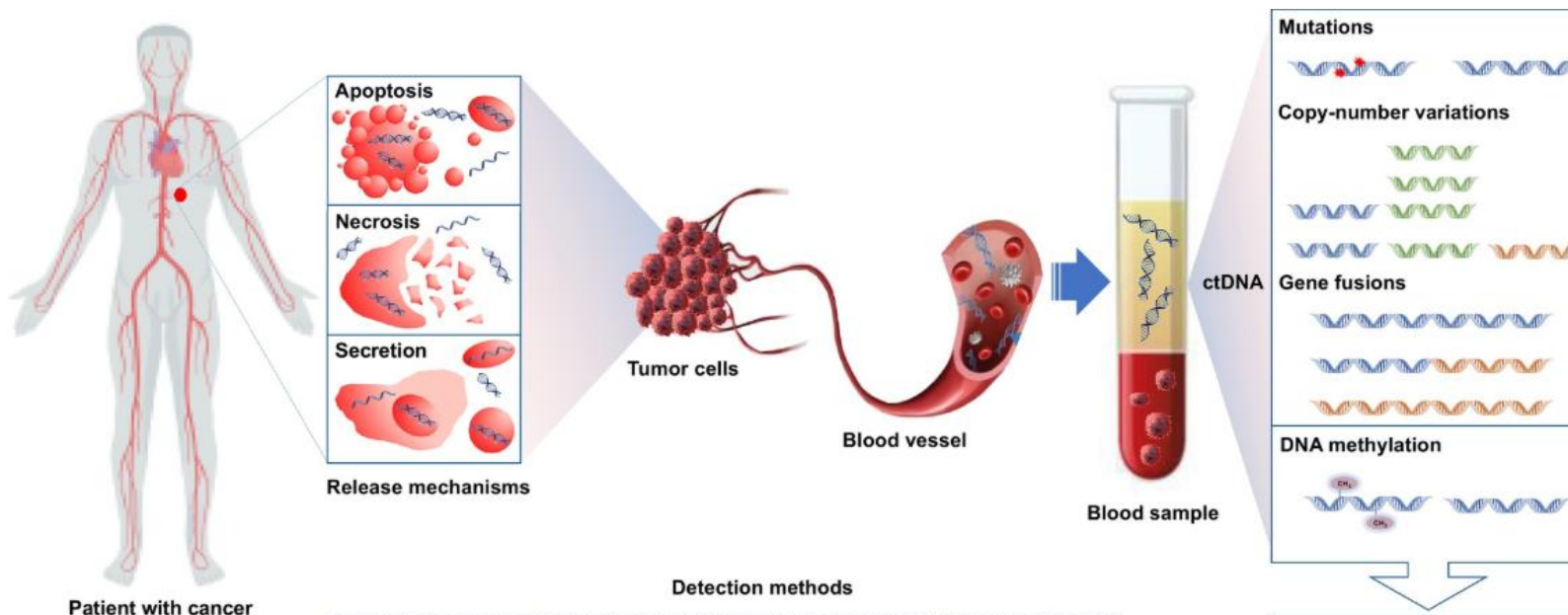


ctDNA là gì?

- **ctDNA (circulating tumor DNA)** là những đoạn DNA nhỏ được giải phóng vào máu từ các tế bào ung thư thông qua quá trình hoại tử, apoptosis hoặc phóng thích chủ động
- ctDNA là một phần của **cfDNA (cell-free DNA)**, nhưng có nguồn gốc từ tế bào ung thư
- Đặc điểm của ctDNA:
 - Thời gian bán hủy ngắn (thường dưới 2 giờ).
 - Chứa các đột biến đặc hiệu liên quan đến ung thư như: đột biến gen, methyl hóa, thay đổi số lượng bản sao (CNV), tái sắp xếp gen...



