

REF 7900001
16 Testsæt



**Circulating Tumor Cell Kit
(Epitelcelle)**

IVD



ANVENDELSESFORMÅL

Til *in vitro*-diagnostik.

CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit er beregnet til tælling af cirkulerende tumorceller (CTC) af epitelial oprindelse (CD45-, EpCAM+ og cytokeratiner 8, 18+ og/eller 19+) i fuldblod.

Tilstedeværelsen af CTC i det perifere blod, som påvist af CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit, er forbundet med nedsat progressionsfri overlevelse og samlet nedsat overlevelse hos patienter behandlet for metastatisk brystcancer, kolorektal eller prostatacancer*. Testen skal bruges som en hjælp til monitorering af patienter med metastatisk bryst-, kolorektal- eller prostatacancer. Serietest for CTC skal anvendes sammen med andre kliniske metoder til monitorering af metastatisk brystcancer, kolorektal- og prostatacancer. Evaluering af CTC til enhver tid i løbet af sygdommen tillader vurdering af patientens prognose og er egnet til forudsigelse af progressionsfri overlevelse og samlet overlevelse.

**Patienter med metastatisk prostatacancer i denne undersøgelse blev defineret som havende to på hinanden følgende stigninger i serummarkøren PSA over et referenceniveau til trods for standard hormonstyring. Disse patienter beskrives ofte som havende androgenuafhængig, hormonresistent eller kastrationsresistent prostatacancer.*

RESUMÉ OG FORKLARING

Cancermetastaser opstår, når cellerne udfældes fra en primær eller metastatisk tumor, kommer ind i kredsløbet og begynder at vokse på fjerntliggende steder i kroppen. Karcinomer er afledt fra epitelceller, der ikke normalt findes i kredsløbet.¹ CELLTRACKS® AUTOPREP® System er udviklet til at standardisere og automatisere prøveforberedelsesprotokollen til brug sammen med CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit (CELLSEARCH®-Kit). Analyse og tælling af CTC'er udføres ved hjælp af CELLTRACKS ANALYZER II®, som er et semi-automatiseret fluorescensmikroskop. Analysen opregner kun de celler, der udtrykker epitelcelleadhæsionsmolekylet (EpCAM) og cytokeratinerne (CK) 8, 18 og/eller 19.

PROCEDURENS PRINCIPPER

CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit indeholder et magnetvæskebaseret reagens og reagenser med immunfluorescens. Magnetvæskereagenset består af partikler med en magnetisk kerne omgivet af et polymerlag belagt med antistof rettet mod EpCAM-antigenet til at indfange CTC. Efter immunomagnetisk indfangning og berigelse tilsættes fluorescensreagenser til identifikation og optælling af CTC. Fluorescensreagenserne omfatter følgende: Anti-CK-phycoerythrin (PE) specifikt til det intracellulære protein cytokeratin (karakteristisk for epitelceller), DAPI, som farver cellekernen, og anti-CD45-Allophycocyanin (APC) specifikt til leukocytter.

Reagens/prøve-blandingen dispenseres ved hjælp af CELLTRACKS® AUTOPREP®-systemet ind i en kassette, der sættes i MAGNEST®-kassetteholderen. Det stærke magnetfelt hos MAGNEST®-kassetteholderen tiltrækker magnetisk mærkede epitelceller til overfladen af kassetten. CELLTRACKS ANALYZER II® scanner automatisk hele overfladen af kassetten, henter billeder og viser alle hændelser til brugeren, hvor CK-PE og DAPI-fluorescens er placeret sammen. Billeder præsenteres for brugeren i et galleriformat til endelig klassificering. En hændelse klassificeres som en tumorcelle, når dens morfologiske træk er i overensstemmelse med den hos en tumorcelle, og den udviser fænotypen EpCAM+, CK+, DAPI+ og CD45-.

LEVEREDE MATERIALER

- Brugsanvisning
- **3,0 mL Anti-EpCAM magnetvæske:** Indeholder en suspension af 0,022% magnetiske partikler konjugeret til et muse monoklonalt antistof specifikt for celleoverflademarkøren EpCAM, som er til stede på epitelceller, i en buffer indeholdende 0,03% bovint serumalbumin (BSA) og 0,05% ProClin® 300-konservingsmiddel (brun hætte).
- **3,0 mL farvningsreagens:** Indeholder 0,0006% muse monoklonale antistoffer, der er specifikke for cytokeratiner konjugeret til phycoerythrin (PE), 0,0012% muse-anti-CD45 monoklonalt antistof konjugeret til allophycocyanin (APC) i en buffer indeholdende 0,5% BSA og 0,1% natriumazid (hvid hætte).
- **3,0 mL nukleinsyrefarve:** Indeholder 0,005% 4', 6-diamidino-2-phenylindole, dihydrochlorid (DAPI) og 0,05% ProClin® 300 (blå hætte).
- **3,0 mL indfangelsesforstærkende reagens:** Indeholder 0,02% proprietær reagens til kontrolleret magnetvæskesammenlægning, 0,5% BSA og 0,1% natriumazid i buffer (klar hætte).
- **3,0 mL permeabiliseringsreagens:** Indeholder 0,011% proprietær permeabiliseringsreagens og 0,1% natriumazid i buffer (grøn hætte).
- **3,0 mL cellefiksativ:** Indeholder 25% proprietære fiksativingsredienser, 0,1% BSA og 0,1% natriumazid i buffer (rød hætte).
- **2 x 110 mL flaske fortyndingsbuffer:** Indeholder buffer med 0,1% natriumazid.
- **16 CELLSEARCH® koniske centrifugerør (15 mL) og hætter til koniske rør**
- **16 kassetter og kassettestik**

NØDVENDIGE MATERIALER, DER IKKE MEDFØLGER

- CellSave Preservative Tubes (katalognr. 7900005)
- CELLTRACKS® AUTOPREP® System (katalognr. 9541)
- CELLTRACKS ANALYZER II® (katalognr. 9555)
- CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Kit (katalognr. 7900003)
- CELLTRACKS® AUTOPREP® Instrument Buffer (katalognr. 7901003)
- Rotor med vandret "swing out" (dvs. "swing-bucket")- centrifuge, der kan håndtere 800 x g
- Stativer til prøverør
- Kalibrerede mikropipetter og spidser
- Vortex-mixer

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Til *in vitro*-diagnostik.
2. Læs venligst hele indholdet af denne brugsanvisning før analyse af prøver.
3. Forsigtig: Blod må kun indsamles i CellSave konserveringsrør. CTC'er er skrøbelige og kræver konservering for at opnå præcis analyse.
4. Forsigtig: Alt personale skal følge universelle foranstaltninger og bruge laboratoriesikkerhedsudstyr (dvs. sikkerhedsbriller, laboratoriekittel og handsker).
5. Forsigtig: Mikrobiel kontaminering af reagenser kan forårsage fejlagtige resultater og skal undgås.
6. **Advarsel:** Alle biologiske prøver, kassetter og andre materialer, der kommer i kontakt med prøven/prøverne, betragtes som biologisk skadelige. De skal håndteres som smittefarlige. Behandl og bortskaf affald ved brug af nødvendige forholdsregler og i overensstemmelse med lokale og nationale bestemmelser. Brug aldrig pipetter med munden.
7. **Advarsel:** Nogle af reagenserne indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Søg øjeblikkeligt læge ved indtagelse. Opbevares utilgængeligt for børn. Holdes væk fra mad og drikkevarer. Bær passende beskyttelsesbeklædning. Kontakt med syrer frigiver meget giftig gas. Syreforbindelser skal skylles med store mængder vand ved bortskaffelse for at undgå aflejringer i bly- eller kobberør, hvor eksplosive tilstande kan udvikle sig. Risiko- og sikkerhedssætninger R22 (Farlig ved indtagelse) og S28 (Kommer stof på huden vaskes straks med store mængder vand og sæbe).
8. **Advarsel:** Nogle af reagenserne indeholder ProClin® 300 som konserveringsmiddel. Symptomer på overeksponering for ProClin® 300 kan omfatte hud- og/eller øjenirritation samt irritation af slimhinder og øvre luftveje.
9. Operatøroplæring er nødvendig for at kunne udføre testproceduren.

OPBEVARING OG HÅNDTERING AF REAGENS

- Reagenser leveres klar til brug. Opbevares i uåbnet tilstand ved 2 til 8 °C.
- Efter åbning må reagenserne i reagenspakken ikke opbevares i længere tid end 30 dage ved 2 ° til 8 °C. Ved opbevaring **skal** åbnede reagenser lukkes til igen med deres entydigt farvede hætter ved at bruge farveangivelsen på reagensbakkens etiketter som en guide. Dette er påkrævet for at sikre, at der ikke sker krydskontaminering af reagenser.
- BEMÆRK: Efter åbning skal flasken med fortyndingsbuffer, som ikke er en del af reagenspakken, opbevares ved stuetemperatur i højst 30 dage.
- Beskyt reagenser fra varme på over 35 °C. Må ikke fryses.
- Skal have stuetemperatur (15 til 30 °C) før brug.
- Kontroller visuelt reagenspakken for korrekt placering af reagenser. Kontroller, at hvert reagens er det rigtige sted ved at matche dets unikke farvehætte med farverne angivet på etiketten. Se illustrationen vedrørende korrekt placering. Hvis det konstateres, at reagenser er placeret forkert, eller hvis der er flere ens flasker, må reagenspakken ikke anvendes, og den tekniske kundeservice skal kontaktes for at arrangere en ombytning.
- Reagenser må ikke eksponeres for sollys.
- Ved korrekt opbevaring er reagenser stabile indtil udløbsdatoen, der er trykt på reagensbeholderen eller kassen. Brug ikke reagenser, der har overskredet udløbsdatoen.
- Sætkomponenter er fremstillet og afprøvet som et master-parti. Bland **ikke** reagenser fra forskellige sæt.



TESTPROCEDURE

Prøvetagning og -forberedelse

Indsamling af fuldblod i CellSave konserveringsrør

1. Tag indledende prøver forud for start på et behandlingsregime. Efterfølgende prøver kan tages efter starten på et behandlingsregime, som regel ved tre til fire ugers mellemrum for at følge CTC-niveauer under behandlingen. Hvis patienten modtager doxorubicin-behandling, skal der gå mindst 7 dage efter administration af en dosis af doxorubicin, før der tages en blodprøve.
2. Saml kun fuldblod aseptisk ved venepunktur eller fra en veneport i et CellSave konserveringsrør.
3. Fyld røret, indtil blodflowet stopper for at sikre, at prøven har det rette forhold mellem antikoagulan og konserveringsmiddel. Bland dem øjeblikkeligt ved forsigtigt at vende røret otte gange. Vending af røret forhindrer koagulation. Utilstrækkelig eller forsinket blanding kan resultere i unøjagtige testresultater.
4. Blodprøver kan opbevares eller transporteres i CellSave Preservative Tube. Se anvisningen til CellSave Preservative Tube for vejledning til bearbejdning, opbevaring og håndtering. Prøver må ikke opbevares i køleskab.

FORSIGTIG: Kontroller hver prøve visuelt for koagulation inden behandling i CELLTRACKS® AUTOPREP® System. Koagulerede prøver skal kasseres.

Behandling med CELLTRACKS® AUTOPREP® System

1. Bland blodet i et CellSave Preservative Tube ved at vende det op og ned fem gange manuelt. Fjern derefter gummiproppen.
2. Brug en ny pipette til at overføre 7,5 mL blod fra CellSave-glasset med konserveringsmiddel til et tilsvarende mærket 15 mL CELLSEARCH® konisk centrifugerør, der følger med CELLSEARCH® CTC-kittet.
3. Tilsæt 6,5 mL fortyndingsbuffer ved hjælp af en ny pipette.
4. Sæt hættten på det CELLSEARCH® koniske centrifugerør, og bland ved at vende det fem gange.
5. Centrifuger prøverne i en "swing bucket"-centrifuge ved $800 \times g$ i 10 minutter med bremsen slået fra. De 10 minutters centrifugeringstid medregner ikke den tid, det kræver at nå $800 \times g$. Slå centrifugens bremse fra, eller, hvis din centrifuge har en variabel bremsefunktion, indstil bremsen til den laveste bremseindstilling. Centrifuger ved stuetemperatur i en centrifuge, der kan arbejde ved stuetemperatur. Inspicér hvert prøverør visuelt for plasmaseparation og røde blodlegemer ved at følge eksemplet på centrifugering.
6. Behandl på CELLTRACKS® AUTOPREP® System inden for **1 time** fra ovenstående prøveforberedelse. Se brugervejledningen til CELLTRACKS® AUTOPREP® System for detaljerede anvisninger.

Analyse med CELLTRACKS ANALYZER II®

CELLTRACKS® AUTOPREP®-systemet dispenserer den behandlede prøve til en kassette, som er klar til analyse ved hjælp af CELLTRACKS ANALYZER II®. Den fyldte kassette i MAGNEST®-kassetteholderen skal inkubere i mørke i mindst 20 minutter og analyseres inden for 24 timer. Se brugervejledningen til CELLTRACKS ANALYZER II® for anvisninger i prøveanalyse og gennemgang af data.

KVALITETSKONTROL

CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Kit (katalognr. 7900003) kontrollerer den overordnede systemydelse herunder instrument, reagenser og operatorteknik. Der skal køres en CELLSEARCH® cirkulerende tumorcellekontrol hver dag, der udføres patienttest, eller når der bruges et nyt parti fra CELLSEARCH® CTC-kittet. Se vejledningen til CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Kit for anvendelse og forventede værdier.

TOLKNING AF RESULTATER

Resultater rapporteres som antallet af CTC/7,5 mL blod.

Metastatisk brystcancer (MBC)

Et CTC-tal på **5** eller mere pr. 7,5 mL blod på et hvilket som helst tidspunkt i sygdomsforløbet er forbundet med en dårlig prognose og er prædiktivt for kortere progressionsfri overlevelse og samlet overlevelse.

Metastatisk kolorektal cancer (MCRC)

Et CTC-tal på **3** eller mere pr. 7,5 mL blod på et hvilket som helst tidspunkt i sygdomsforløbet er forbundet med en dårlig prognose og er prædiktivt for kortere progressionsfri overlevelse og samlet overlevelse.

Metastatisk prostatacancer (MPC)

Et CTC-tal på **5** eller mere pr. 7,5 mL blod på et hvilket som helst tidspunkt i sygdomsforløbet er forbundet med en dårlig prognose og er prædiktivt for kortere progressionsfri overlevelse og samlet overlevelse.

Forsigtig

Carryover fra en CTC-tællingsprøve med **5000 eller flere** CTC'er pr. 7,5 mL blod kan påvirke de prøver, der efterfølgende behandles på CELLTRACKS® AUTOPREP® System, herunder den efterfølgende batch. Hvis celler overføres til efterfølgende prøver, kan CTC-tallet for disse prøver være fejlagtigt højere end patientens faktiske CTC-tal. **Se brugervejledningen til CELLTRACKS® AUTOPREP® System for yderligere oplysninger.**

BEGRÆNSNINGER

- CELLSEARCH®-resultaterne skal anvendes sammen med alle kliniske oplysninger, der stammer fra diagnostiske tests (dvs. billeddiagnostik, laboratorieundersøgelser), fysisk undersøgelse og komplet anamnese i overensstemmelse med de relevante patienthåndteringsprocedurer.
- Denne *prognostiske* undersøgelse viser ikke, at *nogen* nuværende behandlingslinje er mere eller mindre effektiv end nogen anden eller ingen behandling.
- CELLSEARCH®-resultater og billeddiagnostiske resultater er ikke ækvivalente i vurderingen af patienters overgang mellem ikke-progressiv sygdom og progressiv sygdom.
- Hvis patienten modtager doxorubicin-behandling, skal der gå mindst 7 dage efter administration af en dosis af doxorubicin, før der tages en blodprøve. Resultaterne af en CELLSEARCH®-test skal fortolkes med forsigtighed, hvis prøverne tages inden for 7 dage efter administration af doxorubicin-behandling.
- CTC, der ikke udtrykker EpCAM, vil ikke blive påvist af CELLSEARCH®-testen.
- CTC, der udtrykker EpCAM, men ikke cytokeratinerne 8, 18 og 19 vil ikke blive påvist af CELLSEARCH®-testen.
- Interfererende stoffer:
SK-BR-3-celler tilsat i blodprøver blev udsat for potentielt interfererende stoffer og sammenlignet med ubehandlede kontroller. Giftniveauerne (5 gange terapeutisk indeks) i følgende cancerlægemidler, receptfri lægemidler og andre udefrakommende stoffer blev testet: Cyclophosphamid, Mitomycin C®, Procrit®, biotin, 5-fluorouracil, methotrexat, tamoxifen citrat, paclitaxel, Arimidex®, acetaminophen, acetylsalicylsyre, koffein, dextromethorphan, Aredia®, humant antimuseantistof (HAMA) type 1, HAMA type 2, Herceptin® og ibuprofen. Der blev ikke påvist signifikante forskelle i SK-BR-3-celleantallet, hvilket indikerer, at disse stoffer ikke interfererer med CELLSEARCH® CTC-kittet.

Prøver tilsat med giftige niveauer af doxorubicin resulterede i aberrant farvning af leukocytter såsom cytotkeratin og CD45 dobbeltpositive celler som følge af, at doxorubicin er et fluorescerende stof, der er inkorporeret i kerneholdige celler. Hvis det observeres, er farvningsmønsteret for alle celler, der er CD45-positive og cytotkeratinpositive, indlysende og lette at identificere for operatøren som en kendt interferensfarveprofil. Hvis blodet tages efter den anbefalede 7-dages udvaskningsperiode, efter doxorubicin-infusion, er det usandsynligt, at denne interferens observeres i klinisk praksis grundet de kontrollerede terapeutiske niveauer og hurtige lægemiddel-clearance.

Potentiel interferens fra lipæmi blev undersøgt ved at tilsætte Intralipid til prøverne i en koncentration på 2,6%, hvilket svarer til mere end 1000 mg/dl triglycerid. Prøverne blev lyseret til at simulere total hæmolyse. Bilirubin ved 7,4 mg/dL, HAMA 1/HAMA 2 og hæmatokrit fra 18 til 60% blev undersøgt. Lipæmi, hæmolyse, icterus og en bred vifte af hæmatokritværdier interfererer ikke med CELLSEARCH®-testen. HAMA 1 og HAMA 2 interfererer heller ikke, hvilket viser, at personer, der modtager muse Ig via parenterale ruter kan blive testet med CELLSEARCH®-testen.

FORVENTEDE VÆRDIER

Raske frivillige, ikke-malign brystcancer, anden ikke-malign sygdom

Enkeltpunkts CTC-analyser blev udført på kontrolgrupper med 145 raske forsøgspersoner, 101 kvinder med ikke-malign brystcancer og 99 kvinder med andre ikke-maligne sygdomme. Epitelceller forventes ikke at være til stede i det perifere blod fra raske personer. Af de i alt 345 prøver fra raske frivillige og kvinder med ikke-maligne sygdomme havde kun én forsøgsperson mere end 5 CTC/7,5 mL. Resultaterne er præsenteret i **Tabel 1**.

Tabel 1. Kontrolpersoner

Kategori	N	Middel antal CTC	SD	# Patienter med ≥ 5 CTC	Min.*	Maks.*
Sund	145	0,1	0,2	0	0	1
Ikke-malign brystsygdom	101	0,2	1,2	1	0	12
Anden ikke-malign sygdom	99	0,1	0,4	0	0	3

* NCCLS-retningslinje C28-A23

Raske frivillige, ikke-malign kolorektal sygdom

Blod blev indsamlet fra raske mænd og kvinder, som var 35 år eller ældre. Disse raske frivillige blev rekrutteret på tre centre i USA. I forbindelse med denne undersøgelse blev der taget to rør blod fra hver forsøgsperson og begge blev evalueret for CTC-niveauer. Der var i alt 150 evaluerbare forsøgspersoner med enten én eller to separate afmålte mængder blod på 7,5 mL behandlet for CTC. Ikke alle evaluerbare forsøgspersoner havde tilgængelige CTC-resultater fra begge rør. Det gennemsnitlige antal af cirkulerende tumorceller var 0,0 for begge grupper af forsøgspersoner, med standarddeviationer på 0,1 til 0,2. Af de 284 prøver i alt fra raske forsøgspersoner (mænd og kvinder) havde nul forsøgspersoner mere end 3 CTC/7,5 mL. Resultaterne er vist i **Tabel 2**.

Tabel 2. Resultater af CELLSEARCH® analyse af cirkulerende tumorceller hos kontrolpersoner

Sunde kontrolpersoner	Alle kontrolpersoner			Kun mænd			Kun kvinder		
	Rør 1	Rør 2	I alt	Rør 1	Rør 2	I alt	Rør 1	Rør 2	I alt
N	149	135	284	68	64	132	81	71	152
CTC-interval	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1
Gennemsnitlig CTC	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CTC SD	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2
N (%) ≥ 1 CTC	2 (1%)	4 (3%)	6 (2%)	1 (1%)	1 (2%)	2 (2%)	1 (1%)	3 (4%)	4 (3%)
N (%) ≥ 2 CTC	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

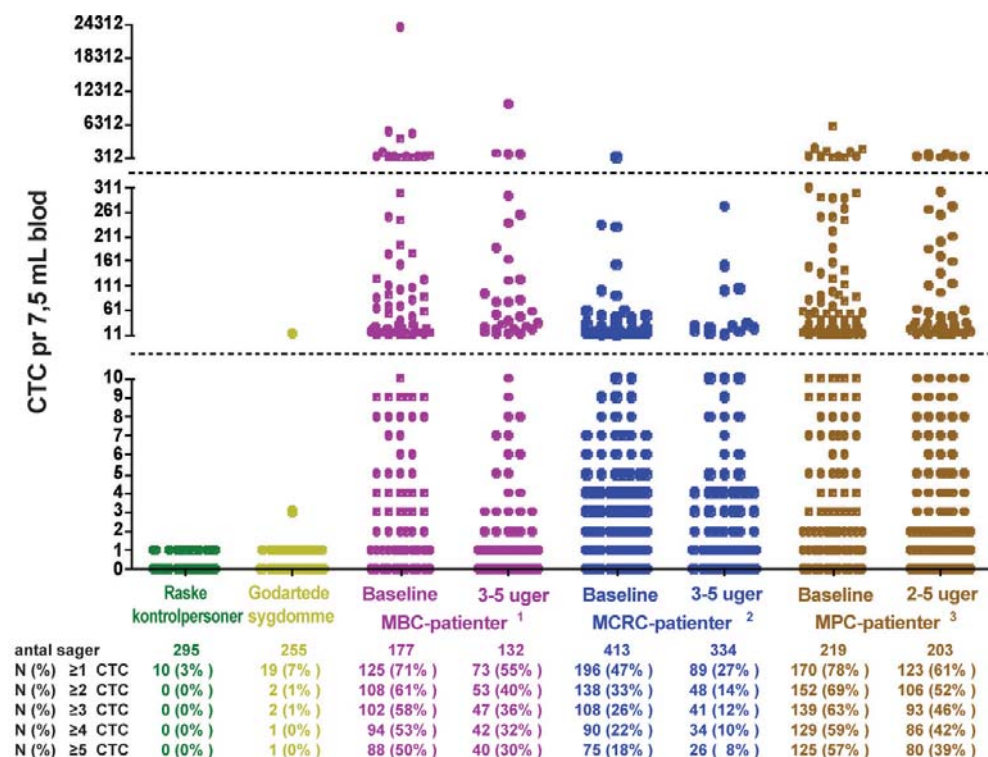
Omkring 30 mL blod (for at øge sandsynligheden for påvisning af celler) blev indsamlet i fire separate CellSave-rør (minimum 7,5 mL pr. rør) fra patienter, der gennemgik koloskopi eller operation for godartet sygdom. Op til fire 7,5 mL blodprøver blev evalueret for hver forsøgsperson inden proceduren. Resultaterne er præsenteret i nedenstående **Tabel 3**. Ikke alle evaluerbare forsøgspersoner havde tilgængelige CTC-resultater fra alle fire rør. Ingen af patienterne med benign kolorektal sygdom havde mere end en enkelt cirkulerende tumorcelle pr. 7,5 mL blod.