cfDNA: cell-free DNA
ctDNA: circulating tumor DNA
DNA: genomic DNA

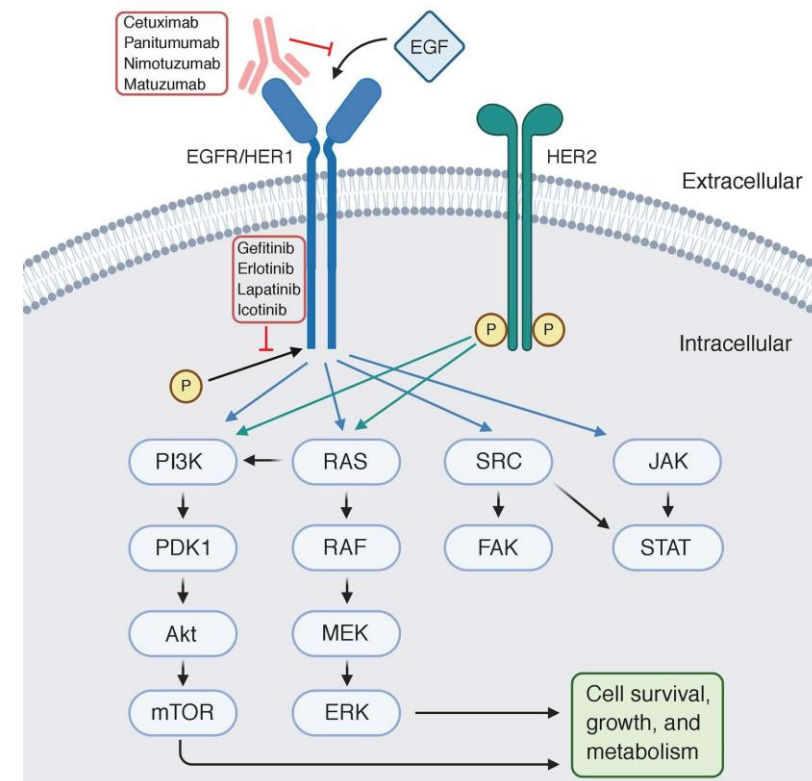
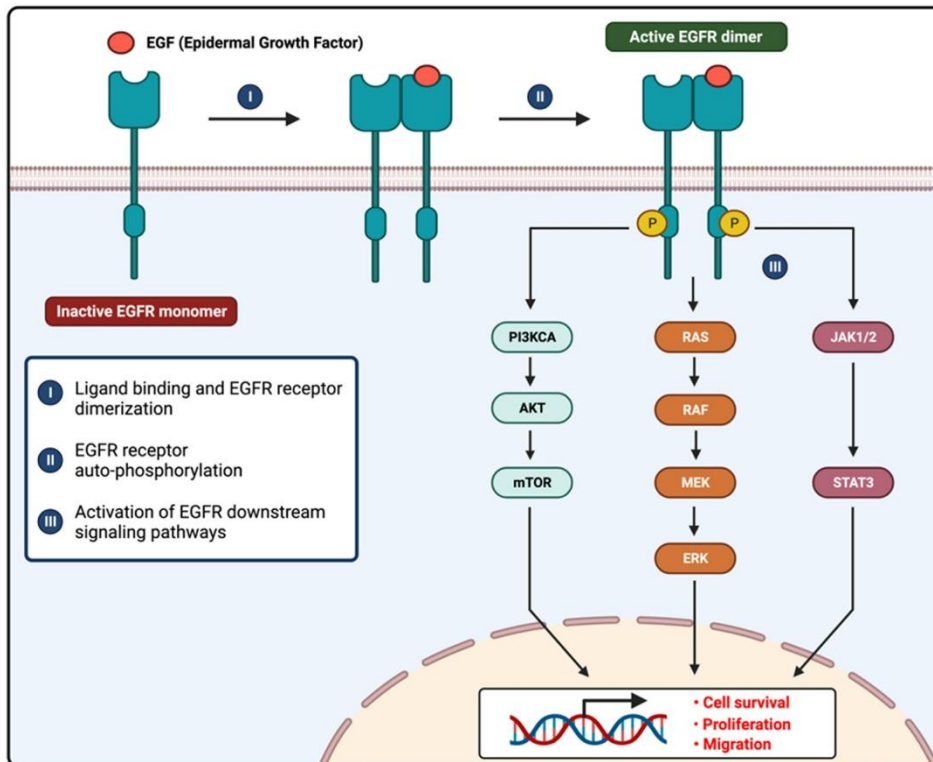


Liệu pháp EGFR-TKIs là gì?

Tín hiệu EGFR điều hòa sự hoạt hóa của một số con đường truyền tín hiệu nội bào chịu trách nhiệm duy trì các quá trình sinh lý của tế bào. Chúng bao gồm protein kinase hoạt hóa bởi mitogen (MAPK)/kinase điều hòa tín hiệu ngoại bào (ERK), phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt/mTOR, và con đường interleukin 6 (IL-6)/Janus kinase (JAK)/chất chuyển đổi tín hiệu và hoạt hóa phiên mã 3 (STAT3).

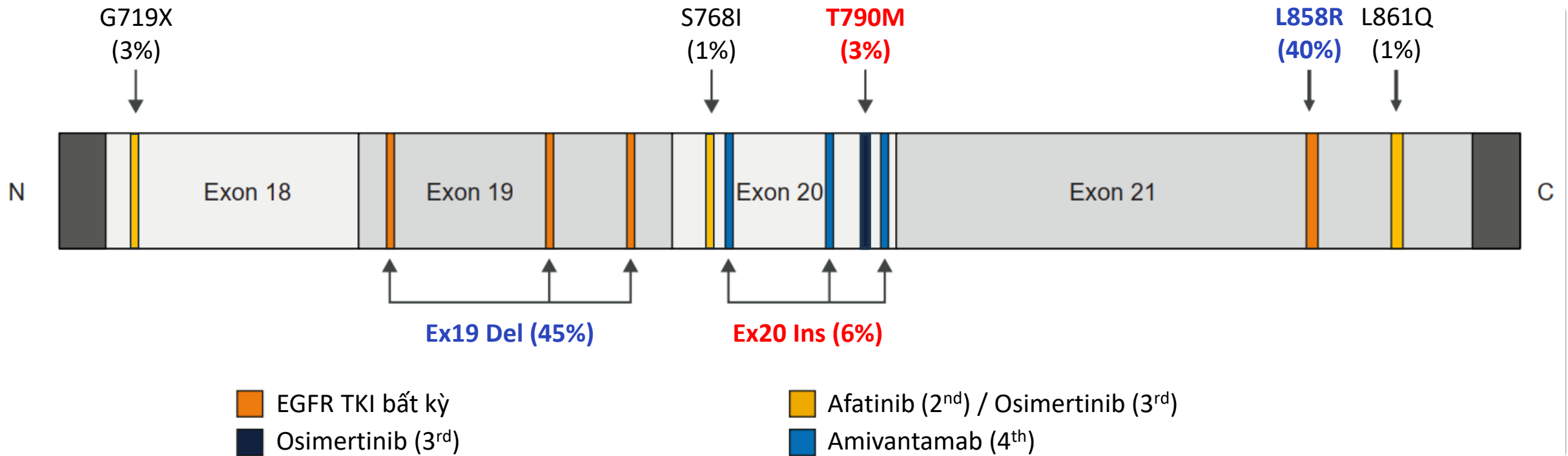
Tyrosine
Kinase
Inhibitors (TKIs)

là thuốc được thiết kế để ức chế miền tyrosine kinase của thụ thể EGFR, do đó làm gián đoạn quá trình hoạt hóa của nó và sự tham gia tiếp theo của các con đường truyền tín hiệu tiền ung thư



Đột biến EGFR trong NSCLC

Các đột biến EGFR quan trọng trong NSCLC



☐ C797S

Kháng TKI 3rd => TKI 1+3 hoặc Brigatinib-based*

☐ T790M + Q787Q SNP

Ảnh hưởng đến mức độ kháng thuốc

*đang nghiên cứu

Các giải pháp cho EGFR của EntroGen

EGFR Mutation Analysis Kit

- **Mẫu mô**
- **55 đột biến**
- Danh sách đột biến
 - T790M 1
 - Ex19 Del 44**
 - L858R 1
 - L861Q 1
 - S768I 1
 - G719X 4**
 - Ex20 Ins 3

ctDNA EGFR Mutation Detection Kit

- **Mẫu huyết tương**
- **58 đột biến**
- Danh sách đột biến
 - T790M+SNP 2**
 - Ex19 Del 44**
 - L858R 1
 - L861Q 1
 - S768I 1
 - G719X 4**
 - Ex20 Ins 3
 - C797S 2**