Tabel 3. Resultater af CELLSEARCH® analyse af cirkulerende tumorceller hos patienter med benign kolorektal sygdom

Benign sygdom	Blod udtaget før procedure				
	Rør 1	Rør 2	Rør 3	Rør 4	I alt
N	55	55	53	47	210
Område	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1
Gennemsnit	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0
SD	0,2	0,1	0,2	0,3	0,2
% ≥ 1 CTC	3 (5%)	1 (2%)	2 (4%)	4 (9%)	10 (5%)
% ≥ 2 CTC	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Figur 1 viser hyppigheden af CTC hos den samlede gruppe af forsøgspersoner, som er raske eller har godartet sygdom (kontrolpersoner), og hos MBC-, MCRC- og MPC-patienter forud for behandlingsstart og ca. 1 måned efter behandlingens start.

Figur 1. Hyppigheden af CTC i kontrolpersoner (forsøgspersoner uden cancer) og patienter med metastatisk brystcancer¹ (MBC), metastatisk kolorektal² (MCRC) eller metastatisk prostatacancer³ (MPC) før start af en ny behandlingslinje (Baseline) og ~ 2-5 uger efter behandlingsstart.



¹Information om MBC-referencepopulation - Tabel 1 i klinisk IFU.

²Information om MCRC-referencepopulation - Tabel 12 i klinisk IFU.

³Information om MPC-referencepopulation - Tabel 22 i klinisk IFU.

PRÆSTATIONSKARAKTERISTIK

Recovery

Blodprøver fra en enkelt rask donor blev blandet, og fem af seks afmålte mængder på 7,5 mL fik tilsat ca. 1300, 325, 81, 20 og 5 dyrkede brystcancerceller (SK-BR-3). Det sjette rør sjette rør var blandet blod uden tilsætning og fungerede som et nulpunkt. Disse prøver blev behandlet på CELLTRACKS® AUTOPREP® System med CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit, og CTC-tallene blev fastsat på CELLTRACKS ANALYZER II®. Forsøget blev gentaget for yderligere fire donorer. De observerede celletal blev plottet mod resultaterne for det forventede celletal. Resultaterne er opsummeret i Tabel 4.

Tabel 4. Skøn for procentvis påvisning

Forventet tumorcelletal	Gennemsnitligt observeret tumorcelletal	Interval for recoveryprocent
1300	1215	91 til 95%
325	308	82 til 101%
81	85	80 til 136%
20	22	95 til 140%
5	7	120 til 200%

For at fastslå den generelle eller mindste kvadraters tilpasning, til sammenligning af de observerede og forventede celletal på tværs af alle data, blev der udført lineær regressionsanalyse. Regressionsligningen for disse 30 prøver var $Y = 0,93x + 3,87$ med en $R^2 = 0,999$ ($R = 0,999$). Resultaterne af denne undersøgelse viser, at i gennemsnit over det testede CTC-interval er recovery fra regressionsanalysen 93%.

I betragtning af den lineære respons fra tumorcelletal ville det forventes, at hældningen af det observerede versus forventede plot var 1,0. Imidlertid var hældningen 0,93. Det skyldes, at CELLTRACKS® AUTOPREP® System med CELLSEARCH® CTC-sæt indebærer indfangning og fluorescensmærkning af celler efterfulgt af deres registrering og optælling med CELLTRACKS ANALYZER II®. Tabet af celler kan derfor tilskrives en af følgende årsager: 1) recovery af kun 93% af tumorcellerne tilført til 7,5 mL blod af CELLTRACKS® AUTOPREP® System, 2) påvisning af kun 93% af tumorcellerne til stede i prøvekompartimentet af CELLTRACKS ANALYZER II® eller 3) en kombination af begge disse fejlkilder.

Linearitet/rapporterbart område

En anden måde at undersøge de tidligere data på er at analysere dem som en fortyndingsrække for at vurdere testlineariteten. Vi fjernede den modsigende variabel med procentvis recovery ved hjælp af den observerede værdi for den oprindelige prøve i fortyndingsserien (dvs. det første rør) divideret med fortyndingsfaktorerne for at bestemme de forventede værdier for fortyndingsserier for hver patientprøve. Regression af alle disse tal af observerede tumorceller versus antallet af forventede tumorceller gav en hældning på 1,007, en skæring på 3,0 og en $R^2 = 0,990$ ($R = 0,995$). Når procent recovery (celletab) således ikke var indregnet i CTC-værdierne for hver af de indledende prøver, påviste analysen af data, at registreringen af CTC var lineær i det rapporterbare område fra 0 til 1238 tumorceller.

Detektionsgrænser

Ét CTC pr. 7,5 mL kan registreres af CELLTRACKS ANALYZER II®, hvilket resulterer i en detektionsgrænse på 1 CTC i en kassette. Lineær regression viser, at i gennemsnit 93% af CTC til stede i en 7,5 mL blodprøve registreres ved hjælp af CELLTRACKS® AUTOPREP® System (se afsnittet **Recovery**). Tabet på ca 7% af CTC i prøven er ikke tilstrækkeligt til at reducere detektionsgrænsen på 1 CTC.

Reproducerbarhed:

a. Systemreproducerbarhed med CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control

Der blev udarbejdet og behandlet tre separate CELLSEARCH® cirkulerende tumorcellekontrolprøver hver dag i mere end 30 dage i henhold til langtidsmetoden i NCCLS-retningslinje EP5-A². Hver prøveflaske til engangsbrug indeholder en lav og en høj koncentration af celler fra en fast cellelinje, der er blevet præ-farvet med to forskellige fluorokromer. Sammenfattende statistik for de høje og lave kontrolceller er præsenteret nedenfor.

Tabel 5. Sammenfatning af præcisionsanalyser

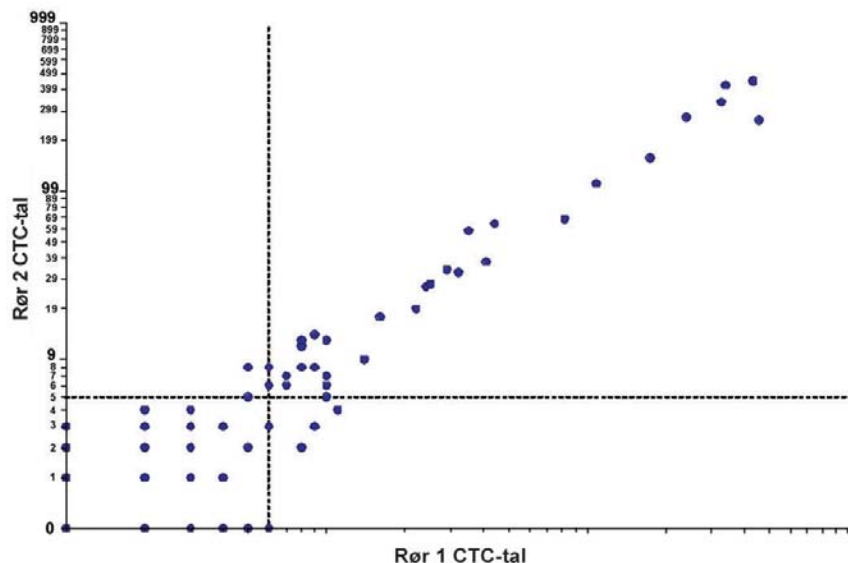
	Lav	Høj
N	99	99
Gennemsnitligt celletal	48	969
Standarddeviation for samlet præcision (ST) % CV	18%	5%

b. Systemreproducerbarhed med patientprøver

Metastatisk brystcancer (MBC)

I alt 163 dobbelte blodprøver blev indsamlet fra 47 patienter med metastatisk brystcancer i løbet af den kliniske undersøgelse. Disse prøver blev behandlet på flere steder for at bestemme reproducerbarheden af CTC-målinger. Regressionsligningen til sammenligning af disse 163 dobbeltprøver var $Y = 0,98x + 0,67$, $R^2 = 0,99$. **Figur 2** viser et punktplot af de dupliserede CTC-resultater i blod fra MBC-patienter vist på en logaritmisk skala med tærsklen på 5 CTC angivet ved de stiplede linjer.

Figur 2. Reproducerbarhed af CTC-tal i duplikerede MBC-prøver (N = 163) med gennemsnit på <5 eller ≥5 CTC pr. 7,5 mL blod

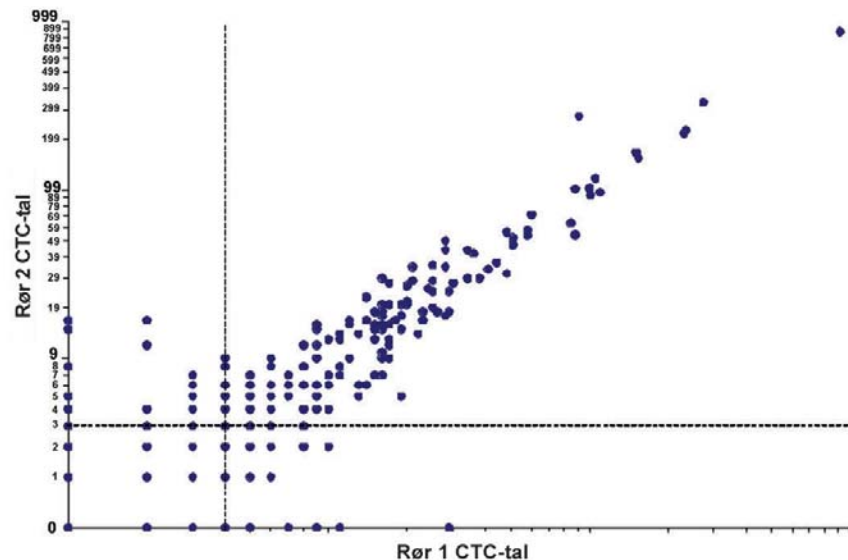


Note til figur 2: Der kan være mere end et punkt overlejret over et andet. For eksempel er der på dette plot 50 tilfælde (31%), hvor begge rør havde 0 CTC, 18 tilfælde (11%), hvor rør 1 havde 0 CTC og rør 2 havde 1 CTC, og yderligere 18 tilfælde (11%), hvor rør 1 havde 1 CTC og rør 2 havde 0 CTC.

Metastatisk kolorektal cancer (MCRC)

I alt 1627 dobbelte blodprøver blev indsamlet fra 430 MCRC-patienter i løbet af den kliniske undersøgelse. Disse prøver blev behandlet på flere steder for at bestemme reproducerbarheden af CTC-målinger. Regressionsligningen til sammenligning af disse 1627 dobbelte prøver var $Y = 0,98x + 0,18$, $R^2 = 0,96$. **Figur 3** viser et punktplot af de duplikerede CTC-resultater i blod fra MCRC-patienter vist på en logaritmisk skala med tærsklen på 3 CTC angivet ved de stiplede linjer.

Figur 3. Reproducerbarhed af CTC-tal i duplikerede MCRD-prøver (N = 1627) med gennemsnit på <3 eller ≥3 CTC pr. 7,5 mL blod



Note til figur 3: Der kan være mere end et punkt overlejret over et andet. For eksempel er der på dette plot 975 tilfælde (60%), hvor begge rør havde 0 CTC, 116 tilfælde (7%), hvor rør 1 havde 0 CTC og rør 2 havde 1 CTC, og yderligere 109 tilfælde (7%), hvor rør 1 havde 1 CTC og rør 2 havde 0 CTC.

Varians i CTC-tal mellem rør i blodprøver fra patienter med metastatisk brystcancer og kolorektal cancer er vist i **Figur 2 & 3**. Fordelingen af sjældne hændelser (f.eks tumorceller) inden for en given mængde er tilfældig og uafhængig af celle- eller sygdomstype. Dette er bedst karakteriseret ved Poisson-fordeling - en matematisk metode til modelsystemer, hvor sandsynligheden for, at en hændelse indtræffer, er meget lav, men antallet af muligheder for, at en sådan hændelse forekommer, er stor⁵. For rør med meget få prostata-CTC er det rimeligt at forvente variation i resultaterne, der svarer til, hvad der er vist i **Figur 2 & 3**. Da de to foregående undersøgelser af MBC- og MCRC-patienter viste næsten identiske resultater, blev der ikke udført en rør-til-rør sammenligning af CTC-tal i blodprøver fra patienter med metastatisk prostatacancer i løbet af det kliniske CELLSEARCH® CTC-prostataforsøg. Resultaterne af et uafhængigt forsøg med CELLSEARCH® teknologi foretaget på Memorial Sloan-Kettering Cancer Center viste dog ingen systematisk sted-til-sted eller rør-til-rør variation i CTC-tal på tværs af en bred vifte af 0 til 1192 CTC pr. rør hos patienter med metastatisk prostatakræft ⁴.

LITTERATURLISTE

1. Cancer Biology, 3rd edition, Ray Ruddon 1995
2. NCCLS Approved Guideline EP5-A, "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices".
3. NCCLS Approved Guideline C28-A2, "How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory".
4. Shaffer DR, Leversha MA, Danila DC, Lin O, Gonzalez-Espinoza R, Gu B, Anand A, Smith K, Maslak, P, Doyle GV, Terstappen LWMM, Lilja H, Heller G, Fleisher M and Scher HI. "Circulating Tumor Cell Analysis in Patients with Progressive Castration-Resistant Prostate Cancer", Clinical Cancer Research, Vol 13 No.7: 2023-2029, (2007).
5. Tibbe A.G.J, Miller C.M and Terstappen LWMM "Statistical Considerations for Enumeration of Circulating Tumor Cells", Cytometry Part A 71a:154-162 (2007).

REF 7900001
16 testsæt



Circulating Tumor Cell Kit
(Epitelcelle)

RESULTATER AF KLINISKE FORSØG

Indholdsfortegnelse

1 Patienter med metastatisk brystcancer (MBC)	5
1.1 CTC-frekvenser	5
1.2 Analyse af progressionsfri overlevelse (PFS) for MBC-patienter	6
1.2.1 PFS ved brug af CTC-resultater fra baseline	6
1.2.2 PFS ved brug af CTC-resultater fra opfølgning	6
1.2.3 Reduktion eller stigning af CTC forudser forbedret eller nedsat PFS	7
1.3 Analyse af samlet overlevelse (OS) for MBC-patienter	8
1.3.1 OS-analyse ved brug af CTC-resultater fra baseline	8
1.3.2 OS ved brug af CTC-resultater fra opfølgning	9
1.3.3 Reduktion eller stigning af CTC forudser forbedret eller nedsat OS	9
1.3.4 Univariat Cox-regressionsanalyse hos MBC-patienter	10
1.3.5 Multivariat Cox-regressionsanalyse hos MBC-patienter	11
1.4 Brug af CTC til monitorering af klinisk status for metastatisk brystcancer	12
1.4.1 Forholdet mellem overlevelse, CTC og sygdomsvurdering med billeddiagnostik	12
1.4.2 CTC	12
1.4.3 Billeddiagnostik	12
1.4.4 Forholdet mellem overlevelse iht. billeddiagnostik og CTC	13
1.4.5 Konkordanser mellem CTC og radiologisk monitorering	15
1.4.6 CTC som et supplement til billeddiagnostik	16
1.5 Variation i CTC og radiologiske vurderinger	17
1.5.1 CTC	17
1.5.2 Billeddiagnostik	17
2 Patienter med metastatisk kolorektal cancer (MCRC)	18
2.1 CTC-frekvenser	18
2.2 Analyse af progressionsfri overlevelse (PFS) hos MCRC-patienter	19
2.2.1 PFS ved brug af CTC-resultater fra baseline	19
2.2.2 PFS ved brug af CTC-resultater fra opfølgning	20
2.2.3 Reduktion eller stigning af CTC forudser forbedret eller nedsat PFS	20
2.3 Analyse af samlet overlevelse (OS) for MCRC-patienter	21
2.3.1 OS-analyse ved hjælp af CTC-resultater fra baseline	21
2.3.2 OS ved brug af CTC-resultater fra opfølgning	22
2.3.3 Reduktion eller stigning af CTC forudser forbedret eller nedsat OS	23
2.3.4 Univariat Cox-regressionsanalyse hos MCRC-patienter	24
2.3.5 Multivariat Cox-regressionsanalyse hos MCRC-patienter	25
2.4 Brug af CTC til monitorering af klinisk status for metastatisk kolorektal cancer	26
2.4.1 Forholdet mellem overlevelse, CTC og sygdomsvurdering med billeddiagnostik	26
2.4.2 CTC	26
2.4.3 Billeddiagnostik	26
2.4.4 Forholdet mellem overlevelse iht. billeddiagnostik og CTC	26
2.4.5 Konkordanser mellem CTC og radiologisk monitorering hos MCRC-patienter	28
2.4.6 CTC som et supplement til billeddiagnostik	30
3 Patienter med metastatisk prostatacancer (MPC)	30
3.1 CTC-frekvenser	31
3.2 Analyse af progressionsfri overlevelse (PFS) for MPC-patienter	32
3.2.1 PFS ved brug af CTC-resultater fra baseline	32
3.2.2 PFS ved brug af CTC-resultater fra opfølgning	33
3.2.3 Reduktion eller stigning af CTC forudsiger forbedret eller nedsat PFS	33

3.3	Analyse af samlet overlevelse (OS) for MPC-patienter	34
3.3.1	OS-analyse ved hjælp af CTC-resultater fra baseline	34
3.3.2	OS ved brug af CTC-resultater fra opfølgning	35
3.3.3	Reduktion eller stigning i CTC forudsiger forbedret eller nedsat OS.....	36
3.3.4	Univariat Cox-regressionsanalyse hos MPC-patienter.....	37
3.3.5	Multivariat Cox-regressionsanalysen hos MPC-patienter	38
3.4	Brug af CTC til monitorering af den kliniske tilstand for patienter med metastatisk prostatacancer	40
3.4.1	Forholdet mellem overlevelse, CTC'er og sygdomsvurdering ved PSA	40
3.4.2	Konkordanser mellem CTC og PSA-ændringer hos MPC-patienter	41
3.4.3	Kombination af CTC-niveauer og PSA-reduktion til forudsigelse af OS for MPC-patienter.....	43

Liste over tabeller

Tabel 1:	MBC-patientdemografi	5
Tabel 2:	Progressionsfri overlevelse (PFS) for MBC-patienter med <5 eller ≥5 CTC på forskellige tidspunkter	7
Tabel 3:	Samlet overlevelse (OS) for MBC-patienter med <5 eller ≥5 CTC på forskellige tidspunkter	9
Tabel 4:	Univariat Cox-regressionsanalyse hos MBC-patienter	10
Tabel 5:	Multivariat Cox-regressionsanalyse for progressionsfri overlevelse hos MBC-patienter.....	11
Tabel 6:	Multivariat Cox-regressionsanalyse for samlet overlevelse hos MBC-patienter	12
Tabel 7:	OS for MBC-patienter med CTC-vurdering cirka en måned efter behandlingsstart og inden for en måned efter den radiologiske vurdering	13
Tabel 8:	MBC-patientvis sammenligning af CTC og billeddiagnostik	15
Tabel 9:	MBC-observationsvis sammenligning af CTC og billeddiagnostik.....	16
Tabel 10:	MBC-patientvis sammenligning af CTC og billeddiagnostik.....	16
Tabel 11:	Variation i radiologiske og CTC-vurderinger hos MBC-patienter.....	17
Tabel 12:	MCRC-patientdemografi	18
Tabel 13:	Udelukkelser fra analyser af progressionsfri og samlet overlevelse hos MCRC-patienter	19
Tabel 14:	Progressionsfri overlevelse (PFS) for MBC-patienter med <3 eller ≥3 CTC på forskellige tidspunkter	20
Tabel 15:	Samlet overlevelse (OS) for MCRC-patienter med <3 eller ≥3 CTC på forskellige tidspunkter	23
Tabel 16:	Univariat Cox-regressionsanalyse hos MCRC-patienter	24
Tabel 17:	Multivariat Cox-regressionsanalyse hos MCRC-patienter	25
Tabel 18:	OS for MCRC-patienter med CTC-vurdering cirka en måned efter behandlingsstart og inden for en måned efter den radiologiske vurdering	27
Tabel 19:	MCRC-patientvis sammenligning af CTC og billeddiagnostik	29
Tabel 20:	MCRC observationsvis sammenligning af CTC og billeddiagnostik.....	29
Tabel 21:	MCRC-patientvis sammenligning af CTC og billeddiagnostik	29
Tabel 22:	MPC-patientdemografi.....	31
Tabel 23:	Udelukkelser fra PFS- og OS-analyser hos MPC-patienter.....	32
Tabel 24:	Progressionsfri overlevelse (PFS) for MPC-patienter med <5 eller ≥5 CTC på forskellige tidspunkter.....	33
Tabel 25:	Samlet overlevelse (OS) for MPC-patienter med <5 eller ≥5 CTC på forskellige tidspunkter	36
Tabel 26:	Univariat Cox-regressionsanalyse hos MPC-patienter.....	38
Tabel 27:	Multivariat Cox-regressionsanalyse hos MPC-patienter.....	39
Tabel 28:	Sammenligning af median OS mellem grupper med favorabel og ikke-favorabel CTC- og PSA-reduktion.	41
Tabel 29:	MPC-patientvis sammenligning af CTC og 30% PSA-reduktion ved 2-5 uger.....	42
Tabel 30:	MPC-patientvis sammenligning af CTC og 30% PSA-reduktion ved 13-20 uger.	42
Tabel 31:	MPC-observationsvis sammenligning af CTC og 30% PSA-reduktion.....	42

Liste over figurer

Figur 1: PFS for MBC-patienter med <5 eller ≥ 5 CTC ved baseline (N = 177).....	6
Figur 2: PFS for MBC-patienter med <5 eller ≥ 5 CTC på forskellige tidspunkter af opfølgning	7
Figur 3: En reduktion i CTC under 5 efter behandlingsstart forudser længere PFS hos MBC-patienter.....	8
Figur 4: OS for MBC-patienter med <5 eller ≥ 5 CTC ved baseline (N = 177).	8
Figur 5: OS for MBC-patienter med <5 eller ≥ 5 CTC på forskellige tidspunkter af opfølgning.....	9
Figur 6: En reduktion i CTC under 5 efter behandlingsstart forudser længere OS, mens en stigning i CTC-tal til 5 eller mere forudser kortere OS for MBC-patienter.	10
Figur 7: Korrelation mellem radiologisk og CTC-vurdering med OS: OS for MBC-patienter med NPD eller PD ved første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse (N = 138).....	14
Figur 8: Korrelation mellem radiologisk og CTC-vurdering med OS: OS for MBC-patienter med <5 eller ≥ 5 CTC ved første opfølgning efter behandlingsstart (N = 138)	14
Figur 9: Korrelation mellem radiologisk og CTC-vurdering med OS: OS for MBC-patienter med <5 eller ≥ 5 CTC inden for 1 måned fra første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse (N = 134).....	15
Figur 10: OS for MBC-patienter i gruppe 1, 2, 3 og 4 ved brug af den første opfølgende CTC-vurdering efter start af behandlingen (N = 138) og sygdomsstatus bestemt ved første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse.....	17
Figur 11: PFS for MCRC-patienter med <3 eller ≥ 3 CTC ved baseline (N = 413).	19
Figur 12: PFS for MCRC-patienter med <3 eller ≥ 3 CTC på forskellige tidspunkter af opfølgning	20
Figur 13: En reduktion i CTC under 3 efter behandlingens start forudser længere PFS hos MCRC-patienter	21
Figur 14: OS for MCRC-patienter med <3 eller ≥ 3 CTC ved baseline (N = 413).	22
Figur 15: OS for MCRC-patienter med <3 eller ≥ 3 CTC på forskellige tidspunkter af opfølgning.....	22
Figur 16: En reduktion i CTC under 3 efter behandlingsstart forudser længere OS, mens en stigning i CTC-tal til 3 eller mere forudser kortere OS for MCRC-patienter.	23
Figur 17: Korrelation mellem radiologisk og CTC-vurdering med OS: OS for MCRC-patienter med NPD eller PD ved første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse (N = 402).....	27
Figur 18: Korrelation mellem radiologisk og CTC-vurdering med OS: OS for MCRC-patienter med <3 eller ≥ 3 CTC ved første opfølgning efter behandlingens start (N = 320).....	28
Figur 19: Korrelation mellem radiologisk og CTC-vurdering med OS: OS for MCRC-patienter med <3 eller ≥ 3 CTC inden for ± 1 måned fra første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse eller død (N = 364)	28
Figur 20: OS for MBC-patienter i gruppe 1, 2, 3 og 4 ved brug af CTC 3-5 uger efter start af behandlingen (N = 320) og sygdomsstatus bestemt ved første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse.....	30
Figur 21: PFS for MPC-patienter med <5 eller ≥ 5 CTC ved baseline (N = 219).	32
Figur 22: PFS for MPC-patienter med <5 eller ≥ 5 CTC på forskellige tidspunkter af opfølgning	33
Figur 23: En reduktion i CTC under 5 efter start af behandling forudser længere PFS hos MPC-patienter	34
Figur 24: OS for MPC-patienter med <5 eller ≥ 5 CTC ved baseline (N = 219).....	35
Figur 25: OS for MPC-patienter med <5 eller ≥ 5 CTC på forskellige tidspunkter af opfølgning.	35
Figur 26: En reduktion i CTC under 5 efter behandlingsstart forudser længere OS, mens en stigning i CTC-tal til 5 eller mere forudser kortere OS for MPC-patienter.....	36
Figur 27: OS for MPC-patienter 2-5 uger efter behandlingsstart.....	40
Figur 28: OS for MPC-patienter 6-8 uger efter behandlingsstart.....	40
Figur 29: OS for MPC-patienter 9-12 uger efter behandlingsstart.....	40
Figur 30: OS for MPC-patienter 13-20 uger efter behandlingsstart.....	41
Figur 31: CTC-niveauer og PSA-ændringer kombineret for at forudsige OS 2-5 uger (Panel A), 6-8 uger (Panel B), 9-12 uger (Panel C) og 13-20 uger (Panel D) efter start af behandlingen	43

1 Patienter med metastatisk brystcancer (MBC)

Et prospektivt, klinisk multicenterforsøg blev udført for at bestemme, hvorvidt antallet af CTC forudsagde sygdomsprogression og overlevelse. Metastatisk brystcancer hos patienter med målbar (N = 177) sygdom, der starter en ny behandlingslinje, blev rekrutteret. Kliniske data blev analyseret på et intent-to-treat-princip. De patientdemografiske oplysninger er præsenteret i **Tabel 1**.

Tabel 1: MBC-patientdemografi

Kategori		N = 177 patienter
Alder ved baseline	Middelværdi ± std. deviation Median	58 ±13 58
	Beskrivelse af kategorier	Antal forsøgspersoner (% af total)
Trin	1	26 (15%)
	2	92 (52%)
	3	26 (15%)
	4	20 (11%)
	Ukendt	13 (7%)
Race	Hvid	153 (86%)
	Sort	14 (8%)
	Latin-amerikaner	7 (4%)
	Ukendt	3 (2%)
Baseline ECOG-score	0	82 (46%)
	1	72 (41%)
	2	18 (10%)
	Ukendt	5 (3%)
Sygdomssted	Viscera	152 (86%)
	Knogle	153 (86%)
ER/PR	+	121 (68%)
	-	54 (31%)
	Ukendt	2 (1%)
HER2	0	91 (51%)
	1+	12 (7%)
	2+	18 (10%)
	3+	27 (15%)
	Ukendt	29 (17%)
Behandlingslinje	1. linje	82 (46%)
	2. linje	26 (15%)
	≥3. linje	67 (38%)
	Ukendt	2 (1%)
Behandlingstype	Kemo (Ch)	74 (42%)
	Endokrin (En)	45 (25%)
	Målrettet (Ta)	9 (5%)
	Ch/En	10 (6%)
	Ch/Ta	23 (13%)
	En/Ta	7 (4%)
	Ch/En/Ta	2 (1%)
	Diverse	2 (1%)
	Ukendt	5 (3%)

Baseline CTC-tallet blev bestemt inden starten af en ny behandlingslinje. Opfølgende CTC-tal blev bestemt efter behandlingsstart med omkring 3 til 4 ugers mellemrum. For baseline-analyser blev progressionsfri overlevelse (PFS) målt fra tidspunktet for baseline-blodprøvetagning til diagnosticering af progression med CT-scanninger og/eller kliniske tegn og symptomer, og den samlede overlevelse (OS) blev målt fra tidspunktet for baseline-blodprøvetagning til tidspunktet for dødsfaldet. Ved de opfølgende analyser blev PFS målt fra tidspunktet for blodprøvetagning ved opfølgning til diagnosticering af progression eller død, og OS blev målt fra tidspunktet for blodprøvetagningen ved opfølgning til dødstidspunktet.

1.1 CTC-frekvenser

CTC-resultaterne fra opfølgende blodprøvetagninger ved 3-5 uger, 6-8 uger, 9-12 uger og 13-20 uger efter start af behandling blev klassificeret som værende favorable (<5 CTC) eller ikke-favorable (≥5 CTC). Hvis mere end ét CTC-resultat blev opnået inden for nogen af de udpegede opfølgningstidspunkter, blev CTC-resultatet fra blodprøvetagningen længst fra blodprøvetagningen ved baseline anvendt.

Af det samlede antal MBC-patienter på 177, kunne 23 ikke evalueres ved første opfølgning. Af disse 23 patienter døde ti patienter før en opfølgende blodprøve kunne tages, ni patienter oplevede progression forud for en opfølgende blodprøvetagning, og fire blev tabt for opfølgning. Det bør bemærkes, at hver af de ti patienter, som døde, havde ≥5 til ekstremt høje CTC-tal ved baseline (CTC-tallene 9, 11, 15, 24, 111, 126, 301, 1143, 4648 og 23 618). Af de 154 patienter tilgængelige for opfølgning fik 132, 99, 129 og 85 patienter taget en blodprøve henholdsvis 3-5, 6-8, 9-14 og 15-20 uger efter starten af behandlingen.

Tabel 3 sammenfatter det samlede antal og procentdelen af patienter med ikke-favorabel CTC i det kliniske forsøg for samlet overlevelse, der adskiller sig fra de tal og procentdele for patienter med progressionsfri overlevelse, der er vist i **Tabel 2**. Forskellen i antallet af patienter på hvert tidspunkt *mellem* de to tabeller skyldes visse patienters progression før blodprøven. Forskellen i antallet af patienter i tabellerne skyldes antallet af patienter med blodprøver og evaluerbare CTC-resultater ved hvert tidspunkt.

1.2 Analyse af progressionsfri overlevelse (PFS) for MBC-patienter

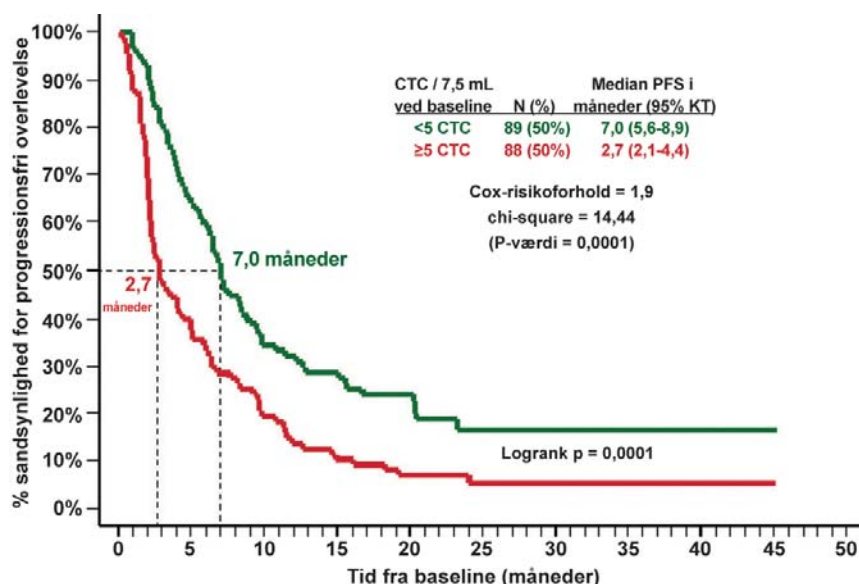
1.2.1 PFS ved brug af CTC-resultater fra baseline

Alle 177 MBC-patienter fik foretaget en CTC-test ved baseline. Ved Kaplan-Meier analyse blev patienterne opdelt i to grupper baseret på deres CTC-tal ved baseline:

- Den favorable gruppe (N = 89), der er vist med **grøn**, bestod af patienter med <5 CTC.
- Den ikke-favorable gruppe (N = 89), der er vist med **rød**, bestod af patienter med ≥5 CTC.

Median PFS var signifikant længere i den favorable sammenlignet med den ikke-favorable gruppe (hhv. 7,0 vs. 2,7 måneder). Resultaterne er illustreret i **Figur 1**.

Figur 1: PFS for MBC-patienter med <5 eller ≥5 CTC ved baseline (N = 177)

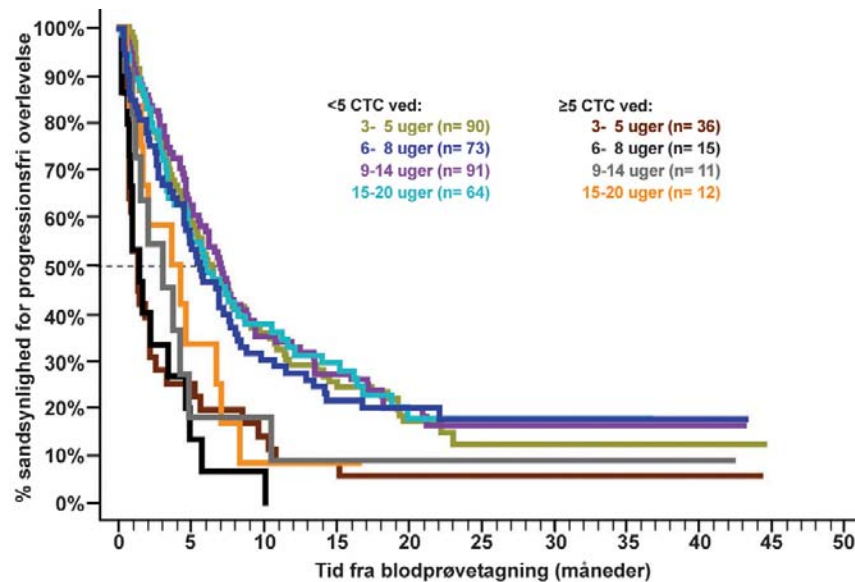


1.2.2 PFS ved brug af CTC-resultater fra opfølgning

Ved Kaplan-Meier analyse blev MBC-patienterne opdelt i to grupper baseret på deres CTC-tal ved hver af de forskellige opfølgende blodprøvetagninger. Begge patientgrupper ved hver af de forskellige opfølgende blodprøvetagningstidspunkter efter start af behandlingen for PFS illustreres i **Figur 2**. PFS-tider blev beregnet fra tidspunktet for hver enkelt blodprøvetagning, og enhver patient, der viste tegn på progression før en blodprøvetagning, blev udelukket fra analysen af denne og alle efterfølgende opfølgingsblodprøver. **Figur 2** illustrerer evnen hos CTC-patienter med <5 og ≥5 CTC 3-5 uger, 6-8 uger, 9-14 uger og 15-20 uger efter påbegyndelse af behandlingen til at forudsige tid til klinisk progression hos 177 patienter med metastasisk brystcancer.

- Den favorable gruppe, der er vist med **olivengrøn**, **blå**, **lilla** og **cyan**, bestod af patienter med <5 CTC.
- Den ikke-favorable gruppe, der er vist med **brun**, **sort**, **grå** og **orange**, bestod af patienter med ≥5 CTC.

Figur 2: PFS for MBC-patienter med <5 eller ≥5 CTC på forskellige opfølgningstidspunkter



Tabel 2 opsummerer resultaterne af PFS-analysen med CTC-niveauer og en tærskel på ≥5 CTC/7,5 mL på hvert af de forskellige tidspunkter for blodprøvetagning.

Tabel 2: Progressionsfri overlevelse (PFS) for MBC-patienter med <5 eller ≥5 CTC på forskellige tidspunkter

1	2	3	4	5	6
Prøvetagningstid efter start af Tx	N	≥5 CTC	Median PFS i måneder (95% CI)		Log-rank p-værdi
			<5 CTC	≥5 CTC	
Baseline	117	88 (50%)	7,0 (5,6 til 8,9)	2,7 (2,1 til 4,4)	0,0001
3-5 uger	126	36 (29%)	6,1 (4,7 til 8,6)	1,3 (0,7 til 2,1)	<0,0001
6-8 uger	88	15 (17%)	5,6 (4,5 til 7,6)	1,4 (0,6 til 3,4)	0,0001
9-14 uger	102	11 (11%)	7,0 (5,1 til 8,8)	3,0 (0,9 til 4,8)	0,0251
15-20 uger	76	12 (16%)	5,9 (3,8 til 8,7)	3,6 (0,7 til 7,0)	0,0610

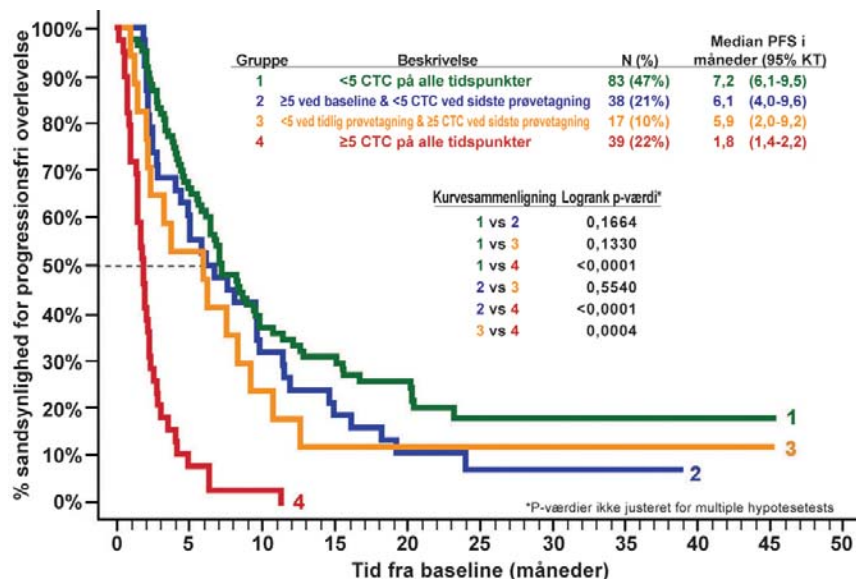
Som illustreret i **Figur 2** og **Tabel 2** havde patienter med højt CTC (≥5 CTC/7,5 mL helblod) på et hvilket som helst af tidspunkterne en meget højere risiko for hurtig progression end patienter med <5 CTC. **Tabel 2** kolonne 4 viser mediane PFS-tider for patienter med <5 CTC varierende fra 5,6 til 7,0 måneder og var væsentligt længere end mediane PFS-tider for patienter med ≥5 CTC, som lå fra 1,3 til 3,6 måneder (kolonne 5).

1.2.3 Reduktion eller stigning af CTC forudsiger forbedret eller nedsat PFS

Forløbne PFS-tider blev beregnet ud fra blodprøvetagning ved baseline. Ved Kaplan-Meier analysen (**Figur 3**) blev MBC-patienter opdelt i fire grupper baseret på deres CTC-tal ved baseline 3-5 uger, 6-8 uger, 9-14 uger og 15-20 uger efter behandlingsstart:

- Gruppe 1 (**grøn** kurve), 83 (47%) patienter med <5 CTC på alle tidspunkter for blodprøvetagning. Fem (6%) af disse patienter havde kun en baseline-blodprøve, mens to (2%) havde en enkelt blodprøvetagning mellem deres første og sidste blodprøvetagning, der havde ≥5 CTC.
- Gruppe 2 (**blå** kurve), 38 (21%) patienter med ≥5 CTC forud for behandlingsstart, men som var faldet til <5 CTC på tidspunktet for deres sidste blodprøvetagning.
- Gruppe 3 (**orange** kurve) 17 (10%) patienter med <5 CTC ved en tidlig blodprøvetagning (baseline, 3-5 uger og/eller 6-8 uger), men som steg til ≥5 CTC på tidspunktet for deres sidste blodprøvetagning.
- Gruppe 4 (**rød** kurve) 39 (22%) patienter med > 5 CTC på alle blodprøvetagningstidspunkter. Ti (26%) af disse patienter fik kun taget en blodprøve ved baseline.

Figur 3: En reduktion i CTC under 5 efter behandlingsstart forudser længere PFS hos MBC-patienter



Figur 3 viser, at MBC-patienter med ≥ 5 CTC på alle tidspunkter (Gruppe 4) havde den korteste median PFS, som var markant anderledes i forhold til median PFS for Gruppe 3, Gruppe 2 og Gruppe 1. Forskelle mellem kurverne for de andre grupper i denne figur var ikke signifikante.

1.3 Analyse af samlet overlevelse (OS) for MBC-patienter

1.3.1 OS analyse ved brug af CTC-resultater fra baseline

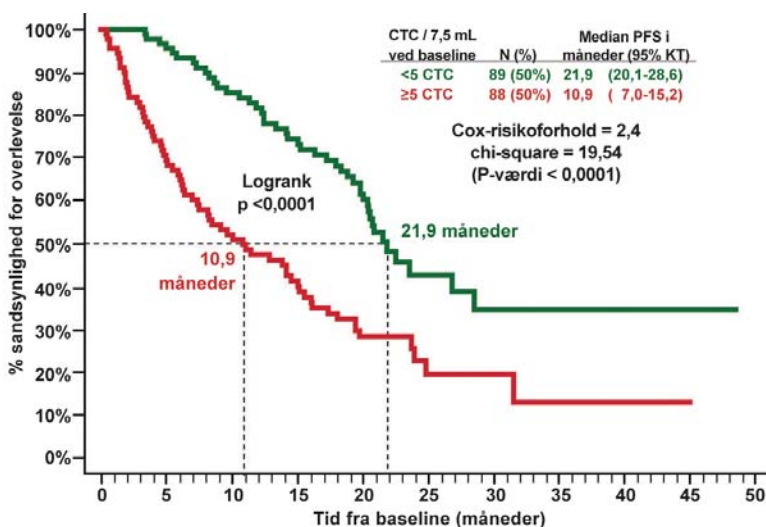
Dødsfald forekom hos 109 (62%) af de 177 MBC-patienter, med en gennemsnitlig opfølgningstid for de 68 (38%) patienter, der stadig var i live, på $22,7 \pm 9,4$ måneder (median = 21,1, interval = 4,4 til 48,6). På tidspunktet for disse analyser var 44 (49%) af 89 patienter fra den favorable gruppe (<5 CTC ved baseline) døde sammenlignet med 65 (74%) af 88 patienter fra den ikke-favorable gruppe (≥ 5 CTC ved baseline).

Ved Kaplan-Meier analyse blev patienterne opdelt i to grupper baseret på deres CTC-tal ved baseline:

- Den favorable gruppe (N = 89), vist med grøn, bestod af patienter med <5 CTC.
- Den ikke-favorable gruppe (N = 88), vist med rød, bestod af patienter med ≥ 5 CTC.

Median OS var signifikant længere i den favorable sammenlignet med den ikke-favorable gruppe (henholdsvis 21,9 vs. 10,9 måneder). Resultaterne er illustreret i Figur 4.

Figur 4: OS for MBC-patienter med <5 eller ≥ 5 CTC ved baseline (N = 177).