EGFR-RT52 52 test

Loại mẫu

- Mô vùi nén (FFPE)
- Mô tươi đông lạnh
- **Sinh thiết kim (FNA)**

QC DNA

- **Realtime PCR**
- Đo nồng độ

Yêu cầu mỗi phản ứng

- **10ng DNA**
- **Thể tích: 1-8µL**

CTEGFR-48 48 test

Loại mẫu

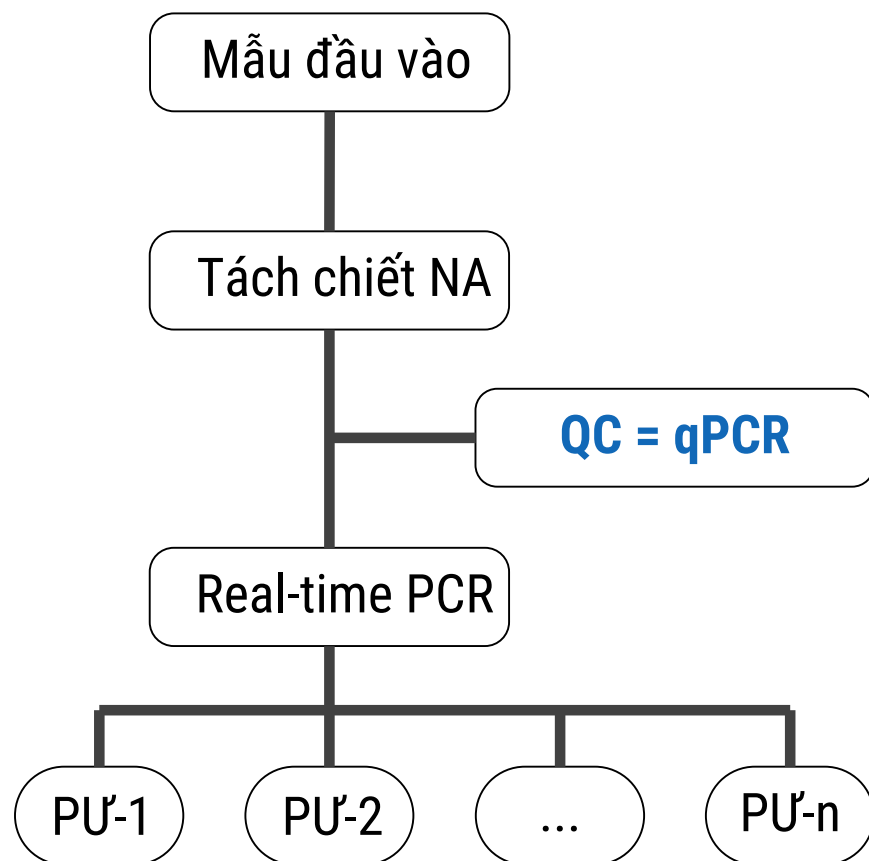
- Huyết tương

QC DNA

- Đo nồng độ

Yêu cầu mỗi phản ứng

- **1.5-15ng cfDNA**
- **Thể tích: 1-12µL**

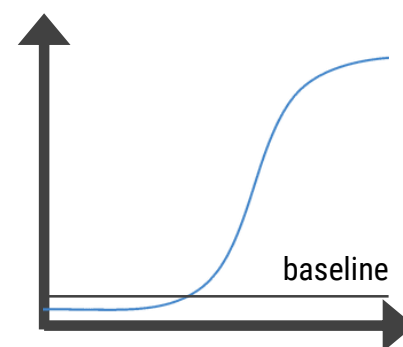


NA: nucleic acid
PU: phản ứng real-time
PCR

(Tuỳ chọn) Giải pháp kiểm soát chất lượng

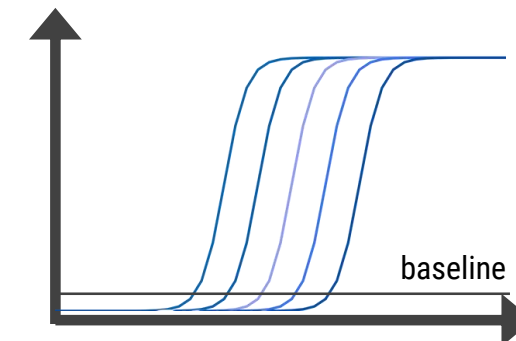
Đánh giá chất lượng DNA đầu vào bằng **real-time PCR** (độ nguyên vẹn và/hoặc hàm lượng DNA) giúp giảm rủi ro âm tính giả

Internal Quality Control Assay (IQCA)



- Đơn mục tiêu: IC
- Bán định lượng qua Ct

DNA Fragmentation Quantification Assay (FQA)



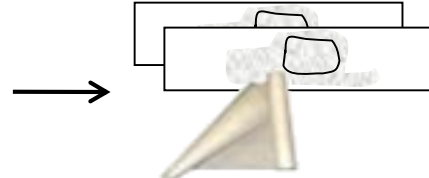
- Đa mục tiêu: 37, 150, 300bp
- Định lượng từng kích thước