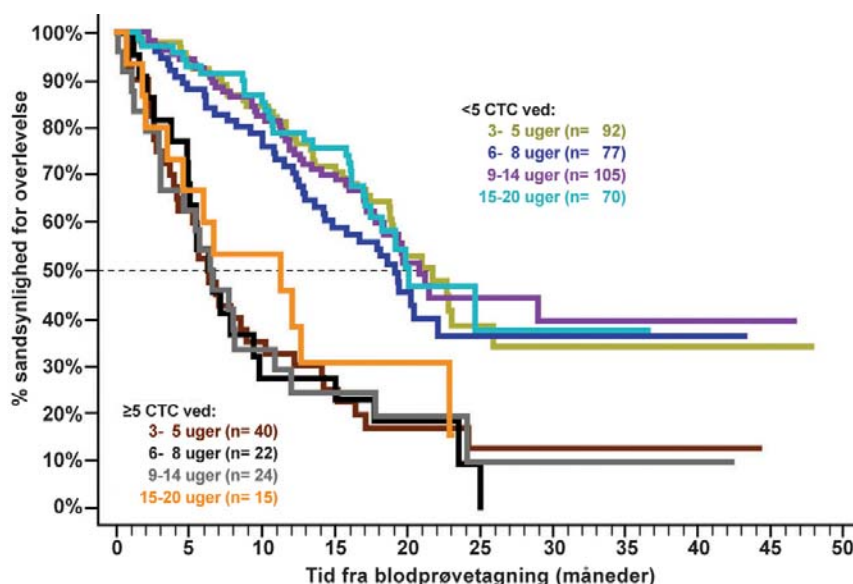


1.3.2 OS ved brug af CTC-resultater fra opfølgning

Kaplan-Meier analyser af begge MBC-patientgrupper på hver af de forskellige opfølgende blodprøvetagningstidspunkter efter start af behandling er illustreret i **Figur 5**. Denne figur illustrerer CTC's evne til at forudsige dødstidspunktet hos 177 patienter med metastasisk brystcancer med <5 og ≥5 CTC 3-5 uger, 6-8 uger, 9-14 uger og 15-20 uger efter start af behandlingen. OS tider blev beregnet fra tidspunktet for hver blodprøvetagning.

- Den favorable gruppe, der er vist med **olivengrøn, blå, lilla og cyan**, bestod af patienter med <5 CTC.
- Den ikke-favorable gruppe, der er vist med **brun, sort, grå, og orange**, bestod af patienter med ≥5 CTC.

Figur 5: OS for MBC-patienter med <5 eller ≥5 CTC på forskellige tidspunkter af opfølgning



Tabel 3 opsummerer resultaterne af OS-analysen med CTC-niveauer og en tærskel på ≥5 CTC/7,5 mL på hvert af de forskellige blodprøvetagningstidspunkter.

Tabel 3: Samlet overlevelse (OS) for MBC-patienter med <5 eller ≥5 CTC på forskellige tidspunkter

1	2	3	4	5	6
Prøvetagningstid efter start af Tx	N	≥5 CTC	Median OS i måneder (95% CI)		Log-rank p-værdi
			<5 CTC	≥5 CTC	
Baseline	177	88 (50%)	21,9 (20,1 til 28,6)	10,9 (7,0 til 15,2)	<0,0001
3-5 uger	132	40 (30%)	21,7 (18,8 til 25,9)	6,2 (4,1 til 8,9)	<0,0001
6-8 uger	99	22 (22%)	19,1 (14,2 til 22,1)	6,3 (4,8 til 9,8)	0,0001
9-14 uger	129	24 (19%)	20,8 (17,8 til ≥45)	6,4 (3,0 til 10,9)	<0,0001
15-20 uger	85	15 (18%)	20,1 (17,1 til ≥35)	11,3 (2,0 til 22,9)	0,0021

1.3.3 Reduktion eller stigning af CTC forudsiger forbedret eller nedsat OS

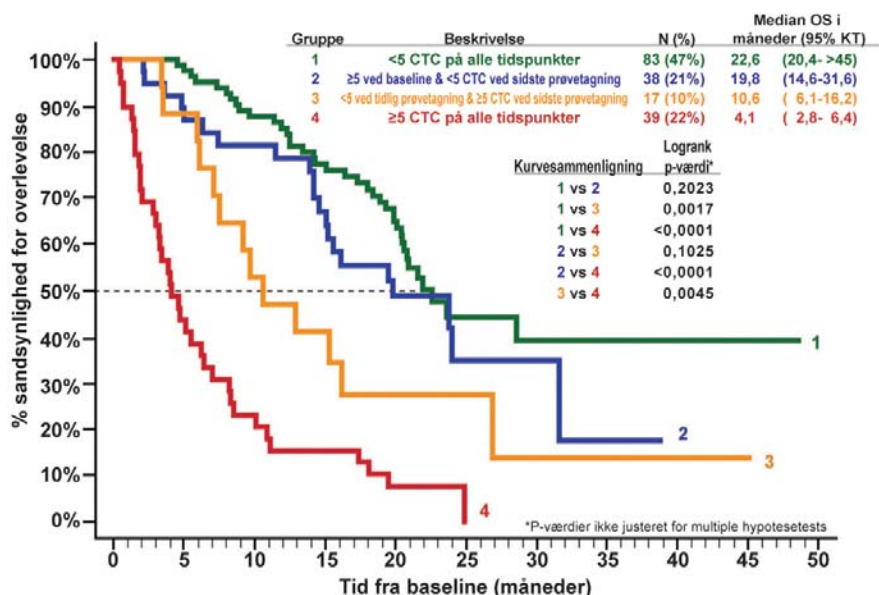
Forløbne OS-tider blev beregnet ud fra blodprøven taget ved baseline. Ved Kaplan-Meier analysen (**Figur 6**) blev patienter opdelt i fire grupper baseret på deres CTC-tal ved baseline, 3-5 uger, 6-8 uger, 9-14 uger og 15-20 uger efter start af behandling:

- Gruppe 1 (**grøn** kurve), 83 (47%) patienter med <5 CTC på alle tidspunkter for blodprøvetagning. Fem (6%) af disse patienter havde kun en baseline-blodprøve, mens to (2%) havde en enkelt blodprøvetagning mellem deres første og sidste blodprøvetagning, der havde ≥5 CTC.
- Gruppe 2 (**blå** kurve), 38 (21%) patienter med ≥5 CTC forud for behandlingsstart, men som var faldet til <5 CTC på tidspunktet for deres sidste blodprøvetagning.
- Gruppe 3 (**orange** kurve) 17 (10%) patienter med <5 CTC ved en tidlig blodprøvetagning (baseline, 3-5 uger og/eller 6-8 uger), men som steg til ≥5 CTC på tidspunktet for deres sidste blodprøvetagning.
- Gruppe 4 (**rød** kurve) 39 (22%) patienter med > 5 CTC på alle blodprøvetagningstidspunkter. Ti (26%) af disse patienter fik kun taget en blodprøve ved baseline.

Figur 6 viser, at MBC-patienter, der overskred tærsklen på 5 CTC på noget som helst tidspunkt efter behandlingsstart, havde en meget højere risiko for kortere samlet overlevelse. Patienter med ≥5 CTC på alle tidspunkter (**Gruppe 4**) havde den korteste mediane OS, som var markant anderledes i forhold til median OS for

Gruppe 3, Gruppe 2 og Gruppe 1. Forskellen i median overlevelse mellem **Gruppe 3** og **Gruppe 1** var også betydelig, og selvom median OS for **Gruppe 3** var kortere i forhold til **Gruppe 2**, var forskellen ikke statistisk signifikant. **Figur 6** viser også, at patienter, der har ≥ 5 CTC ved baseline, men som i sidste ende falder til <5 CTC efter start af behandling, har omtrent samme risiko for død som de patienter, der aldrig overstige tærsklen på 5 CTC.

Figur 6: En reduktion i CTC under 5 efter behandlingsstart forudser længere OS, mens en stigning i CTC-tal til 5 eller mere forudser kortere OS for MBC-patienter



Som illustreret i **Figur 6** og **Tabel 3** i kolonne 4 & 5 havde MBC-patienter med ≥ 5 CTC på et af tidspunkterne en meget højere sandsynlighed for at dø tidligere end dem med <5 CTC. Mediane OS-tider for patienter med <5 CTC varierede fra 19,1 til 21,9 måneder og var væsentligt længere end mediane OS-tider for patienter med ≥ 5 CTC, som lå fra 6,2 til 11,3 måneder.

1.3.4 Univariat Cox-regressionsanalyse hos MBC-patienter

Følgende parametre blev analyseret ved hjælp af univariat Cox-regressionsanalyse for at evaluere sammenhæng med PFS og OS: Patientens alder (kontinuerlig), sygdomsstadie på diagnosetidspunktet (1-4), tid til metastase (kontinuerlig), ECOG-status før start af en ny behandlingslinje (0-2), ER-/PR-status (+/-), HER2/neu-status (0-3+), behandlingslinje (≥ 2 eller 1.), behandlingsform (kemo alene eller hormonal/kombination), baseline CTC-tal (≥ 5 eller <5 CTC/7,5 mL) og CTC-tal ved opfølgning 3-5 uger, 6-8 uger, 9-14 uger og 15-20 uger efter start af behandling (≥ 5 eller <5 CTC/7,5 mL). **Tabel 4** viser resultaterne af denne analyse og præsenterer Cox hazard ratio (HR) og tilhørende p-værdi (Wald test af Z-statistik) samt antallet af patienter i hver evaluering.

Tabel 4: Univariat Cox-regressionsanalyse hos MBC-patienter

Parameter	Kategorier		Antal MBC-patienter	PFS-risiko fra baseline		OS-risiko fra baseline	
	Positiv	Negativ		HR	p-værdi	HR	p-værdi
Alder ved blodprøvetagning ved baseline	Alder i år		175	0,99	0,173	0,99	0,375
Stadie ved primær diagnose	4 vs. 3 vs. 2 vs. 1		164	0,97	0,723	1,00	0,969
ER/PR	Positiv	Negativ	175	0,84	0,327	0,53	0,002
Her-2/neu	3+ vs. 2+ vs. 1+ vs. 0		148	0,91	0,207	0,93	0,422
Baseline ECOG-status	2 vs. 1 vs. 0		172	1,14	0,307	1,64	0,001
Tid til metastase	Tid i år		175	0,97	0,048	0,95	0,018
Behandlingslinje	≥ 2 .	1.	175	1,55	0,007	1,91	0,001
Behandlingstype	Kun kemo	H / C og/eller I	172	1,97	<0,001	2,22	<0,001
CTC-tal ved baseline	≥ 5	<5	177	1,85	<0,001	2,36	<0,001
CTC-tal ved uge 3-5	≥ 5	<5	132	2,52	<0,001	3,30	<0,001
CTC-tal ved uge 6-8	≥ 5	<5	99	3,57	<0,001	2,87	<0,001
CTC-tal ved uge 9-14	≥ 5	<5	129	2,89	<0,001	3,64	<0,001
CTC-tal ved uge 15-20	≥ 5	<5	85	1,86	0,041	2,85	0,004

H/C/og/eller I – Hormonal- og immunterapi alene eller en kombination af hormonal- og/eller kemo- og/eller immunterapi

1.3.5 Multivariat Cox-regressionsanalyse hos MBC-patienter

Multivariate Cox-regressionsanalyser blev gennemført hos MBC-patienter for at vurdere den uafhængige prædiktive effekt af CTC-tal ved at justere for virkningerne af de kendte, vigtige kliniske faktorer, der er statistisk signifikante i univariate analyser. CTC blev konstateret som værende stærke prædiktorer for PFS (Tabel 5) og OS (Tabel 6).

Tabel 5: Multivariat Cox-regressionsanalyse for progressionsfri overlevelse hos MBC-patienter

Variabel	N	Hazard ratio	P-værdi
Baseline CTC (<5 vs. ≥5)	172	1,69	0,001
Tid til metastase (år)		0,98	0,154
Behandlingslinje (1. vs. ≥2.)		1,52	0,013
Behandlingstype (hormonal/anden vs. kun kemo)		1,74	0,001
CTC-opfølgning ved uge 3-5 (<5 vs. ≥5)	132	2,32	<0,001
Tid til metastase (år)		0,97	0,166
Behandlingslinje (1. vs. ≥2.)		1,68	0,008
Behandlingstype (hormonal/anden vs. kun kemo)		1,50	0,060
CTC-opfølgning ved uge 6-8 (<5 vs. ≥5)	99	2,92	<0,001
Tid til metastase (år)		0,93	0,023
Behandlingslinje (1. vs. ≥2.)		1,36	0,175
Behandlingstype (hormonal/anden vs. kun kemo)		1,90	0,005
CTC-opfølgning ved uge 9-14 (<5 vs. ≥5)	129	2,23	0,002
Tid til metastase (år)		0,97	0,170
Behandlingslinje (1. vs. ≥2.)		1,48	0,061
Behandlingstype (hormonal/anden vs. kun kemo)		1,73	0,007
CTC-opfølgning ved uge 15-20 (<5 vs. ≥5)	85	1,58	0,140
Tid til metastase (år)		0,96	0,064
Behandlingslinje (1. vs. ≥2.)		1,80	0,018
Behandlingstype (hormonal/anden vs. kun kemo)		1,66	0,049

Tabel 6: Multivariat Cox-regressionsanalyse for samlet overlevelse hos MBC-patienter

Variabel	N	Hazard ratio	P-værdi
Baseline CTC (<5 vs. ≥5)	170	2,62	<0,001
ER/PR (negativ vs. positiv)		0,57	0,016
ECOG-status ved baseline (2 vs. 1 vs. 0)		1,58	0,001
Tid til metastase (år)		0,97	0,078
Behandlingslinje (1. vs. 2.)		2,33	<0,001
Behandlingstype (hormonal/anden vs. kun kemo)		1,78	0,006
CTC-opfølgning ved uge 3-5 (<5 vs. ≥5)	130	3,78	<0,001
ER/PR (negativ vs. positiv)		0,51	0,020
ECOG-status ved baseline (2 vs. 1 vs. 0)		1,69	0,001
Tid til metastase (år)		0,96	0,142
Behandlingslinje (1. vs. 2.)		2,30	0,001
Behandlingstype (hormonal/anden vs. kun kemo)		1,72	0,026
CTC-opfølgning ved uge 6-8 (<5 vs. ≥5)	99	2,88	0,001
ER/PR (negativ vs. positiv)		0,58	0,062
ECOG-status ved baseline (2 vs. 1 vs. 0)		1,32	0,173
Tid til metastase (år)		0,94	0,135
Behandlingslinje (1. vs. 2.)		2,51	0,001
Behandlingstype (hormonal/anden vs. kun kemo)		2,33	0,003
CTC-opfølgning ved uge 9-14 (<5 vs. ≥5)	129	4,14	<0,001
ER/PR (negativ vs. positiv)		0,39	0,002
ECOG-status ved baseline (2 vs. 1 vs. 0)		1,57	0,016
Tid til metastase (år)		0,98	0,388
Behandlingslinje (1. vs. 2.)		2,21	0,003
Behandlingstype (hormonal/anden vs. kun kemo)		2,28	0,003
CTC-opfølgning ved uge 15-20 (<5 vs. ≥5)	85	3,44	0,006
ER/PR (negativ vs. positiv)		0,38	0,024
ECOG-status ved baseline (2 vs. 1 vs. 0)		1,33	0,321
Tid til metastase (år)		0,94	0,150
Behandlingslinje (1. vs. 2.)		3,43	0,001
Behandlingstype (hormonal/anden vs. kun kemo)		1,67	0,166

1.4 Brug af CTC til monitorering af klinisk status for metastatisk brystcancer

1.4.1 Forholdet mellem overlevelse, CTC og sygdomsvurdering ved billeddiagnostik

Radiologisk billeddiagnostik er et af de primære midler til at fastslå sygdomsstatus og -respons på behandling hos patienter med metastatisk brystcancer. For at fastlægge forholdet mellem klinisk status, som bestemt ved scanning, og CTC, blev CTC målt på to forskellige tidspunkter, og billeddiagnostiske resultater blev sammenlignet 1) med det sande kliniske effektmåls samlede overlevelse og 2) med hinanden.

1.4.2 CTC

Tidligere data har vist, at MBC-patienter med ≥ 5 CTC / 7,5 mL blod ved et hvilket som helst senere opfølgingsbesøg efter behandlingsstart havde en højere risiko for progressiv sygdom og nedsat samlet overlevelse sammenlignet med patienter med < 5 CTC/7,5 mL blod. CTC-resultaterne, der blev opnået ved den første opfølgning efter start af behandling, samt CTC-resultater inden for $\pm$ en måned fra den billeddiagnostiske undersøgelse, blev klassificeret som < 5 CTC og ≥ 5 CTC. Hvis mere end en CTC-værdi blev opnået inden for $\pm$ en måned efter billedundersøgelsen, blev CTC-resultatet tættest på tidspunktet for den billeddiagnostiske undersøgelse anvendt.

1.4.3 Billeddiagnostik

Alle billeddiagnostiske steder var i overensstemmelse med DICOM-standarderne (Digital Imaging and Communications in Medicine). Ved hjælp af standardiserede digitalbilleder klassificerede to sagkyndige radiologer (læsere), der arbejdede individuelt og blindet for kliniske oplysninger, hver opfølgende sygdomsvurdering (i alt 231 billeddiagnostiske undersøgelser) fra 138 patienter med målbar sygdom som ubestemt (I), stabil sygdom (S), partielt respons (PR) eller progressiv sygdom (PD) i henhold til World Health Organization's (WHO) bidimensionelle kriterier. Målbar sygdom blev

defineret som tilstedeværelsen af mindst én læsion ≥ 2 cm i den længste dimension. Læsere identificerede op til otte læsioner pr. patient pr. tidspunkt ved at beskrive den længste dimension af læsionen og den længste vinkelrette dimension. Disse to dimensioner blev multipliceret og "tværproduktet" blev rapporteret. Opsummerede målinger for tværprodukterne blev beregnet, og procentvis ændring fra det tidligere tidspunkt blev fastlagt. Selv om alle patienter havde målbar sygdom, blev ikke-målbare læsioner (der stadig kunne påvises ved røntgen) inkluderet i bestemmelsen af patientens status, som beskrevet i WHO's retningslinjer. Progressiv sygdom blev defineret som en $> 25\%$ stigning i summen af alle læsioner eller fremkomsten af en ny målbar eller ikke-målbar læsion. Partielt respons blev defineret som et fald i summen af alle læsioner på $\geq 50\%$ og ingen nye læsioner.

Radiologifortolkninger fra de to sagkyndige radiologer blev klassificeret som følger:

- S og PR blev anset for begge at afspejle ikke-progressiv sygdom (NPD)
- PD blev anset for at afspejle progressiv sygdom
- I situationer, hvor en af radiologerne vurderede en klassificering som ubestemmelig (I), men den anden radiolog vurderede en klassificering som S, PR eller PD, blev klassificeringen fra sidstnævnte radiolog brugt til sammenligning med CTC (N = 11)
- Når begge radiologer vurderede en klassifikation af ubestemmelig (I), blev disse data ikke anvendt til sammenligning med CTC (N = 3)
- En tredje uafhængig radiolog vurderede uenigheder mellem de to primære læsere vedrørende PD og NPD (N = 27)
- I situationer, hvor den tredje uafhængige radiolog vurderede en klassificering som ubestemmelig (I), blev dataene ikke brugt til sammenligning af CTC (N = 2)
- I seriebilleddiagnostiske undersøgelser blev radiologieresultater, der var mindre end en måned fra en tidligere tabuleret observation, ikke anvendt (N = 1)

1.4.4 Forholdet mellem overlevelse iht. billeddiagnostik og CTC

Separate Kaplan-Meier analyser blev udført for at sammenligne den samlede overlevelse for MBC-patienter i de favorable (<5 CTC) og ikke-favorable (≥ 5 CTC) grupper ved brug af CTC-resultater på to forskellige tidspunkter og den første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse. Ved brug af resultaterne fra de første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelser udført 10,1 $\pm$ 5,1 uger (median = 9,0 uger) efter behandlingsstart (dvs. blodprøvetagning ved baseline) var den mediane overlevelse for de 96 (70%) patienter, som ved billeddiagnostik havde fået konstateret NPD, 23,8 måneder (95% CI 20,4 til 28,6) (**Figur 7, Tabel 7**). For de 42 (30%) patienter, der ved billeddiagnostik havde fået konstateret PD, var den mediane overlevelse 12,9 måneder (95% CI 7,1 til 19,3).

For CTC ved den første opfølgende blodprøvetagning udført 4,3 $\pm$ 2,5 uger (median = 4,0 uger) efter behandlingsstart, var den mediane overlevelse for 104 (75%) patienter med favorable CTC-resultater (<5 CTC) 21,9 måneder (95% CI 20,4 til 26,9) (**Figur 8, Tabel 7**). Fireogtredive (34) patienter (25%) med ikke-favorable CTC-resultater (≥ 5 CTC) havde en median overlevelse på 8,3 måneder (95% CI 5,9 til 15,1).

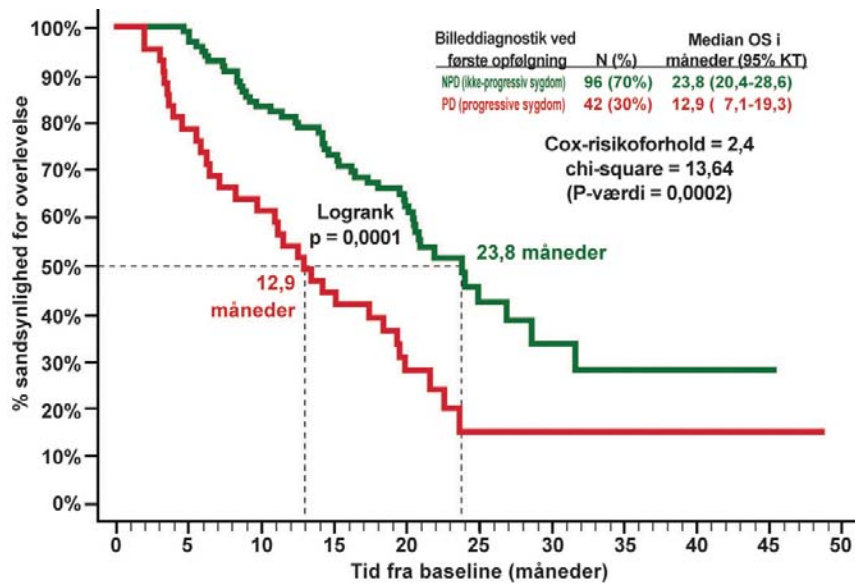
For at afgøre om CTC-vurderinger foretaget tættere på tidspunktet for billeddiagnostik resulterede i lignende overlevelsesudsigter sammenlignet med CTC-vurderingerne udført cirka 4 uger efter start af behandling, blev der kun analyseret patienter med CTC vurderinger foretaget inden for $\pm$ en måned efter første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse (9,9 $\pm$ 5,1 uger, median = 8,8 uger, efter start af behandling) (**Figur 9, Tabel 7**). Et hundrede og fireogtredive (134) af de 138 patienter (97%) fik udført CTC-vurderinger inden for en måned efter første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse. Den mediane overlevelse for 105 (78%) patienter med favorable CTC-resultater var 21,9 måneder (95% CI 19,9 til 31,6). For 29 (22%) patienter med ikke-favorable CTC-resultater var den mediane overlevelse 8,5 måneder (95% CI 5,5 til 15,1). Disse data viser, at CTC-vurderinger på begge tidspunkter giver lignende resultater som billeddiagnostik foretaget cirka 9 uger efter påbegyndelse af behandling (*Clin. Cancer Res.* Vol 12: 6403-6409, November 2006).

Tabel 7: OS for MBC-patienter med CTC-vurdering cirka en måned efter behandlingsstart og inden for en måned efter den radiologiske vurdering

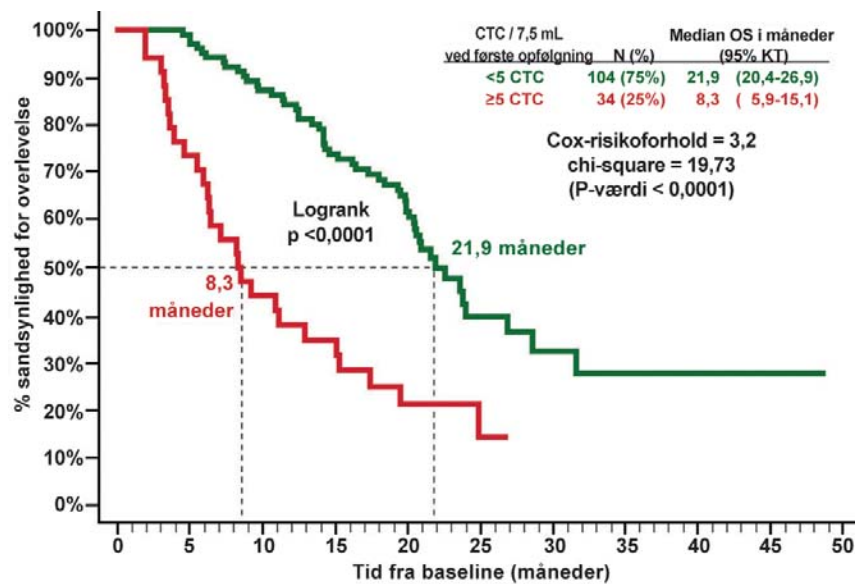
	N	Median overlevelse & (95% CI) måneder
Billeddiagnostik	138	
favorabel (NPD)	96 (70%)	23,8 (20,4 - 28,6)
ikke-favorabel (PD)	42 (30%)	12,9 (7,1 - 19,3)
Første CTC-opfølgning	138	
favorabel (<5)	104 (75%)	21,9 (20,4 - 26,9)
ikke-favorabel (≥ 5)	34 (25%)	8,3 (5,9 - 15,1)
CTC (± 1 måned fra billeddiagnostik)	134*	
favorabel (<5)	105 (78%)	21,9 (19,9 - 31,6)
ikke-favorabel (≥ 5)	29 (22%)	8,5 (5,5 - 15,1)

* 134/138 patienter fik foretaget CTC-vurderinger inden for ($\pm$) 1 måned fra billeddiagnostik.

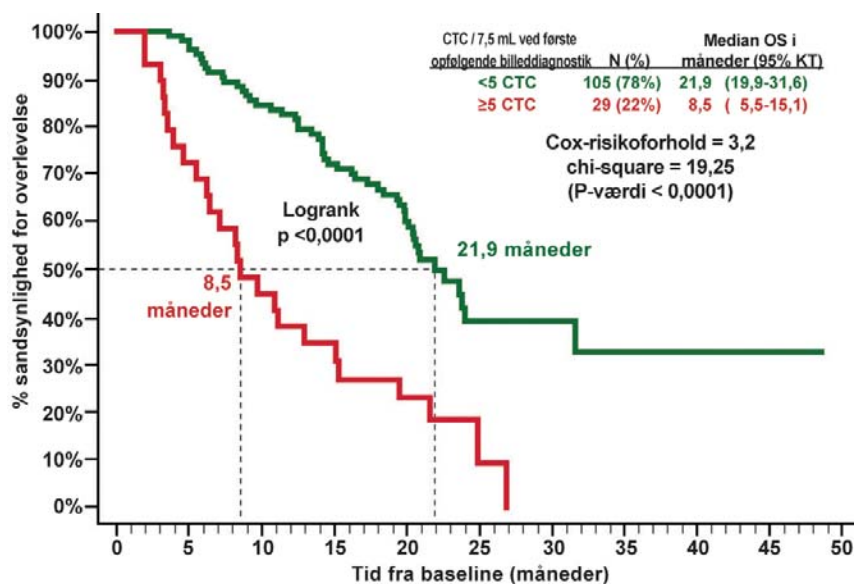
Figur 7: Korrelation mellem radiologisk og CTC-vurdering med OS: OS for MBC-patienter med **NPD** eller **PD** ved første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse (N = 138)



Figur 8: Korrelation mellem radiologisk og CTC-vurdering med OS: OS for MBC-patienter med **<5** eller **≥5** CTC ved første opfølgning efter behandlingsstart (N = 138)



Figur 9: Korrelation mellem radiologisk og CTC-vurdering med OS: OS for MBC-patienter med <5 eller ≥5 CTC inden for ±1 måned fra første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse (N = 134)



1.4.5 Konkordanser mellem CTC og radiologisk monitorering

Som nævnt ovenfor er billeddiagnostiske undersøgelser en vigtig del af den nuværende behandlingsstandard til bestemmelse af sygdomsprogression og reaktion på behandling ved metastatisk brystcancer. For yderligere at understøtte effektiviteten af CTC ved udførelsen af disse kliniske vurderinger (*Clin. Cancer Res.* Vol 12: 6403-6409, November 2006) blev der udarbejdet to-og-to tabuleringer med overensstemmende og uoverensstemmende observationer mellem CTC og radiologisk billeddiagnostik ved hjælp af de tidligere beskrevne kriterier.

Ved brug af kun den første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse blev det radiologiske respons ved denne konsultation sammenlignet med CTC-resultaterne opnået inden for ± en måned efter denne billeddiagnostiske undersøgelse. I alt 134 af de 138 MBC-patienter (97%) havde CTC-resultater, som opfyldte dette kriterium. Resultatet af denne "patientvis" sammenligning mellem CTC og billeddiagnostik er vist i **Tabel 8**.

Tabel 8: MBC patientvis sammenligning af CTC og billeddiagnostik

Respons ved første billeddiagnostiske opfølgning	CTC inden for ±1 måned fra billeddiagnostik		I alt
	<5 CTC / 7,5 mL	≥5 CTC / 7,5 mL	
Ikke-progressiv sygdom (NPD)	85	9	94
Progressiv sygdom (PD)	20	20	40
I alt	105	29	134

Måling	Estimat	Nedre 95% CI	Øvre 95% CI
Positiv % overensstemmelse	50%	34%	66%
Negativ % overensstemmelse	90%	83%	96%
Positiv prædiktiv værdi	69%	49%	85%
Negativ prædiktiv værdi	81%	72%	88%
Samlet overensstemmelse	78%	70%	85%
Odds ratio	9,4	3,4	26,8

Ved brug af alle de opfølgende billeddiagnostiske undersøgelser udført efter start af behandling på de 138 MBC-patienter, hvis radiologiske responsresultater (N = 225) blev vurderet som anvendelige, blev disse resultater sammenholdt med CTC-resultater indhentet inden for ± en måned efter den billeddiagnostiske undersøgelse. I alt 219 af de 225 (97%) billeddiagnostiske undersøgelser havde CTC-resultater, der opfyldte dette kriterium. Resultatet af denne "patientvis" sammenligning mellem CTC og billeddiagnostik er vist i **Tabel 9**.

Tabel 9: MBC-observationsvis sammenligning af CTC og billeddiagnostik

Respons ved alle billeddiagnostiske opfølgende undersøgelser	CTC inden for ±1 måned fra billeddiagnostik		I alt
	<5 CTC / 7,5 mL	≥5 CTC / 7,5 mL	
Ikke-progressiv sygdom (NPD)	151	16	167
Progressiv sygdom (PD)	30	22	52
I alt	181	38	219

Måling	Estimat	Nedre 95% CI	Øvre 95% CI
Positiv % overensstemmelse	42%	29%	57%
Negativ % overensstemmelse	90%	85%	94%
Positiv prædiktiv værdi	58%	41%	74%
Negativ prædiktiv værdi	83%	77%	89%
Samlet overensstemmelse	79%	73%	84%
Odds ratio	6,9	3,0	15,8

I serieobservationer faldt kun et mindretal af overgangene for billeddiagnostiske resultater mellem ikke-progressiv sygdom og progressiv sygdom sammen med en matchende overgang af CTC-tal mellem <5 og ≥5 CTC/7,5 mL.

Da den prognostiske værdi af CTC-resultater på et tidligere tidspunkt svarede til CTC-resultaterne på tidspunktet for billeddiagnosticering (Figur 8 og Figur 9), blev der udarbejdet en patientvis sammenligning ved hjælp af resultater fra kun den første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse udført ca. 9 uger efter start af behandling og CTC-resultater opnået ved første opfølgning udført cirka 4 uger efter behandlingens start. Alle 138 MBC-patienter havde CTC-resultater, der opfyldte dette kriterium. Resultatet af denne "patientvise" sammenligning mellem CTC på et tidligere tidspunkt og billeddiagnostik er vist i **Tabel 10**.

Tabel 10: MBC patientvis sammenligning af CTC og billeddiagnostik

Respons ved første billeddiagnostiske opfølgning	CTC ved første opfølgning		I alt
	<5 CTC / 7,5 mL	≥5 CTC / 7,5 mL	
Ikke-progressiv sygdom (NPD)	84	12	96
Progressiv sygdom (PD)	20	22	42
I alt	104	34	138

Måling	Estimat	Nedre 95% CI	Øvre 95% CI
Positiv % overensstemmelse	52%	36%	68%
Negativ % overensstemmelse	88%	79%	93%
Positiv prædiktiv værdi	65%	46%	80%
Negativ prædiktiv værdi	81%	72%	88%
Samlet overensstemmelse	77%	69%	84%
Odds ratio	7,7	3,0	19,9

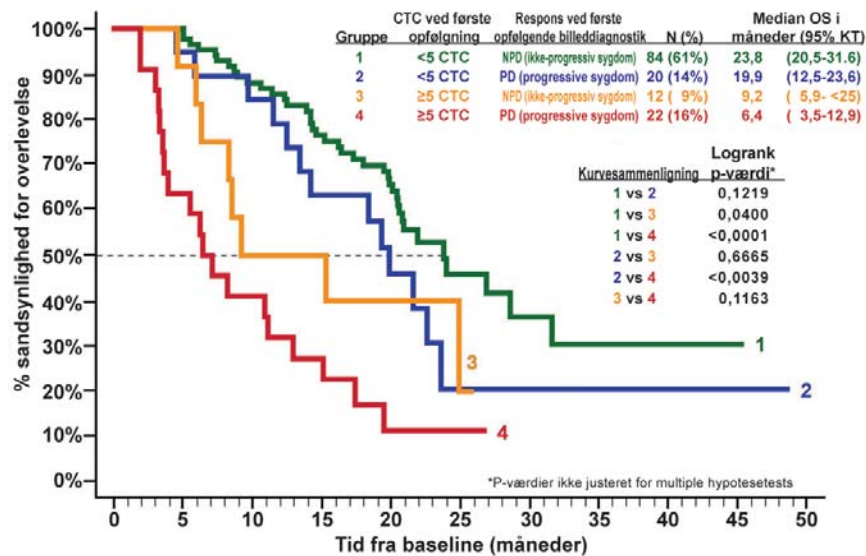
1.4.6 CTC som et supplement til billeddiagnostik

Mens den samlede overensstemmelse mellem CTC og billeddiagnostik var god (ca. 78%), var der uoverensstemmelse i forbindelse med ca. 22% af MBC-patienterne. Da oplysningerne fra CTC-vurderinger er beregnet til anvendelse sammen med andre diagnostiske metoder til at træffe beslutninger om behandlinger, blev CTC-vurdering ved første opfølgning (ca. 4 uger efter start af behandling) og billeddiagnostik i følgende grupper sammenlignet med OS for at bestemme, hvilke af de uoverensstemmende resultater, der bedst afspejlede prognosen for patienten (**Figur 10**):

- Gruppe 1 (**grøn** kurve), 84 (61%) patienter med <5 CTC ved første opfølgning og NPD.
- Gruppe 2 (**blå** kurve), 20 (14%) patienter med <5 CTC ved 1. opfølgning og PD.
- Gruppe 3 (**orange** kurve), 12 (9%) patienter med ≥5 CTC ved første opfølgning og NPD.
- Gruppe 4 (**rød** kurve), 22 (16%) patienter med ≥5 CTC ved første opfølgning og PD.

I denne undersøgelse er bestemmelse af CTC en stærk uafhængig prædiktør for overlevelse. Undersøgelsens resultater viste, at kombinationen af CTC og radiologiske vurderinger giver den mest præcise prognosevurdering.

Figur 10: OS for MBC-patienter i gruppe 1, 2, 3 og 4 ved brug af den første opfølgende CTC-vurdering efter start af behandlingen (N = 138) og sygdomsstatus bestemt ved første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelser



1.5 Variation i CTC og radiologiske vurderinger

1.5.1 CTC

Variationen mellem læserne vedrørende CTC-tallet på den første opfølgende blodprøvetagning blev bestemt ved at tælle antallet af tilfælde, hvor operatøren på testcentret ikke var i overensstemmelse med det centrale laboratorium i klassificeringen af en prøve som ≥ 5 CTC versus < 5 CTC. I en undergruppe på 71 patienter blev der taget og behandlet to rør med blod, og klassificeringen af ≥ 5 CTC versus < 5 CTC i hver af de to rør, som bestemt af centret såvel som af det centrale laboratorium, blev sammenlignet.

1.5.2 Billeddiagnostik

Variationen mellem læserne blev bestemt ved at sammenligne radiologiske fortolkninger fra de to radiologer, klassificeret som NPD vs PD. Variationen mellem læserne blev beregnet ved at sammenligne de radiologiske fortolkninger fra de to radiologer i en undergruppe af patienter, hvor hver radiolog bestemte responset ved tre separate scanninger, hvor der var mindst en uge mellem hver scanning. Billeddiagnostiske segmenter af senere vurderinger hos disse 138 MBC patienter og CTC-vurderinger før start af behandling og senere opfølgninger blev også undersøgt.

Tabel 11: Variation i radiologiske og CTC-vurderinger hos MBC-patienter

	n	Radiologi NPD- vs. PD- uoverensstemmelse	n	CTC / 7,5 mL ≤5 vs. ≥5 uoverensstemmelse
<i>Læsere imellem</i>				
Første opfølgning	132	11,4%	138	0,7%
Vilkårlig opfølgning	217	13,4%	695	1,0%
<i>Læsere imellem</i>				
1. opfølgning				
Læser 1 (radiologi)	24	25,0%	—	—
Læser 2 (radiologi)	22	9,1%	—	—
Vilkårlig opfølgning				
Læser 1 (radiologi)	30	20,0%	—	—
Læser 2 (radiologi)	28	10,7%	—	—
<i>Rør-til-rør CTC</i>				
Første opfølgning	—	—	71	5,6%
Vilkårlig opfølgning	—	—	403	5,5%

Tabel 11 viser, at variationen mellem læserne i de radiologiske målinger var signifikant højere i både den første opfølgningssygdomsvurdering og i alle efterfølgende opfølgningssygdomsvurderinger i forhold til variationen mellem læserne i CTC-tal i de samme grupper (Fisher's $P < 0,001$).

I de tilfælde hvor CTC og radiologisk vurdering var uoverensstemmende, gav CTC den mest præcise vurdering af prognosen.

2 Patienter med metastatisk kolorektal cancer (MCRC)

Et prospektivt, klinisk multicenterforsøg blev udført for at bestemme, hvorvidt antallet af CTC forudsagde sygdomsprogression og overlevelse. Metastatisk kolorektal cancer hos patienter med målbar (N = 430) sygdom, der starter en ny behandlingslinje, blev rekrutteret. Kliniske data blev analyseret på et intent-to-treat-princip. Patientdemografiske oplysninger er præsenteret i **Tabel 12**.

Baseline CTC-tallet blev bestemt før starten af en ny behandlingslinje. Opfølgende CTC-tal blev bestemt efter start af behandlingen med omkring 3 til 4 ugers mellemrum. For baseline-analyser blev progressionsfri overlevelse (PFS) målt fra tidspunktet for baseline-blodprøvetagning til diagnosticering af progression med CT-scanninger og/eller kliniske tegn og symptomer, og den samlede overlevelse (OS) blev målt fra tidspunktet for baseline-blodprøvetagning til tidspunktet for dødsfaldet. Ved de opfølgende analyser blev PFS målt fra tidspunktet for blodprøvetagning ved opfølgning til diagnosticering af progression eller død, og OS blev målt fra tidspunktet for blodprøvetagningen ved opfølgning til dødstidspunktet.

Tabel 12: MCRC-patientdemografi

Kategori		N = 430 patienter
Alder ved baseline (i år)	Middelværdi ± std. deviation (median)	63,0 ± 12,6 (64)
År til metastase	Middelværdi ± std. deviation (median)	0,9 ± 1,4 (0,1)
	Beskrivelse af kategorier	Antal forsøgspersoner (% af total)
Køn	Kvinde	192 (45%)
	Mand	238 (55%)
Race	Hvid	305 (71%)
	Sort	44 (10%)
	Andet	12 (3%)
	Ukendt	69 (16%)
Baseline ECOG-score	0	196 (46%)
	1	187 (43%)
	2	31 (7%)
	Ukendt	16 (4%)
Tumortype ved primær diagnose	Colon	292 (68%)
	Rektal	71 (17%)
	Kolorektal	66 (15%)
	Ukendt	1 (0%)
Stadie ved primær diagnose	1	12 (3%)
	2	45 (11%)
	3	118 (27%)
	4	232 (54%)
	Ukendt	23 (5%)
Levermetastase	Nej	117 (27%)
	Ja	313 (73%)
Behandlingslinje	1. linje	309 (72%)
	2. linje	95 (22%)
	3. linje	26 (6%)
Behandlingstype	Bevacizumab	243 (56%)
	Irinotecan	103 (24%)
	Oxaliplatin	253 (59%)
	Ukendt	25 (6%)

2.1 CTC-frekvenser

Af det samlede antal på 430 MCRC-patienter fik 9 taget en baseline-blodprøve og ingen opfølgende blodprøver. Af disse 9 patienter døde fire før en opfølgende blodprøve kunne tages, to blev taget ud deres behandling på grund af behandlingsrelateret toksicitet, en patient gennemgik en operation for at fjerne sin målbare sygdom, en patient nægtede yderligere behandling og en patient nægtede yderligere blodprøvetagninger. Af de resterende patienter fik 362, 342, 321 og 211 foretaget opfølgende blodprøvetagninger hhv. 1-2 uger, 3-5 uger, 6-12 uger og 13-20 uger efter start af behandling. Forskellen i antallet af patienter, der kunne evalueres for PFS og OS ved hvert tidspunkt, skyldes progressionen af nogle patienter forud for blodprøvetagningen, mens forskellen i antallet af patienter på hvert tidspunkt skyldes antallet af patienter med blodprøvetagninger og evaluerbare CTC-resultater.

Tabel 13 viser antallet af patienter udelukket fra PFS-, OS-, eller PFS- og OS-analyser ved hvert tidspunkt og årsagerne til deres udelukkelse.

Tabel 13: Udelukkelser fra analyser af progressionsfri og samlet overlevelse hos MCRC-patienter

Timing for blodprøvetagning	Årsager til udelukkelse af MCRC-patienter fra analyser:						Samlet antal evaluerbare MCRC-patienter:	
	PFS & OS				Kun PFS	Kun OS	PFS	OS
	Blodprøve ikke taget	Blodprøve taget 1-7 dage efter administration af behandling	Ingen opfølgning ud over dato for blodprøvetagning	Ikke-evaluerbare CTC-resultater	Blodprøve taget efter dato for sygdoms progression	Ingen opfølgning ud over dato for blodprøvetagning		
Baseline	1	11	0	5	0	0	413	413
1-2 uger	68	0	0	5	1	0	356	357
3-5 uger	88	0	1	8	4	0	329	333
6-12 uger	109	0	4	7	26	0	284	310
13-20 uger	219	0	9	8	14	1	180	193

CTC-resultaterne fra de opfølgende blodprøvetagninger 1-2 uger, 3-5 uger, 6-12 uger og 13-20 uger efter start af behandling blev klassificeret som værende favorable (<3 CTC) eller ikke-favorable (≥3 CTC). Hvis mere end et CTC-resultat blev opnået inden for nogen af de udpegede tidspunkter for opfølgning, blev CTC-resultatet fra blodprøvetagningen længst fra blodprøvetagningen ved baseline brugt.

Tabel 15 sammenfatter det samlede antal MCRC-patienter og procentdelen af patienter med ikke-favorabel CTC i det kliniske forsøg, der adskiller sig fra de tal og procentdele af patienter med progressionsfri overlevelse, der er vist i **Tabel 14**.

2.2 Analyse af progressionsfri overlevelse (PFS) hos MCRC-patienter

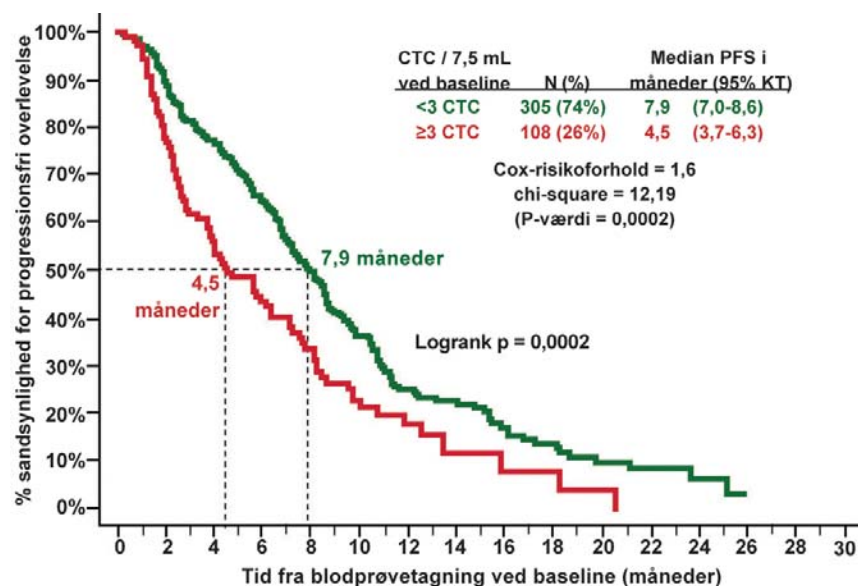
2.2.1 PFS ved brug af CTC-resultater fra baseline

Fire hundrede og tretten (413) af de 430 MCRC-patienter havde et tilgængeligt CTC-baselineresultat. Ved Kaplan-Meier analyse blev patienterne opdelt i to grupper baseret på deres CTC-tal ved baseline:

- Den favorable gruppe (N = 305), vist med **grøn**, bestod af patienter med <3 CTC.
- Den ikke-favorable gruppe (N = 108), vist med **rød**, bestod af patienter med ≥3 CTC.