Quy trình thực hiện

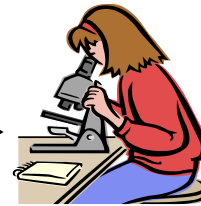
Mẫu FFPE



Block bướu



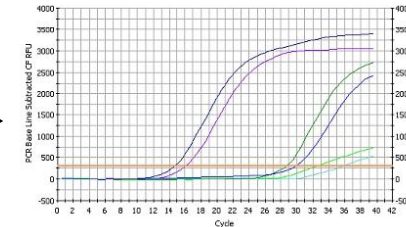
Cắt mỏng



Đ/giá Vi thể



DNA/RNA



qPCR phân tích

4 giờ

15 phút

1.5 giờ

15 phút

6 giờ

Tách chiết

Tách **DNA/RNA** mẫu
FFPE

Tách chiết cột lọc hoặc
hạt từ

Định lượng/ chuẩn hoá mẫu

Đo nồng độ
Real-time PCR

Yêu cầu nồng độ thấp

Phát hiện đột biến

**EGFR EntroGen's
assays**

Xác nhận trên nhiều dòng
máy qPCR

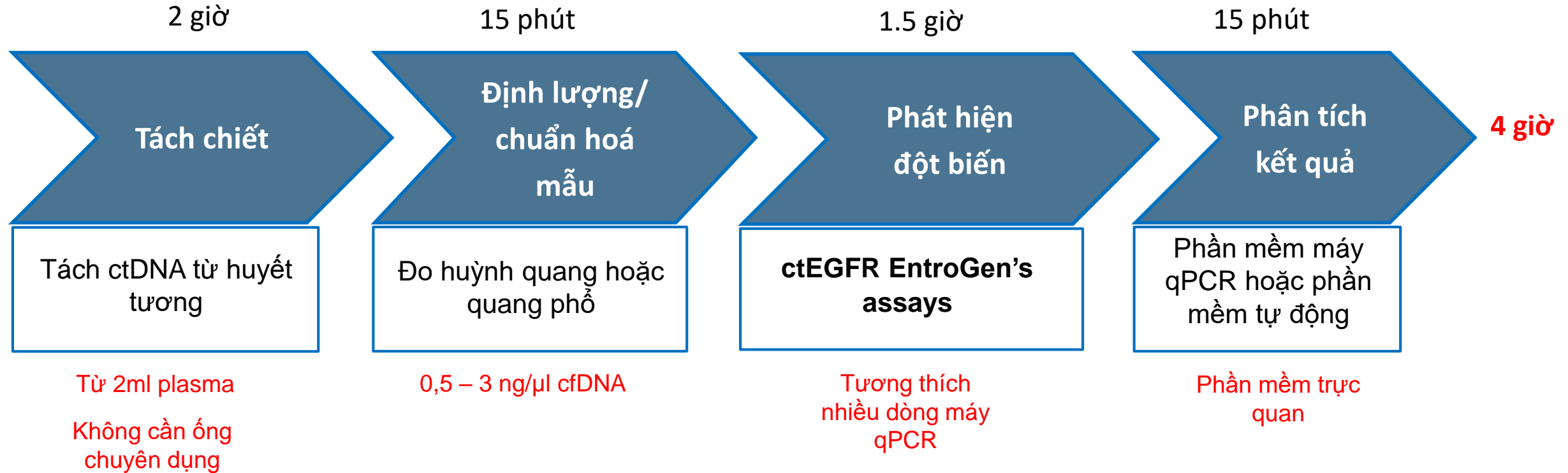
Phân tích kết quả

Phân tích với phần
mềm real-time
PCR hoặc phần
mềm tự động

Phần mềm trực
quan

Quy trình thực hiện

Mẫu ctDNA



Các thách thức về mẫu FFPE

- Vị trí sinh thiết
- Kích thước mẫu sinh thiết; thiếu mô là một trong những nguyên nhân chính trong hầu hết các trường hợp
- Kỹ thuật cố định mẫu (quá trình loại canxi, cố định mẫu, nhiệt độ cao)
- Tỷ lệ tế bào u
- Máy đo nồng độ chỉ đo tổng số nồng độ DNA, không đo nồng độ DNA có thể khuếch đại được

ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG TOÀN VỆN MẪU DÙNG CHO XÉT NGHIỆM MÔ ĐẶC CỦA ENTROGEN

Internal Quality Control (IQCA-RT50)

Mục Tiêu

Dự đoán đầu vào
DNA/RNA từ FFPE
yêu cầu cho các xét
nghiệm phía sau bằng
cách đo phạm vi Ct cho
gen chứng nội (IC).

Phương pháp

Real-time PCR

Đặc tính

- Yêu cầu chỉ 1µl DNA/RNA

Cần giải pháp chuẩn hóa lượng
mẫu đầu vào chính xác

Figure 1. FFPE DNA sample amplification with CRC reaction 1 before IQCA assay correction.

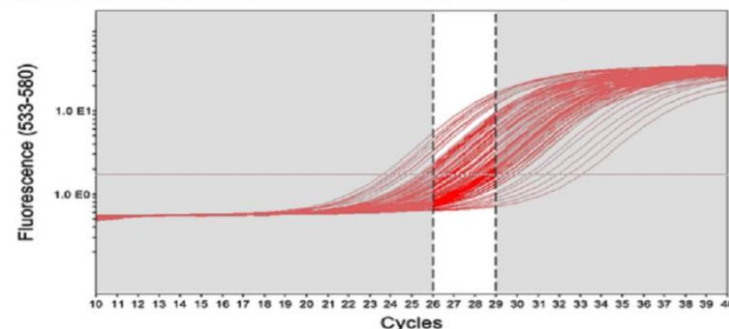
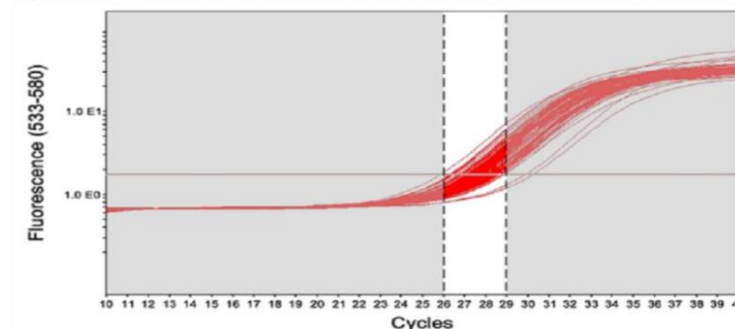


Figure 2. FFPE DNA sample amplification with CRC reaction 1 after IQCA assay correction.