Median PFS var signifikant længere i den favorable gruppe sammenlignet med den ikke-favorable gruppe (hvh. 7,9 vs 4,5 måneder). Resultaterne er illustreret i **Figur 11** og **Tabel 14**.

Figur 11: PFS for MCRC-patienter med <3 eller ≥3 CTC ved baseline (N = 413).

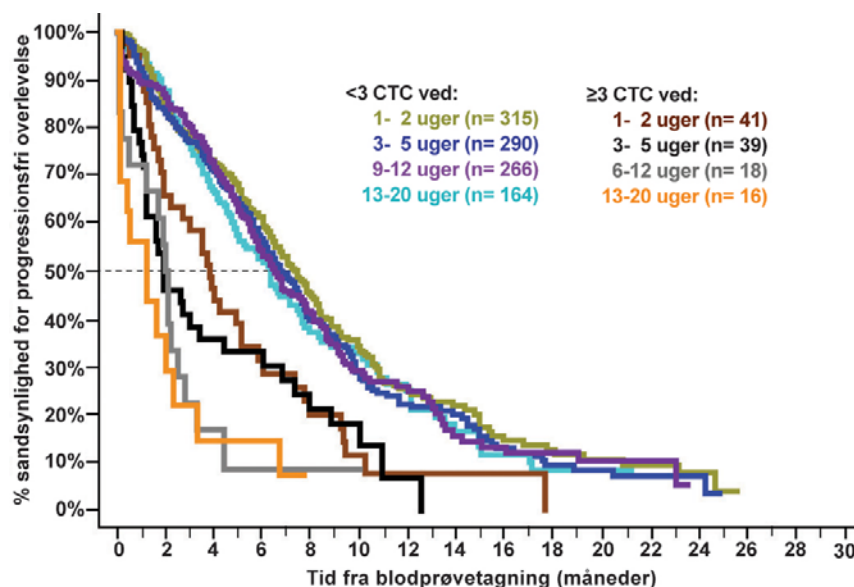


2.2.2 PFS ved brug af CTC-resultater fra opfølgning

Ved Kaplan-Meier analyse blev MCRC-patienterne opdelt i to grupper baseret på deres CTC-tal ved hver af de forskellige opfølgende blodprøvetagninger. Begge patientgrupper ved hver af de forskellige opfølgende blodprøvetagningstidspunkter efter start af behandlingen for PFS illustreres i **Figur 12**. PFS-tider blev beregnet fra tidspunktet for hver enkelt blodprøvetagning, og alle patienter, der udviste tegn på progression før en bestemt blodprøvetagning, blev udelukket fra analysen af denne og alle efterfølgende opfølgingsblodprøver. **Figur 12** illustrerer CTC's evne til at forudsige PFS for MCRC-patienter med <3 og ≥ 3 CTC 1-2 uger, 3-5 uger, 6-12 uger og 13-20 uger efter behandlingsstart.

- Den favorable gruppe, der er vist med **olivengrøn**, **blå**, **lilla** og **cyan**, bestod af patienter med <3 CTC.
- Den ikke-favorable gruppe, der er vist med **brun**, **sort**, **grå** og **orange**, bestod af patienter med ≥ 3 CTC.

Figur 12: PFS af MCRC-patienter med <3 eller ≥ 3 CTC på forskellige tidspunkter af opfølgning



Tabel 14 opsummerer resultaterne af PFS-analysen med CTC-niveauer og en tærskel på ≥ 3 CTC/7,5 mL ved hvert af de forskellige tidspunkter for blodprøvetagning.

Tabel 14: Progressionsfri overlevelse (PFS) for MCRC-patienter med <3 eller ≥ 3 CTC på forskellige tidspunkter

1	2	3	4	5	6
Prøvetagningstid efter Tx-start	N	≥ 3 CTC	Median PFS i måneder (95% CI)		Log-rank p-værdi
			<3 CTC	≥ 3 CTC	
Baseline	413	108 (26%)	7,9 (7,0 - 8,6)	4,5 (3,7 - 6,3)	0,0002
1-2 uger	356	41 (12%)	7,3 (6,5 - 8,1)	3,8 (1,9 - 5,1)	<0,0001
3-5 uger	329	39 (12%)	6,8 (6,1 - 7,6)	1,9 (1,2 - 4,4)	<0,0001
6-12 uger	284	18 (6%)	6,5 (5,8 - 7,7)	2,0 (0,5 - 2,5)	<0,0001
13-20 uger	180	16 (9%)	6,3 (4,9 - 7,4)	1,2 (0,1 - 2,3)	<0,0001

Som illustreret i **Figur 12** og **Tabel 14** havde MCRC-patienter med højt CTC (≥ 3 CTC/7,5 mL helblod) på et hvilket som helst af tidspunkterne en meget højere risiko for hurtig progression end dem med <3 CTC. **Tabel 14** kolonne 4 viser mediane PFS-tider for patienter med <3 CTC varierende fra 6,3 til 7,9 måneder og var væsentligt længere end de mediane PFS-tider for patienter med ≥ 3 CTC, som lå fra 1,2 til 4,5 måneder (kolonne 5).

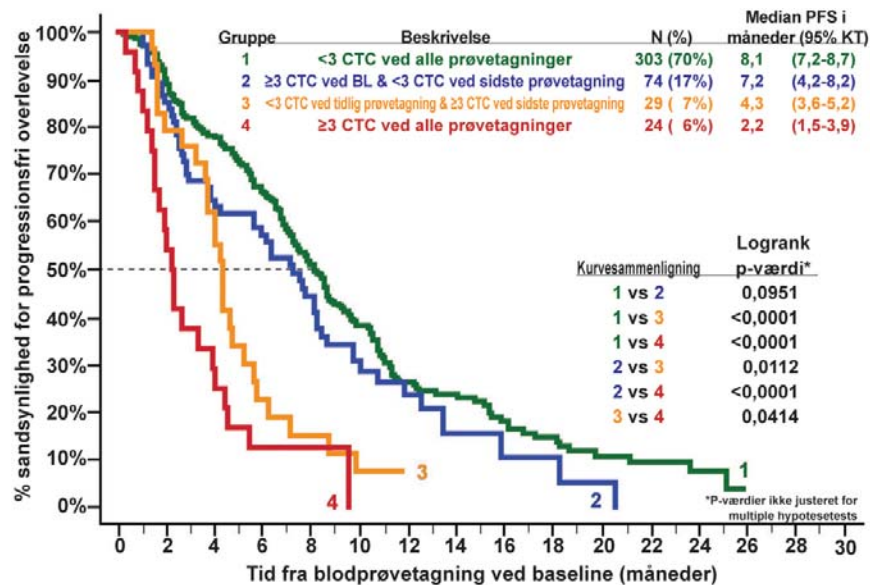
2.2.3 Reduktion eller stigning af CTC forudsiger forbedret eller nedsat PFS

Forløbne PFS-tider blev beregnet ud fra blodprøvetagning ved baseline. Ved Kaplan-Meier analysen (**Figur 13**) blev MCRC-patienter opdelt i fire grupper baseret på deres CTC-tal ved baseline, 1-2 uger, 3-5 uger, 6-12 uger og 13-20 uger efter start af behandling:

- Gruppe 1 (**grøn** kurve), 303 (70%) patienter med <3 CTC på alle tidspunkter. Syv (2%) af disse patienter havde kun en blodprøve taget ved baseline, mens to (3%) havde en enkelt blodprøvetagning mellem deres første og sidste blodprøvetagning, der havde ≥ 3 CTC.
- Gruppe 2 (**blå** kurve), 74 (17%) patienter med ≥ 3 CTC forud for behandlingsstart, men som var faldet til <3 CTC på tidspunktet for deres sidste blodprøvetagning.

- Gruppe 3 (**orange** kurve), 29 (7%) patienter med <3 CTC ved en tidlig blodprøvetagning (baseline, 1-2 uger og/eller 3-5 uger), men som steg til ≥3 CTC på tidspunktet for deres sidste blodprøvetagning.
- Gruppe 4 (**rød** kurve), 24 (6%) patienter med ≥3 CTC på alle tidspunkter. Tre (13%) af disse patienter havde kun en blodprøve fra baseline, en (4%) havde kun en blodprøve fra 3-5 uger og en (4%) havde en enkelt blodprøve mellem deres første og sidste blodprøve, der havde <3 CTC.

Figur 13: En reduktion i CTC under 3 efter behandlingens start forudser længere PFS hos MCRC-patienter



Figur 13 viser, at MCRC-patienter med ≥3 CTC på alle tidspunkter (**Gruppe 4**) havde den korteste median PFS, som var signifikant anderledes sammenlignet med median PFS for **Gruppe 3**, **Gruppe 2** og **Gruppe 1**. Forskellen i median PFS mellem de patienter, der udviste en CTC-reduktion efter start af behandling (**Gruppe 2**) var signifikant længere i forhold til de patienter, der viste en CTC-stigning (**Gruppe 3**).

2.3 Analyse af samlet overlevelse (OS) for MCRC-patienter

2.3.1 OS analyse ved brug af CTC-resultater fra baseline

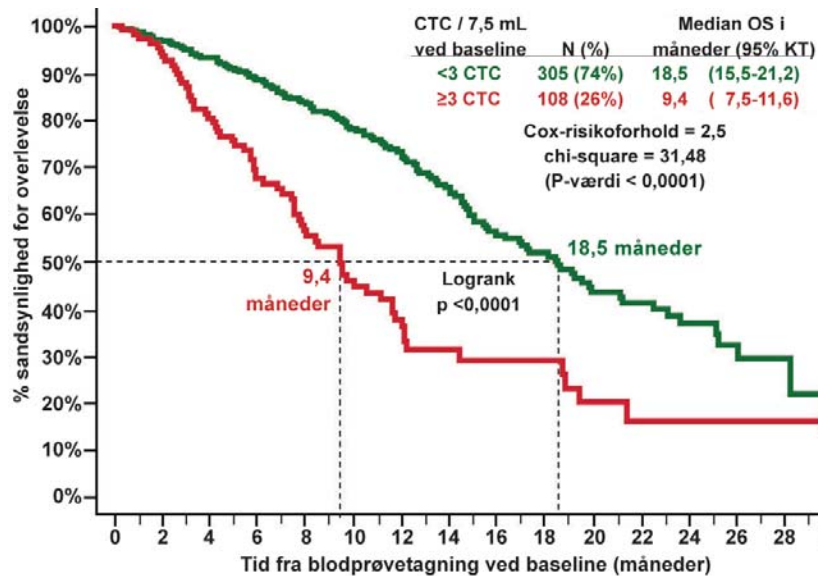
Dødsfald forekom hos 202 (47%) af de 430 MCRC-patienter med en gennemsnitlig opfølgningstid for de 228 (53%) patienter, der stadig var i live, på 12,6 ± 6,5 måneder (median = 11,0, interval = 0,8 til 30,0). På tidspunktet for disse analyser var 124 (41%) af 305 patienter fra den favorable gruppe (<3 CTC ved baseline) døde sammenlignet med 68 (63%) af 108 patienter fra den ikke-favorable gruppe (≥3 CTC ved baseline).

Ved Kaplan-Meier analyse blev patienterne opdelt i to grupper baseret på deres CTC-tal ved baseline:

- Den favorable gruppe (N = 305), vist med **grøn**, bestod af patienter med <3 CTC.
- Den ikke-favorable gruppe (N = 108), vist med **rød**, bestod af patienter med ≥3 CTC.

Median OS var signifikant længere i den favorable gruppe sammenlignet med den ikke-favorable gruppe (henholdsvis 18,5 vs. 9,4 måneder). Resultaterne er illustreret i **Figur 14**.

Figur 14: OS for MCRC-patienter med <3 eller ≥3 CTC ved baseline (N = 413).

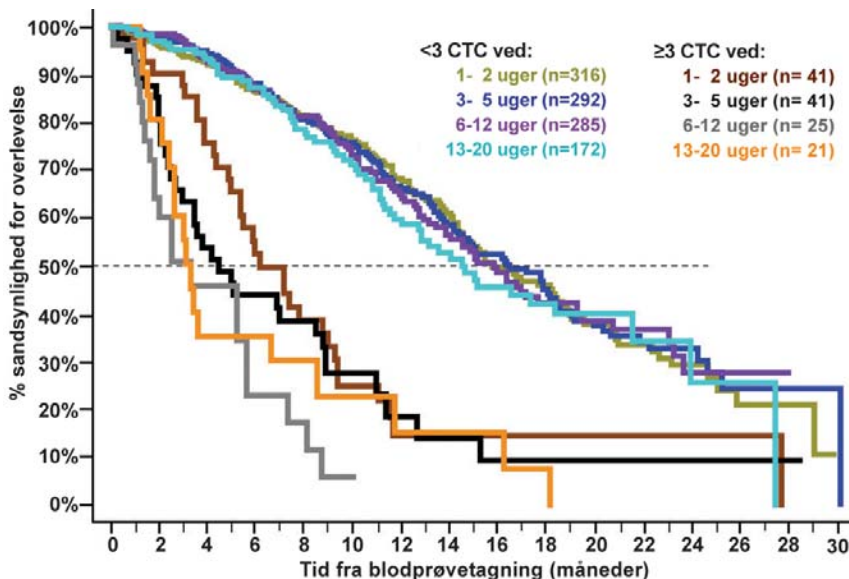


2.3.2 OS ved brug af CTC-resultater fra opfølgning

Kaplan-Meier analyser af begge MCRC-patientgrupper på hvert af de forskellige tidspunkter for opfølgende blodprøvetagning efter start af behandling er illustreret i **Figur 15**. Denne figur illustrerer CTC's evne til at forudsige dødstidspunktet hos 421 patienter med metastatisk kolorektal cancer med <3 og ≥3 CTC 1-2 uger, 3-5 uger, 6-12 uger, 13-20 uger efter start af behandlingen. OS tider blev beregnet fra tidspunktet for hver blodprøvetagning.

- Den favorable gruppe, der er vist med **olivengrøn**, **blå**, **lilla** og **cyan**, bestod af patienter med <3 CTC.
- Den ikke-favorable gruppe, der er vist med **brun**, **sort**, **grå** og **orange**, bestod af patienter med ≥3 CTC.

Figur 15: OS for MCRC-patienter med <3 eller ≥3 CTC på forskellige opfølgningstidspunkter



Tabel 15 opsummerer resultaterne af OS-analysen med CTC-niveauer og en tærskel på ≥ 3 CTC/7,5 mL på hvert af de forskellige blodprøvetagningstidspunkter.

Tabel 15: Samlet overlevelse (OS) for MCRC-patienter med <3 eller ≥ 3 CTC på forskellige tidspunkter

1	2	3	4	5	6
Prøvetagningstid efter Tx-start	N	≥3 CTC	Median OS i måneder (95% CI)		Log-rank p-værdi
			<3 CTC	≥3 CTC	
Baseline	413	108 (26%)	18,5 (15,5 - 21,2)	9,4 (7,5 - 11,6)	<0,0001
1-2 uger	357	41 (11%)	15,7 (14,3 - 18,4)	6,1 (4,9 - 8,9)	<0,0001
3-5 uger	333	41 (12%)	16,4 (14,1 - 18,3)	4,4 (2,6 - 8,7)	<0,0001
6-12 uger	310	25 (8%)	15,8 (13,8 - 19,2)	3,3 (1,8 - 5,6)	<0,0001
13-20 uger	193	21 (11%)	14,6 (12,0 - 21,5)	3,3 (2,4 - 8,5)	<0,0001

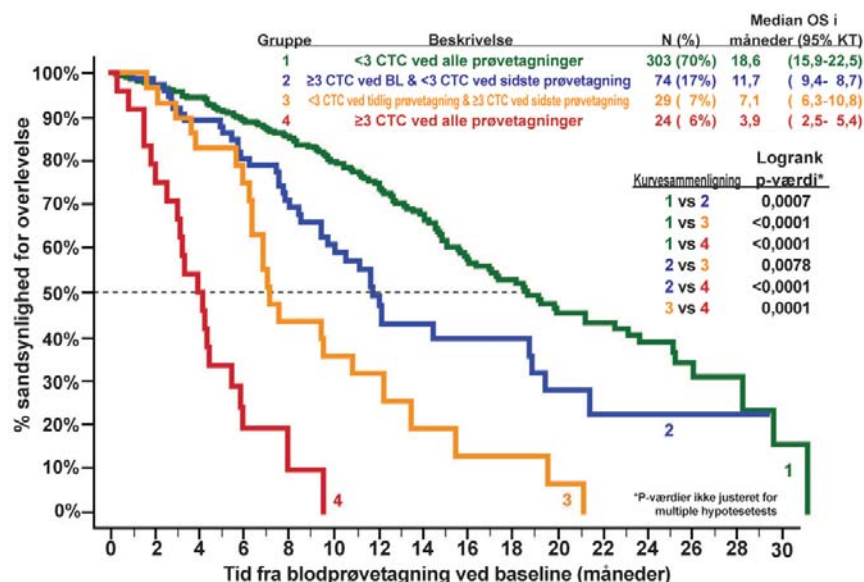
Som illustreret i **Figur 15** og **Tabel 15** i kolonne 4 & 5 havde MCRC-patienter med ≥ 3 CTC på et hvilket som helst af tidspunkterne en meget højere sandsynlighed for at dø tidligere end dem med <3 CTC. Mediane OS-tider for patienter med <3 CTC varierede fra 14,6 til 18,5 måneder og var væsentligt længere end mediane OS-tider for patienter med ≥ 3 CTC, som lå fra 3,3 til 9,4 måneder.

2.3.3 Reduktion eller stigning af CTC forudsiger forbedret eller nedsat OS

Forløbne OS-tider blev beregnet ud fra blodprøven taget ved baseline. Ved Kaplan-Meier analysen (**Figur 16**) blev MCRC-patienter opdelt i fire grupper baseret på deres CTC-tal ved baseline, 1-2 uger, 3-5 uger, 6-12 uger og 13-20 uger:

- Gruppe 1 (**grøn** kurve), 303 (70%) patienter med <3 CTC på alle tidspunkter. Syv (2%) af disse patienter havde kun en blodprøve taget ved baseline, mens otte (3%) havde en enkelt blodprøvetagning mellem deres første og sidste blodprøvetagning, der havde ≥ 3 CTC.
- Gruppe 2 (**blå** kurve), 74 (17%) patienter med ≥ 3 CTC forud for behandlingsstart, men som var faldet til <3 CTC på tidspunktet for deres sidste blodprøvetagning.
- Gruppe 3 (**orange** kurve), 29 (7%) patienter med <3 CTC ved en tidlig blodprøvetagning (baseline, 1-2 uger og/eller 3-5 uger), men som steg til ≥ 3 CTC på tidspunktet for deres sidste blodprøvetagning.
- Gruppe 4 (**rød** kurve), 24 (6%) patienter med ≥ 3 CTC på alle tidspunkter. Tre (13%) af disse patienter havde kun en blodprøve fra baseline, en (4%) havde kun en blodprøve fra 3-5 uger og en (4%) havde en enkelt blodprøve mellem deres første og sidste blodprøve, der havde <3 CTC.

Figur 16: En reduktion i CTC under 3 efter behandlingsstart forudser længere OS, hvorimod en stigning i CTC-tal til 3 eller derover forudser kortere OS for MCRC-patienter



Figur 16 viser, at MCRC-patienter, der overskred tærsklen på 3 CTC på noget som helst tidspunkt efter behandlingsstart, havde en meget højere risiko for at dø tidligere. Patienter med ≥ 3 CTC på alle tidspunkter (**Gruppe 4**) havde den korteste mediane OS, som var signifikant anderledes i forhold til median OS for **Gruppe 3**, **Gruppe 2** og **Gruppe 1**. Patienter med <3 CTC på alle tidspunkter (**Gruppe 1**) havde den korteste mediane OS, som var signifikant anderledes i forhold til median OS for **Gruppe 4**, **Gruppe 3** og **Gruppe 2**. Figur 16 viser desuden, at patienter, der udviste et fald i CTC (**Gruppe 2**), havde en signifikant lavere risiko for at dø sammenlignet med patienter med en stigning i CTC (**Gruppe 3**).

2.3.4 Univariat Cox-regressionsanalyse hos MCRC-patienter

Følgende parametre blev analyseret ved hjælp univariat Cox-regressionsanalyse for at evaluere sammenhæng med PFS og OS: Køn, sygdomsstadie på diagnosetidspunktet (1-4), tid til metastase (kontinuerlig), patientens alder (≥ 65 eller < 65), sted for primær sygdom (kolorektal eller rektal eller colon), ECOG-status før start af en ny behandlingslinje (0-2), behandlingslinje (1. eller 2. eller 3.), forekomst af levermetastaser (ja eller nej), type af behandling (bevacizumab, irinotecan, og/eller oxaliplatin inkluderet eller ej), baseline-CTC tal (≥ 3 eller < 3 CTC/7,5 mL) og opfølgende CTC-tal 1-2 uger, 3-5 uger, 6-12 uger og 13-20 uger efter behandlingsstart (≥ 3 eller < 3 CTC/7,5 mL). **Tabel 16** viser resultaterne af denne analyse og præsenterer Cox hazard ratio (HR) og tilhørende p-værdi (Wald-test af Z-statistik) samt antallet af patienter i hver evaluering.

Tabel 16: Univariat Cox-regressionsanalyse hos MCRC-patienter

Parameter	Kategorier		Antal MCRC-patienter	PFS-risiko fra baseline		OS-risiko fra baseline	
	Positiv	Negativ		HR	p-værdi	HR	p-værdi
Køn	Mand (1)	Kvinde (0)	430	1,01	0,944	1,23	0,156
Stadie ved primær diagnose	4 vs. 3 vs. 2 vs. 1		407	0,98	0,734	1,09	0,330
Tid til metastase	Tid i år		428	1,00	0,901	0,92	0,121
Alder ved blodprøvetagning ved baseline	≥ 65 år	< 65 år	430	1,65	$< 0,001$	1,82	$< 0,001$
Sted for primær sygdom	Kolorektal (2) vs. rektal (1) vs. colon (0)		429	1,03	0,733	1,02	0,866
Baseline ECOG-status	2 vs. 1 vs. 0		414	1,32	0,002	1,65	$< 0,001$
Behandlingslinje	3 vs. 2 vs. 1		430	2,04	$< 0,001$	1,63	$< 0,001$
Levermetastaser	Ja	Nej	430	0,86	0,225	1,23	0,198
Bevacizumab	Ja	Nej	405	0,54	$< 0,001$	0,62	0,001
Irinotecan	Ja	Nej	405	1,51	0,001	1,39	0,029
Oxaliplatin	Ja	Nej	405	0,53	$< 0,001$	0,69	0,008
CTC-tal ved baseline	≥ 3	< 3	413	1,59	$< 0,001$	2,48	$< 0,001$
CTC-tal ved uge 1-2	≥ 3	< 3	357	2,02	$< 0,001$	3,23	$< 0,001$
CTC-tal ved uge 3-5	≥ 3	< 3	334	2,19	$< 0,001$	4,23	$< 0,001$
CTC-tal ved uge 6-12	≥ 3	< 3	314	4,59	$< 0,001$	10,88	$< 0,001$
CTC-tal ved uge 13-20	≥ 3	< 3	203	5,07	$< 0,001$	4,88	$< 0,001$

2.3.5 Multivariat Cox-regressionsanalyse hos MCRC-patienter

Multivariate Cox regressionsanalyser blev udført for at evaluere den uafhængige prædiktive effekt af CTC-tal ved at justere for virkningerne af de kendte, vigtige kliniske faktorer, der er statistisk signifikante i univariate analyser. CTC blev konstateret som værende stærke prædiktorer for PFS og OS (Tabel 17).

Tabel 17: Multivariat Cox-regressionsanalyse hos MCRC-patienter

Variabel	N	PFS-risiko fra baseline		OS-risiko fra baseline	
		Hazard ratio	p-værdi	Hazard ratio	p-værdi
Baseline CTC (<3 vs. ≥3)	373	1,76	<0,001	2,46	<0,001
Alder ved baseline (<65 vs. ≥65)		1,47	0,002	1,84	<0,001
ECOG-status ved baseline (0 vs. 1 vs. 2)		1,16	0,107	1,48	0,001
Behandlingslinje (1. vs. 2. vs. 3.)		1,59	<0,001	1,41	0,009
Bevacizumab (Nej vs. Ja)		0,65	0,001	0,68	0,021
Irinoteca (Nej vs. Ja)		0,76	0,156	1,25	0,363
Oxaliplatin (Nej vs. Ja)		0,57	0,002	1,00	0,984
CTC ved uge 1-2 (<3 vs. ≥3)	321	1,76	0,003	2,77	<0,001
Alder ved baseline (<65 vs. ≥65)		1,53	0,001	1,85	<0,001
ECOG-status ved baseline (0 vs. 1 vs. 2)		1,26	0,025	1,54	0,001
Behandlingslinje (1. vs. 2. vs. 3.)		1,76	<0,001	1,62	0,001
Bevacizumab (Nej vs. Ja)		0,66	0,003	0,77	0,156
Irinoteca (Nej vs. Ja)		0,67	0,066	1,25	0,402
Oxaliplatin (Nej vs. Ja)		0,53	0,002	0,97	0,904
CTC ved uge 3-5 (<3 vs. ≥3)	302	2,35	<0,001	4,54	<0,001
Alder ved baseline (<65 vs. ≥65)		1,58	0,001	2,06	<0,001
ECOG-status ved baseline (0 vs. 1 vs. 2)		1,16	0,149	1,33	0,032
Behandlingslinje (1. vs. 2. vs. 3.)		1,74	<0,001	1,65	0,001
Bevacizumab (Nej vs. Ja)		0,68	0,007	0,86	0,410
Irinoteca (Nej vs. Ja)		0,58	0,012	0,99	0,966
Oxaliplatin (Nej vs. Ja)		0,47	<0,001	0,88	0,594
CTC ved uge 6-12 (<3 vs. ≥3)	279	3,04	<0,001	9,43	<0,001
Alder ved baseline (<65 vs. ≥65)		1,43	0,013	1,73	0,005
ECOG-status ved baseline (0 vs. 1 vs. 2)		1,30	0,027	1,53	0,004
Behandlingslinje (1. vs. 2. vs. 3.)		1,73	<0,001	1,20	0,282
Bevacizumab (Nej vs. Ja)		0,61	0,001	0,82	0,337
Irinoteca (Nej vs. Ja)		0,78	0,258	1,47	0,181
Oxaliplatin (Nej vs. Ja)		0,62	0,020	1,35	0,278
CTC ved uge 13-20 (<3 vs. ≥3)	186	4,50	<0,001	4,97	<0,001
Alder ved baseline (<65 vs. ≥65)		1,26	0,218	1,55	0,061
ECOG-status ved baseline (0 vs. 1 vs. 2)		1,13	0,417	1,13	0,526
Behandlingslinje (1. vs. 2. vs. 3.)		1,68	0,004	1,12	0,628
Bevacizumab (Nej vs. Ja)		0,68	0,058	0,89	0,655
Irinoteca (Nej vs. Ja)		0,73	0,311	1,20	0,636
Oxaliplatin (Nej vs. Ja)		0,65	0,135	1,31	0,477

2.4 Brug af CTC til monitorering af klinisk status for metastatisk kolorektal cancer

2.4.1 Forholdet mellem overlevelse, CTC og sygdomsvurdering ved billeddiagnostik

Radiologisk billeddiagnostik er et af de primære midler til at fastslå sygdommens status og respons på behandlingen hos patienter med metastatisk kolorektal cancer. For at fastlægge forholdet mellem klinisk status, som bestemt ved billeddiagnostik, og CTC, blev CTC målt på to forskellige tidspunkter, og billeddiagnostiske resultater blev sammenlignet 1) med det sande kliniske effektmåls samlede overlevelse og 2) med hinanden.

2.4.2 CTC

Tidligere data har vist, at patienter med metastatisk kolorektal cancer med ≥ 3 CTC/7,5 mL blod på et hvilket som helst senere opfølgende besøg efter behandlingsstart havde en højere risiko for progressiv sygdom og nedsat samlet overlevelse sammenlignet med patienter med < 3 CTC/7,5 mL blod. CTC-resultater indhentet 3-5 uger efter start af terapi samt CTC-resultater indhentet inden for $\pm$ en måned efter den billeddiagnostiske undersøgelse blev klassificeret som favorable (< 3 CTC) og ikke-favorable (≥ 3 CTC). Hvis mere end en CTC-værdi blev opnået inden for $\pm$ en måned efter billedundersøgelsen, blev CTC-resultatet tættest på tidspunktet for den billeddiagnostiske undersøgelse anvendt.

2.4.3 Billeddiagnostik

Hver MCRC-patient skulle have målbar sygdom, dvs. mindst en 2 cm læsion og op til og inklusive maks. 10 af sådanne læsioner. Billeddiagnosticeringsmetoden for hver enkelt patient blev bestemt af den behandlende onkolog i overensstemmelse med den aktuelle behandlingsstandard. Enten CT- eller MR-scanning af thorax, abdomen og pelvis blev udført med det krav, at alle læsioner observeret ved baseline blev fulgt ved brug af samme metode for alle efterfølgende billeddiagnostiske undersøgelser. Billedfortolkning blev udført af en certificeret radiolog på det deltagende center ved hjælp af RECIST unidimensionelle kriterier til klassificering af enhver opfølgningssygdomsvurdering som komplet respons (CR), partielt respons (PR), stabil sygdom (SD) eller progressiv sygdom (PD).

Hver patient blev scannet på mindst to tidspunkter og op til otte forskellige tidspunkter. Disse undersøgelser omfattede en baseline-scanning, billeddiagnosticering ved efterfølgende mellemrum på 2-3 måneder (6-12 uger) og en afsluttende scanning, når patienten forlod undersøgelsen. Kopier af alle patienters billeddiagnostiske undersøgelser blev fremsendt til forsøgskoordinatoren på hvert klinisk center til arkivering sammen med patientens kliniske data.

Ud af de i alt 430 evaluerbare MCRC-patienter rekrutteret i forsøget fik 28 (7%) ikke foretaget en opfølgende billeddiagnostisk undersøgelse, 18 (4%) døde inden en opfølgende billeddiagnostisk undersøgelse kunne udføres og 384 (89%) fik foretaget en eller flere opfølgende billeddiagnostiske undersøgelser, der blev vurderet ved hjælp af RECIST-kriterier. På tidspunktet for første opfølgning hos de 384 patienter med en opfølgende billeddiagnostisk undersøgelse udviste 4 (1%) et komplet respons, 117 (31%) udviste et partielt respons, 186 (48%) havde stabil sygdom og 77 (20%) udviste progressiv sygdom. Med henblik på formålet med disse analyser blev patienter, der døde før en opfølgende billeddiagnostisk undersøgelse, anset for at have progressiv sygdom.

I forbindelse med behandlingsrespons ved den første opfølgende sygdomsvurdering blev den favorable gruppe defineret som personer, der havde stabil sygdom (S), partielt respons (PR) eller et komplet respons (CR) efter RECIST-kriterierne (ikke-progressiv sygdom, NPD) og den ikke-favorable gruppe som personer med progressiv sygdom eller død (PD).

2.4.4 Forholdet mellem overlevelse iht. billeddiagnostik og CTC

Separate Kaplan-Meier analyser blev udført for at sammenligne den samlede overlevelse hos MCRC-patienter i de favorable (< 3 CTC) og ikke-favorable (≥ 3 CTC) grupper ved hjælp af CTC-resultater fra to forskellige tidspunkter og den første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse. Ved brug af resultaterne fra de første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelser udført $9,1 \pm 2,9$ uger (median = 8,6 uger) efter behandlingsstart (dvs. blodprøvetagning ved baseline) var den mediane overlevelse for de 307 (76%) patienter, der ved scanning havde fået konstateret NPD, 19,1 måneder (95% CI = 17,0 til 23,1) (**Figur 17, Tabel 18**). For de 95 (24%) patienter, der ved scanning havde fået konstateret PD, var den mediane overlevelse 5,8 måneder (95% CI = 4,4 til 7,7).

I alt 320 af MCRC-patienterne fik udført billeddiagnostiske undersøgelser før og efter behandlingsstart, eller de døde før en opfølgende billeddiagnostisk undersøgelse blev udført, og de fik CTC vurderet 3-5 uger efter behandlingsstart (gennemsnit = $3,8 \pm 0,7$ uger fra tidspunktet for blodprøvetagning ved baseline, median = 4,0 uger). Den mediane overlevelse hos 282 (88%) patienter med favorable CTC-resultater (< 3 CTC) var 17,3 måneder (95% CI = 15,0 til 19,5 måneder) (**Figur 18, Tabel 18**). De 38 patienter (12%) med ikke-favorable CTC-resultater (≥ 3 CTC) havde en median overlevelse på 5,4 måneder (95% CI = 3,6 til 9,4 måneder).

For at afgøre om CTC-vurderinger foretaget tættere på tidspunktet for billeddiagnostik resulterede i lignende overlevelsesudsigter i forhold til CTC-vurderinger foretaget cirka 4 uger efter start af behandling, blev kun de patienter, der havde fået foretaget CTC-vurderinger inden for $\pm$ en måned efter første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelser, analyseret (**Figur 19, Tabel 18**). Trehundredeogfireogtres (364) af de 402 patienter (91%) fik foretaget CTC-vurderinger inden for en måned efter første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelser, som blev udført $9,0 \pm 2,9$ uger (median = 8,5 uger) efter behandlingens start. Den mediane overlevelse for 335 (92%) patienter med

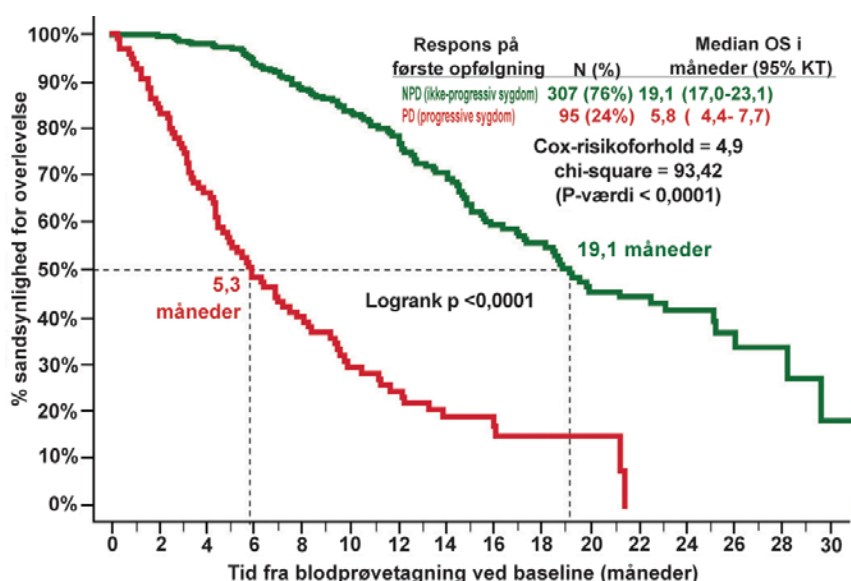
favorable CTC-resultater var 17,2 måneder (95% = CI 15,0 til 19,2 måneder). For de 29 (8%) patienter med ikke-favorable CTC-resultater var den mediane overlevelse 5,4 måneder (95% CI = 3,2 til 7,5 måneder). Disse data viste, at CTC-vurderinger på begge tidspunkter gav resultater, der svarede til resultaterne af billeddiagnostikken foretaget cirka 9 uger efter behandlingens start.

I denne undersøgelse indikerede anvendelse af multivariat Cox-regressionsanalyse til justering for billeddiagnostik, at både CTC- og billeddiagnostik ved 6-12 uger er uafhængigt forbundet med generel overlevelse, men CTC [korrigeret hazard ratio: 7,9 (4,6-13,6)] er en stærkere prædiktør end billeddiagnostik [korrigeret hazard ratio: 3,1 (2,1-4,6)].

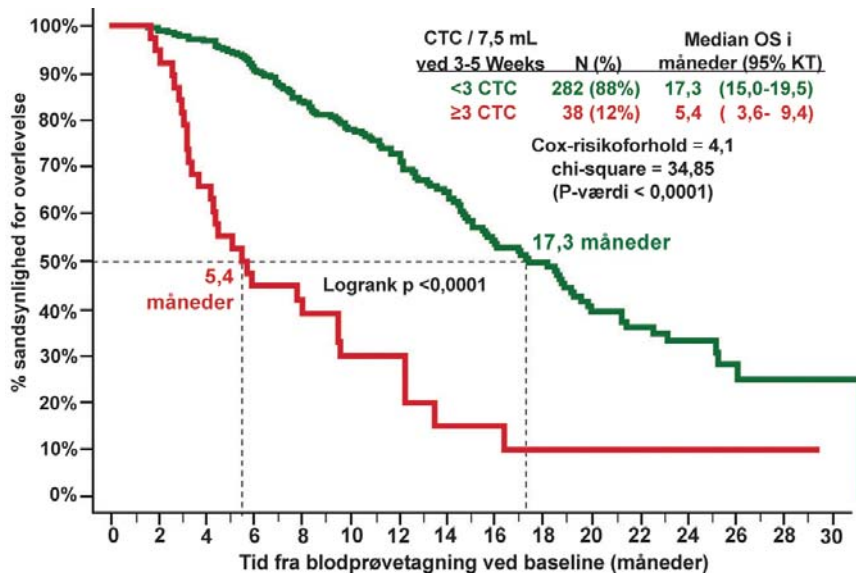
Tabel 18: OS for MCRC-patienter med CTC-vurdering cirka en måned efter behandlingsstart og inden for en måned efter den radiologiske vurdering

	N	Median overlevelse & (95% CI) i måneder
A. Billeddiagnostik	402	
Favorabel (NPD)	307 (76%)	19,1 (17,0 - 23,1)
Ikke-favorabel (PD)	95 (24%)	5,8 (4,4 - 7,7)
B. CTC ved uge 3-5	320	
Favorabel (<3 CTC)	282 (88%)	17,3 (15,0 - 19,5)
Ikke-favorabel (≥3 CTC)	38 (12%)	5,4 (3,6 - 9,4)
C. CTC (±1 måned fra billeddiagnostik)	364	
Favorabel (<3 CTC)	335 (92%)	17,2 (15,0 - 19,2)
Ikke-favorabel (≥3 CTC)	29 (8%)	5,4 (3,2 - 7,5)

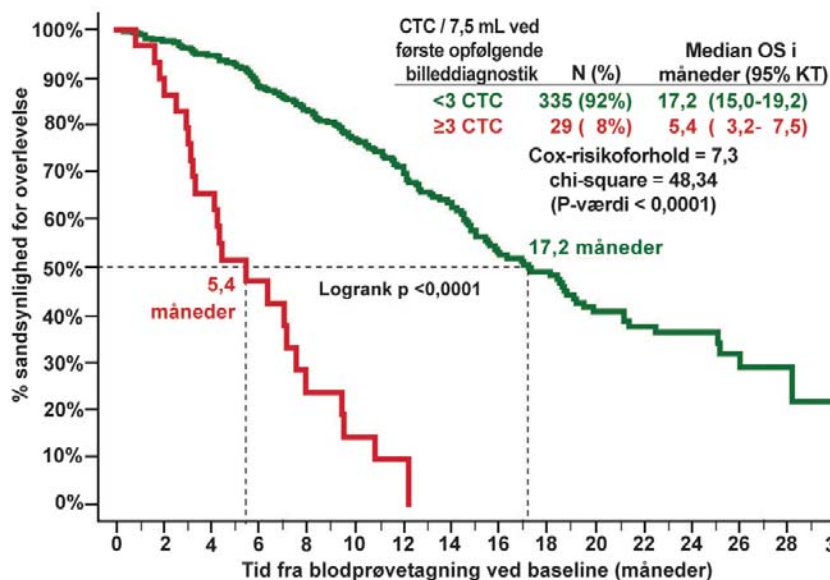
Figur 17: Korrelation mellem radiologisk og CTC-vurdering med OS: OS for MCRC-patienter med NPD eller PD ved første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse (N = 402)



Figur 18: Korrelation mellem radiologisk og CTC-vurdering med OS: OS for MCRC-patienter med <3 eller ≥3 CTC ved første opfølgning efter behandlingsstart (N = 320)



Figur 19: Korrelation mellem radiologisk og CTC-vurdering med OS: OS for MCRC-patienter med <3 eller ≥3 CTC inden for ±1 måned fra første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse eller død (N = 364)



2.4.5 Konkordanser mellem CTC og radiologisk monitorering hos MCRC-patienter

Som nævnt ovenfor er billeddiagnostiske undersøgelser en vigtig del af den nuværende behandlingsstandard til bestemmelse af sygdomsprogression og reaktion på behandling ved metastatisk kolorektal cancer. For yderligere at understøtte effektiviteten af CTC i forbindelse med disse kliniske vurderinger blev der udarbejdet to-og-to tabuleringer med overensstemmende og uoverensstemmende observationer mellem CTC og radiologisk billeddiagnostik.

I forbindelse med behandlingsrespons blev den favorable gruppe defineret som personer med stabil sygdom (S), partielt respons (PR) eller et komplet respons (CR) efter RECIST-kriterierne (ikke-progressiv sygdom, NPD) og den ikke-favorable gruppe som personer med progressiv sygdom (PD). Ud af de 18 patienter, som døde før en opfølgende billeddiagnostisk undersøgelse, havde 10 fået taget en opfølgende blodprøve senest 30 dage før døden indtraf, og disse 10 patienter blev klassificeret som havende progressiv sygdom (PD) i forbindelse med disse sammenligninger.

CTC-resultaterne, der blev indhentet inden for ± en måned fra den billeddiagnostiske undersøgelse, blev klassificeret som favorable (<3 CTC) og ikke-favorable (≥3 CTC). Hvis mere end en CTC-værdi blev opnået inden for ± en måned efter billedundersøgelsen, blev CTC-resultatet tættest på tidspunktet for den billeddiagnostiske undersøgelse anvendt. Denne analyse brugte alle evaluerbare blodprøver fra patienterne til at sammenligne CTC med billeddiagnostiske undersøgelser, og ikke kun dem, der blev udvalgt til de angivne tidspunkter beskrevet i 2.1 ovenfor.

I alt 366 MCRC-patienter havde CTC-resultater inden for en måned fra den billeddiagnostiske undersøgelse eller død. Resultatet af denne "patientvis" sammenligning mellem CTC og billeddiagnostik (eller død) er vist i **Tabel 19**.

Tabel 19: MCRC-patientvis sammenligning af CTC og billeddiagnostik

Respons ved første billeddiagnostiske opfølgning	CTC inden for ±1 måned fra billeddiagnostik eller død		I alt
	<3 CTC / 7,5 mL	≥3 CTC / 7,5 mL	
Ikke-progressiv sygdom (NPD)	272	13	285
Progressiv sygdom (PD)	65	16	81
I alt	337	29	366

Måling	Estimat	Nedre 95% CI	Øvre 95% CI
Positiv % overensstemmelse	20%	12%	30%
Negativ % overensstemmelse	95%	92%	98%
Positiv prædiktiv værdi	55%	36%	74%
Negativ prædiktiv værdi	81%	76%	85%
Samlet overensstemmelse	79%	74%	83%
Odds ratio	5,2	2,4	11,2

Af de 384 MCRC-patienter med en eller flere opfølgende billeddiagnostiske undersøgelser blev der udført i alt 911 billeddiagnostiske undersøgelser, som gav et brugbart radiologisk respons. I alt 805 af de 911 (88%) billeddiagnostiske undersøgelser indeholdt CTC-resultater indhentet inden for ± en måned fra de billeddiagnostiske undersøgelser. Ud af de 18 patienter, som døde før en opfølgende billeddiagnostisk undersøgelse, havde 10 fået taget en opfølgende blodprøve senest 30 dage før døden indtraf, og disse 10 patienter blev klassificeret som havende progressiv sygdom (PD) i forbindelse med disse sammenligninger. Resultatet af denne "observationsvis" sammenligning mellem CTC og billeddiagnostik (eller død) i de 815 observationer er vist i **Tabel 20**.