Giải Pháp Phát Hiện Đột Biến Gen Ung Thư NGS - Entrogen

BAO GỒM 3 SẢN PHẨM:

- BRCA1/2
- HOT-SPOT PANEL
- RNA FUSION

Danh Sách Sản Phẩm Entrogen NGS



Sản Phẩm	NGS Targeted Hotspot Panel	RNA Fusion Gene Panel	BRCA Complete Expanded Panel
Công nghệ	Illumina®	Illumina®	Illumina®
Ý nghĩa lâm sàng	Tất cả các dạng ung thư	Các đột biến chuyển vị gen trong các khối u rắn và ung thư máu	Đột biến của các gen trong ung thư vú
Vật liệu đầu vào	DNA	RNA	DNA
Mô tả sản phẩm	Sản phẩm phát hiện các đột biến của 17 gen có ý nghĩa lâm sàng trong mô FFPE và mô tươi gồm BRAF, EGFR, ERBB2, HRAS, C-KIT, IDH1, IDH2, JAK2, KRAS, MET, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, RET, TERT, TP53 và PTEN* (*nếu được yêu cầu thêm)	Phát hiện 307 dung hợp gen của 23 gen từ mẫu máu và mô gồm ABL1, ALK, AKT3, AXL, BRAF, EGFR, ERBB2, ERG, ETV1, ETV4, ETV5, FGFR1, FGFR2, FGFR3, MET, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PDGFRA, PPARG, RAF1, RET, và ROS1	Phát hiện đột biến trên 6 gen BRCA1, BRCA2, CHEK2, PALB2, RAD51C và TP53 từ các nguồn mẫu máu và mô các loại

Entrogen BRCA Complete™ Expanded Panel

The most frequently downloaded NCCN Guidelines in 2024

NCCN Guidelines for Breast Cancer	1,318,623 Downloads
NCCN Guidelines for Non-Small Cell Lung Cancer	932,195 Downloads
NCCN Guidelines for Prostate Cancer	775,453 Downloads
NCCN Guidelines for Colon Cancer	655,223 Downloads

Mã sản phẩm: BRCAX-NGS

Phát hiện đột biến trên exon

- Sing Nucleotide Variants (SNV)
- Small insert and deletions (indels)

Nguồn mẫu:

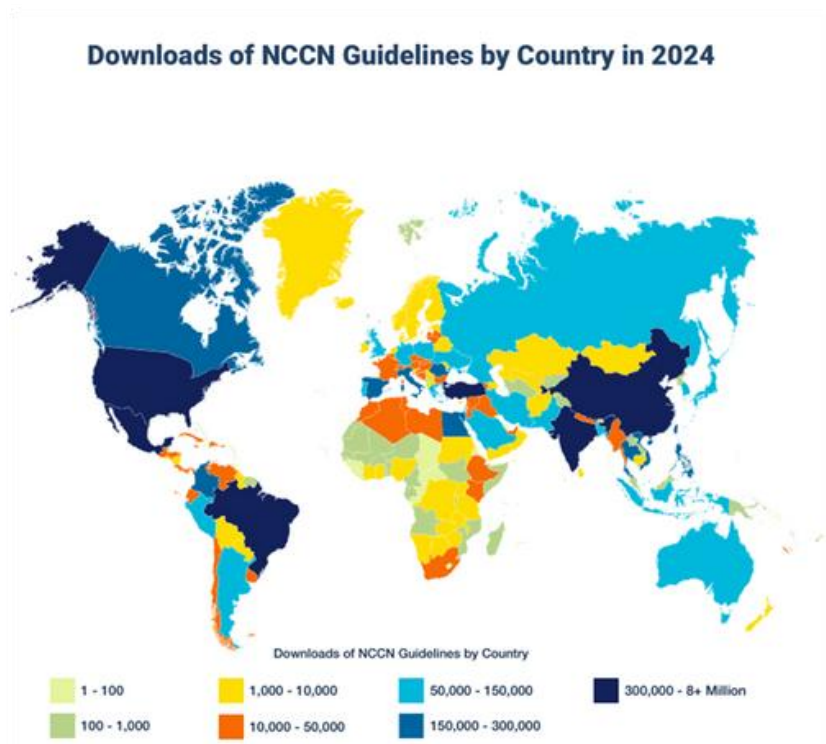
- FFPE
- Mô tươi/đông lạnh
- Máu toàn phần

Dùng cho hệ thống Illumina

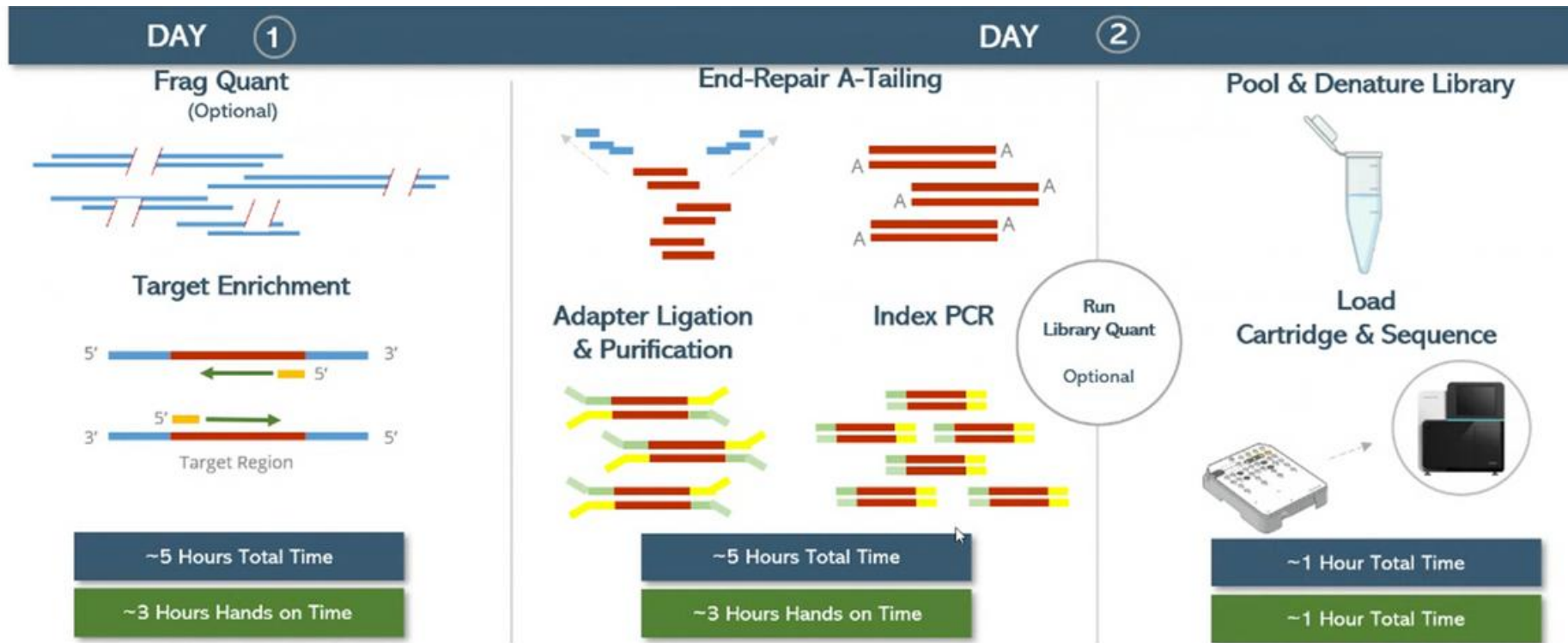
- MiSeq/MiniSeq/NextSeq

Giải trình tự exome của 6 gen:

- BRCA1
- BRCA2
- CHEK2:
- PALB2:
- RAD51C:
- TP53:

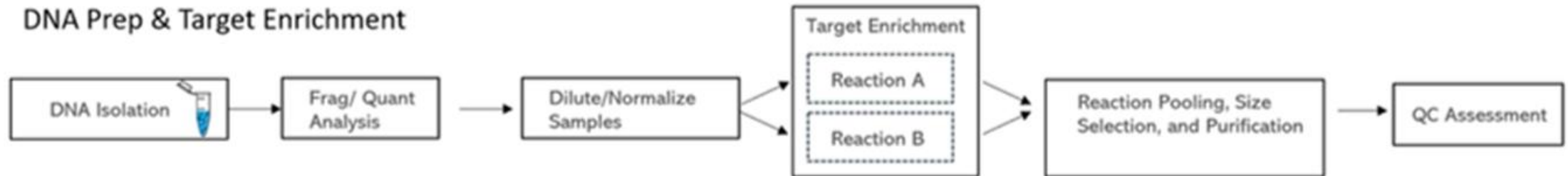


Quy trình thực hiện BRCAx và THSP

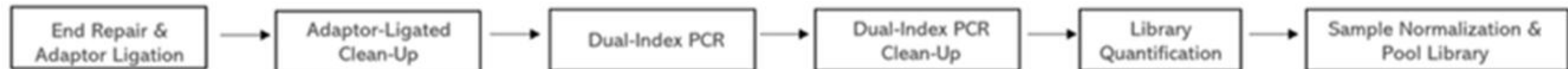


Quy trình thực hiện BRCA1 và THSP

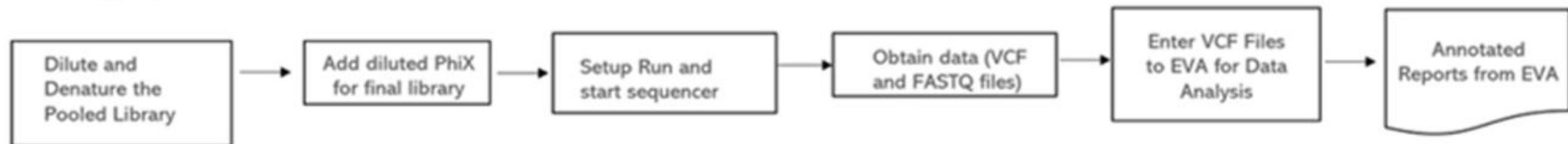
DNA Prep & Target Enrichment



End Prep, Sample Indexing, Final Library Pooling



Setting Up the NGS Run



Hệ thống giải trình tự tương thích



MiSeq



MiSeq Dx



MiniSeq



NextSeq

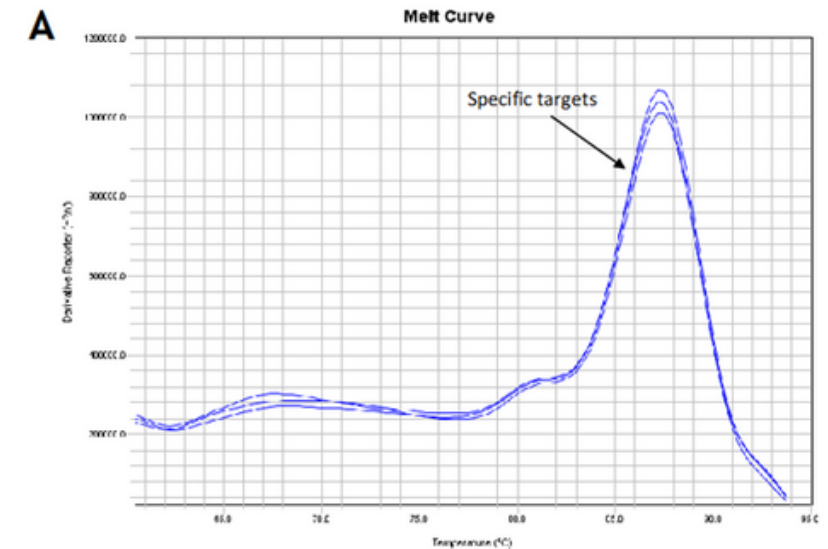


NextSeq DX

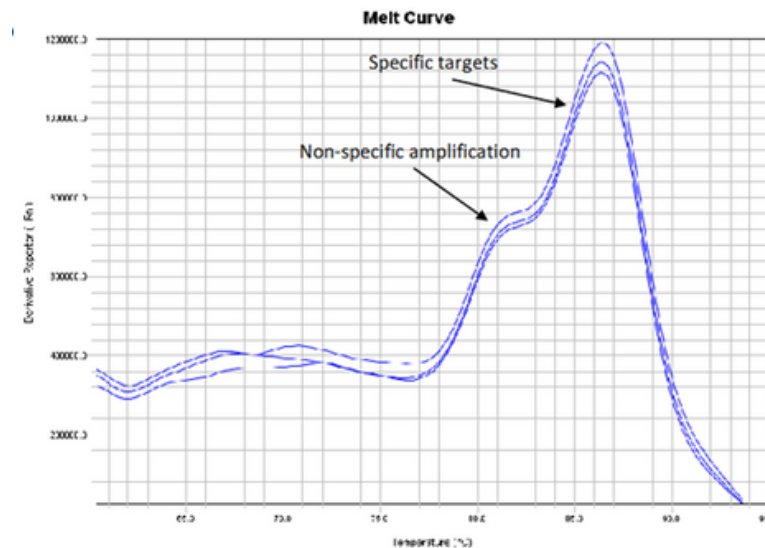


HiSeq

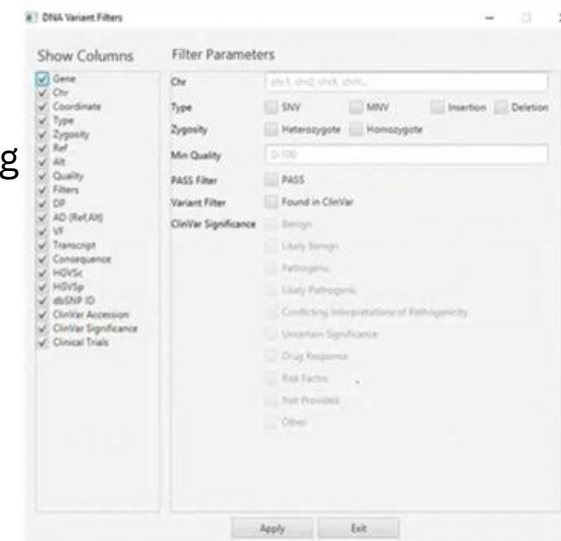
- Bộ định lượng thư viện cho Bộ kit Illumina® được thiết kế để đánh giá chất lượng thư viện cho giải trình tự Illumina® đã chuẩn bị
- Tương thích với các sản phẩm EntroGen NGS



Kích thước DNA đặc hiệu



Kích thước DNA đặc hiệu và không đặc hiệu có trong thư viện



- Bộ xét nghiệm Entrogen gồm: BRCAX, Hot Spot Panel và RNA fusion hướng tới việc phát hiện đột biến các gen có giá trị lâm sàng trong điều trị bệnh không phải mục tiêu hiếm và mới
- Phù hợp với phòng xét nghiệm quy mô nhỏ đến vừa
- Cung cấp giải pháp trọn gói đến khách hàng bao gồm làm giàu mục tiêu, chuẩn bị thư viện, phần mềm phân tích kết quả và kiểm soát chất lượng của quy trình.
- Cả hai hãng sản xuất kit NGS đều tối ưu trên hệ thống của Illumina và các hệ thống tương tự
- Các bộ xét nghiệm có giấy phép lưu hành phân loại C



Thank you!

Website: www.viethuy.vn | Email: info@viethuy.vn