Tabel 20: MCRC observationsvis sammenligning af CTC og billeddiagnostik

Respons ved alle billeddiagnostiske opfølgende undersøgelser	CTC inden for ±1 måned fra billeddiagnostik eller død		I alt
	<3 CTC / 7,5 mL	≥3 CTC / 7,5 mL	
Ikke-progressiv sygdom (NPD)	597	33	630
Progressiv sygdom (PD)	147	38	185
I alt	744	71	815

Måling	Estimat	Nedre 95% CI	Øvre 95% CI
Positiv % overensstemmelse	21%	15%	27%
Negativ % overensstemmelse	95%	93%	96%
Positiv prædiktiv værdi	54%	41%	65%
Negativ prædiktiv værdi	80%	77%	83%
Samlet overensstemmelse	78%	75%	81%
Odds ratio	4,7	2,8	7,7

I serieobservationer faldt kun et mindretal af overgangene for billeddiagnostiske resultater mellem ikke-progressiv sygdom og progressiv sygdom sammen med en matchende overgang af CTC-tal mellem <3 og ≥3 CTC / 7,5 mL.

Da den prognostiske værdi af CTC resultater på et tidligere tidspunkt svarede til den for CTC-resultaterne på tidspunktet for billeddiagnostik (**Figur 18** og **Figur 19**), blev der udarbejdet en patientvis sammenligning ved hjælp af resultater fra kun første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse udført ca. 9 uger efter start af behandling og de CTC-resultater, der blev indhentet cirka 4 uger efter behandlingsstart. I alt 320 (80%) af de 402 patienter havde CTC-resultater 3-5 uger efter start af behandling. Resultatet af denne "patientvis" sammenligning mellem CTC på et tidligere tidspunkt og billeddiagnostik (eller død) er vist i **Tabel 21**.

Tabel 21: MCRC-patientvis sammenligning af CTC og billeddiagnostik

Respons ved første billeddiagnostiske opfølgning	CTC 3-5 uger efter behandlingsstart		I alt
	<3 CTC / 7,5 mL	≥3 CTC / 7,5 mL	
Ikke-progressiv sygdom (NPD)	228	18	246
Progressiv sygdom (PD)	54	20	74
I alt	282	38	320

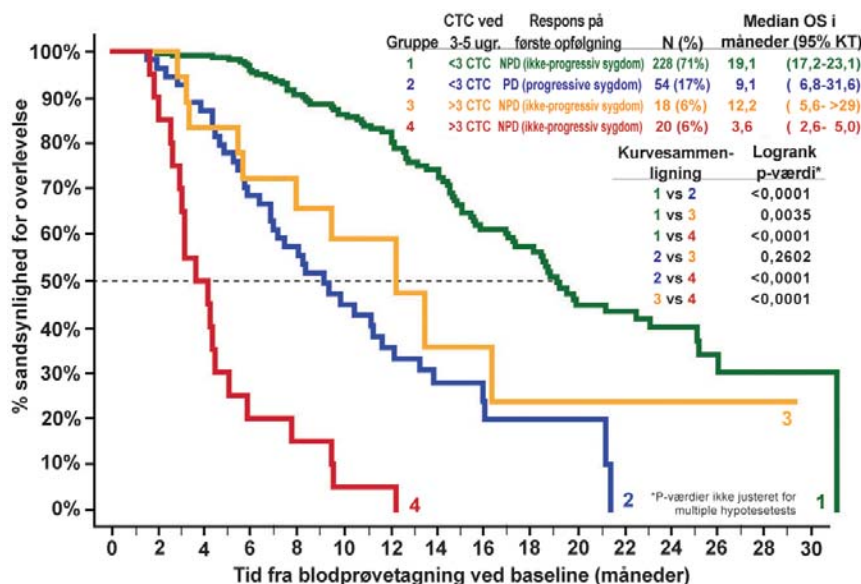
Måling	Estimat	Nedre 95% CI	Øvre 95% CI
Positiv % overensstemmelse	27%	17%	39%
Negativ % overensstemmelse	93%	89%	96%
Positiv prædiktiv værdi	53%	36%	69%
Negativ prædiktiv værdi	81%	76%	85%
Samlet overensstemmelse	78%	73%	82%
Odds ratio	4,7	2,3	9,5

2.4.6 CTC som et supplement til billeddiagnostik

Mens den samlede overensstemmelse mellem CTC og billeddiagnostik var god (ca. 78%), var der uoverensstemmelser i forbindelse med ca. 22% af MCRC-patienterne. Da oplysningerne fra CTC-vurderinger er beregnet til brug sammen med andre diagnostiske metoder i forbindelse med behandlingsmæssige beslutninger, blev CTC-vurdering 3-5 uger efter start af behandling og billeddiagnostik i følgende grupper sammenlignet med OS for at afgøre, hvilke af de uoverensstemmende resultater, der bedst afspejlede prognosen for patienten (**Figur 20**):

- Gruppe 1 (**grøn** kurve), 228 (71%) patienter med <3 CTC ved 3-5 uger og NPD.
- Gruppe 2 (**blå** kurve), 54 (17%) patienter med <3 CTC ved 3-5 uger og PD.
- Gruppe 3 (**orange** kurve), 18 (6%) patienter med ≥3 CTC ved 3-5 uger og NPD.
- Gruppe 4 (**rød** kurve), 20 (6%) patienter med ≥3 CTC ved 3-5 uger og PD.

Figur 20: OS for MCRC-patienter i gruppe 1, 2, 3 og 4 ved brug af CTC 3-5 uger efter start af behandlingen (N = 320) og sygdomsstatus bestemt ved første opfølgende billeddiagnostiske undersøgelse.



I denne undersøgelse er bestemmelse af CTC en stærk uafhængig prædiktør for overlevelse. Undersøgelsens resultater viste, at kombinationen af CTC og radiologiske vurderinger giver den mest præcise prognosevurdering.

3 Patienter med metastatisk prostatacancer (MPC)

Et prospektivt, klinisk multicenterforsøg blev udført for at bestemme, hvorvidt antallet af CTC forudsagde sygdomsprogression og overlevelse. Patienter med metastatisk prostatacancer i denne undersøgelse blev defineret som havende to på hinanden følgende stigninger i serummarkøren PSA (prostata-specifikt antigen) over et referenceniveau til trods for standard hormonstyring. Disse patienter beskrives generelt som havende androgenuafhængig, hormonresistent eller kastrationsresistent prostatacancer. I alt 231 patienter med metastatisk prostatacancer med tegn på PSA-progression trods standard hormonbehandling, og som påbegyndte en ny linje eller type kemoterapi, blev rekrutteret. Kliniske data blev analyseret på et intent-to-treat-princip. Patientdemografiske oplysninger er præsenteret i **Tabel 22**.

Tabel 22: MPC-patientdemografi

Kategori	Middelværdi ± std. deviation (median)	Antal forsøgspersoner
Alder ved baseline (i år)	70 ±9 (70)	231
Før behandling:		
PSA (ng/mL)	547 ±1616 (144)	231
Hæmoglobin (g/dL)	12,3 ±1,6 (12,4)	221
Alkalisk fosfatase (AlkPhos) (IE/mL)	235 ±271 (144)	223
Laktatdehydrogenase (LDH) (IE/mL)	293 ±228 (224)	219
Albumin (g/dL)	3,9 ±2,6 (3,8)	214
	Beskrivelse af kategorier	Antal forsøgspersoner (% af total)
Race	Hvid Sort Andet	209 (90%) 17 (7%) 5 (3%)
Baseline ECOG-score	0 1 2 Ukendt	101 (44%) 100 (43%) 21 (9%) 9 (4%)
Gleason score	≤5 6 7 8 ≥9 Ukendt	18 (8%) 28 (12%) 63 (27%) 45 (20%) 54 (23%) 23 (10%)
Stadie ved primær diagnose	1 2 3 4 Ukendt	14 (6%) 30 (13%) 58 (25%) 19 (8%) 110 (48%)
Behandlingslinje	1. 2. ≥3.	154 (67%) 38 (16%) 39 (17%)
Taxotere i aktuell behandlingslinje?	Nej Ja Ukendt	67 (29%) 162 (70%) 2 (1%)
Knoglemetastase	Negativ Positiv Ukendt	20 (8%) 207 (90%) 4 (2%)
Målbar sygdom	Nej Ja Ukendt	142 (62%) 88 (38%) 1 (0%)
Visceral metastase	Nej Ja Ukendt	141 (61%) 89 (39%) 1 (0%)

Baseline CTC-tal blev bestemt før starten af en ny kemoterapilinj. Følgende tidsrammer blev valgt til evaluering: baseline (før behandlingsstart), 2-5 uger (14 til 41 dage fra baseline), 6-8 uger (42 til 62 dage fra baseline), 9-12 uger (63 til 90 dage fra baseline) og 13-20 uger (91 til 146 dage fra baseline) efter behandlingsstart. Hvis mere end én blodprøvetagning faldt inden for de anførte tidsrammer, blev blodprøven længst fra baseline brugt som resultatet for hver tidsramme.

3.1 CTC-frekvenser

Alle 231 evaluerbare MPC-patienter fik taget en blodprøve ved baseline. 221 af disse MPC-patienter fik taget en eller flere opfølgende blodprøver efter behandlingsstart. Af de ti MPC-patienter, der kun havde en blodprøve fra baseline, døde tre før en opfølgende blodprøve kunne tages, en oplevede progression og blev sendt til hospice, en stoppede med sin kemoterapi på grund af en brækket hofte, en patient flyttede, tre nægtede at få taget yderligere blodprøver og en trak sit samtykke til forsøget tilbage. Der var i alt 214, 171, 158 og 149 MPC-patienter med opfølgende blodprøver taget hhv. 2-5 uger, 6-8 uger, 9-12 uger og 13-20 uger efter behandlingsstart.

Ved metastatisk prostatacancer bestemmes sygdomsprogression primært ved hjælp af ændringer i PSA. I dette forsøg blev sygdomsprogression bestemt af centrene ved hjælp af PSA, billedagnostik og/eller kliniske tegn og symptomer. Ved baseline-analyserne blev progressionsfri overlevelse (PFS) bestemt fra tidspunktet for blodprøvetagning ved baseline til bestemmelse af progression eller død, og samlet overlevelse (OS) blev bestemt fra tidspunktet for blodprøvetagning ved baseline til datoen for død eller datoen for sidste kontakt med patienten. Ved de opfølgende analyser blev PFS bestemt fra tidspunktet for den opfølgende blodprøve til diagnosticering af progression eller død, og OS blev bestemt fra tidspunktet for den opfølgende blodprøve til datoen for død eller

datoen for sidste kontakt med patienten. Patienter med progression forud for datoen for blodprøvetagning, som blev evalueret, blev udelukket fra PFS-analyser for dette tidspunkt og alle efterfølgende opfølgende blodprøvetagninger. Patienter uden yderligere overlevelsesopfølgning efter datoen for den blodprøve, der blev evalueret, blev udelukket fra PFS- og OS-analyser på dette tidspunkt. **Tabel 23** viser antallet af patienter på hvert tidspunkt, som blev udelukket fra PFS- eller PFS- og OS-analyser og årsagerne til deres udelukkelse.

Tabel 23: Udelukkelser fra PFS- og OS-analyser hos MPC-patienter

Timing for blodprøvetagning	Ikke-evaluerbare MPC-patienter					Samlet antal evaluerbare MPC-patienter	
	PFS & OS				Kun PFS		
	Blodprøve ikke taget	Blodprøve taget 1-7 dage efter administration af behandling	Ingen opfølgning ud over dato for blodprøvetagning	Ingen eller ikke-evaluerbare CTC-resultater	Blodprøve taget efter dato for sygdoms progression	PFS	OS
Baseline	0	6	0	6	0	219	219
2-5 uger	17	0	0	11	4	199	203
6-8 uger	60	0	0	8	22	141	163
9-12 uger	73	1	0	8	15	134	149
13-20 uger	82	0	1	5	27	116	143

CTC-resultaterne fra blodprøver ved baseline og opfølgning 2-5 uger, 6-8 uger, 9-12 uger, og 13-20 uger efter start af behandling blev klassificeret som værende favorable (<5 CTC) eller ikke-favorable (≥5 CTC). Niveauerne for PSA, alkalisk fosfatase og LDH sammenfattet i demograftabellen og anvendt i analyserne blev alle målt på et centralt laboratorium i serumprøver indsamlet på samme tid som de blodprøver, der blev anvendt til CTC-evaluering. Hæmoglobin- og albuminniveauerne sammenfattet i tabellerne og anvendt i analyserne var værdier leveret af centrene og kontrolleret med patientens journal, og som blev bestemt inden ±30 dage fra baseline CTC-evalueringen.

3.2 Analyse af progressionsfri overlevelse (PFS) for MPC-patienter

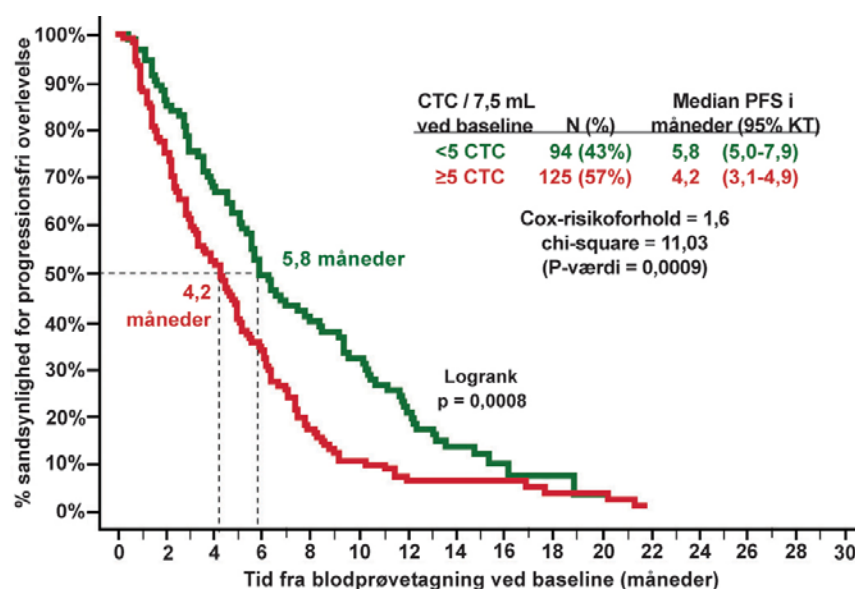
3.2.1 PFS ved brug af CTC-resultater fra baseline

219 af de 231 evaluerbare patienter havde et tilgængeligt CTC-resultat fra baseline. Ved Kaplan-Meier analyse blev patienterne opdelt i to grupper baseret på deres CTC-tal ved baseline:

- Den favorable gruppe (N = 94), vist med **grøn**, bestod af patienter med <5 CTC.
- Den ikke-favorable gruppe (N = 125), vist med **rød**, bestod af patienter med ≥5 CTC.

Median PFS var længere i den favorable gruppe sammenlignet med den ikke-favorable gruppe (hhv. 5,8 vs. 4,2 måneder). Resultaterne er illustreret i **Figur 21** og **Tabel 24**.

Figur 21: PFS for MPC-patienter med <5 eller ≥5 CTC ved baseline (N = 219).

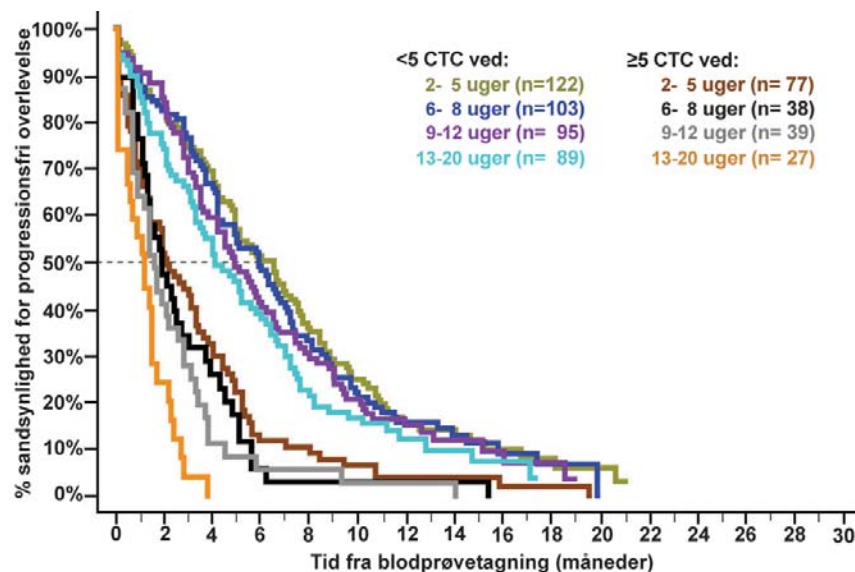


3.2.2 PFS ved brug af CTC-resultater fra opfølgning

Ved Kaplan-Meier analyse blev MPC-patienterne opdelt i to grupper baseret på deres CTC-tal ved hver af de forskellige opfølgende blodprøvetagninger. Begge patientgrupper ved hver af de forskellige opfølgende blodprøvetagninger efter start af behandling for PFS er illustreret i **Figur 22**. Denne figur illustrerer CTC's evne til at forudsige tid til klinisk progression eller død hos MPC-patienter med <5 og ≥5 CTC ved 2-5 uger (N = 199), 6-8 uger (N = 141), 9-12 uger (N = 134) og 13-20 uger (N = 116) efter start af behandling.

- Den favorable gruppe, vist med **olivengrøn, blå, lilla** og **cyan**, bestod af patienter med <5 CTC ved hhv. 2-5, 6-8, 9-12 og 13-20 uger efter start af behandlingen.
- Den ikke-favorable gruppe, vist med **brun, sort, grå** og **orange**, bestod af patienter med ≥5 CTC ved hhv. 2-5, 6-8, 9-12 og 13-20 uger efter start af behandling.

Figur 22: PFS for MPC-patienter med <5 eller ≥5 CTC på forskellige opfølgningstidspunkter



Tabel 24 opsummerer resultaterne af PFS-analysen med CTC-niveauer og en tærskel på ≥5 CTC/7,5 mL ved hvert af de forskellige tidspunkter for blodprøvetagning.

Tabel 24: Progressionsfri overlevelse (PFS) for MPC-patienter med <5 eller ≥5 CTC på forskellige tidspunkter

1	2	3	4	5	6
Prøvetagningstid efter Tx-start	N	≥5 CTC	Median PFS i måneder (95% CI)		Log-rank p-værdi
			<5 CTC	≥5 CTC	
Baseline	219	125 (57%)	5,8 (5,0 – 7,9)	4,2 (3,1 – 4,9)	0,0008
2-5 uger	199	77 (39%)	6,5 (4,9 – 7,4)	2,1 (1,4 – 3,3)	<0,0001
6-8 uger	141	38 (27%)	5,9 (4,2 – 7,0)	1,9 (1,3 – 2,7)	<0,0001
9-12 uger	134	39 (24%)	4,9 (3,8 – 6,2)	1,6 (0,9 – 2,6)	<0,0001
13-20 uger	116	27 (23%)	4,1 (3,3 – 5,8)	1,2 (0,5 – 1,5)	<0,0001

Som illustreret i **Figur 22** og **Tabel 24** havde MPC-patienter med forhøjet CTC (≥5 CTC/7,5 mL helblod) på hvilket som helst af tidspunkterne en meget højere risiko for hurtig progression end dem med <5 CTC. **Tabel 24** kolonne 4 viser de mediane PFS-tider for patienter med <5 CTC, der varierede fra 4,1 til 6,5 måneder og var signifikant længere end de mediane PFS-tider for patienter med ≥5 CTC, der varierede fra 1,2 til 4,2 måneder (kolonne 5).

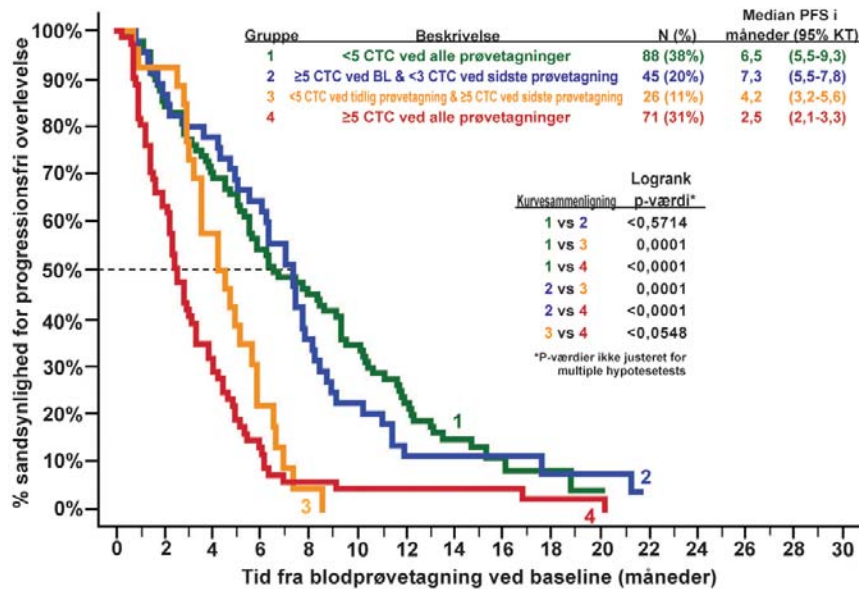
3.2.3 Reduktion eller stigning af CTC forudsiger forbedret eller nedsat PFS

Forløbne PFS-tider blev beregnet ud fra blodprøvetagning ved baseline. Ved Kaplan-Meier analysen vist i **Figur 23**, blev MPC-patienter opdelt i fire grupper baseret på deres CTC-tal ved baseline, 2-5 uger, 6-8 uger, 9-12 uger og 13-20 uger efter behandlingsstart:

- Gruppe 1 (**grøn** kurve), 88 (38%) patienter med <5 CTC på alle tidspunkter. Fem (6%) af disse patienter fik kun taget en blodprøve ved baseline, mens syv (8%) fik taget en enkelt blodprøve mellem deres første og sidste blodprøvetagning, der havde ≥5 CTC.
- Gruppe 2 (**blå** kurve), 45 (20%) patienter med ≥5 CTC forud for behandlingsstart, men som var faldet til <5 CTC på tidspunktet for deres sidste blodprøvetagning.

- Gruppe 3 (orange kurve), 26 (11%) patienter med <5 CTC ved en tidlig blodprøvetagning (baseline, 2-5 uger, og/eller 6-8 uger), men som steg til ≥5 CTC på tidspunktet for deres sidste blodprøvetagning.
- Gruppe 4 (rød kurve), 71 (31%) patienter med ≥5 CTC på alle tidspunkter. Otte (11%) af disse patienter fik kun taget en blodprøve ved baseline, mens to (3%) fik taget en enkelt blodprøve mellem deres første og sidste blodprøve, der havde <5 CTC.

Figur 23: En reduktion i CTC under 5 efter start af behandling forudser længere PFS hos MPC-patienter



Figur 23 viser, at MPC-patienter med ≥5 CTC på alle tidspunkter (**Gruppe 4**) havde den korteste mediane PFS, som var signifikant anderledes i forhold til den mediane PFS for **Gruppe 3**, **Gruppe 2** og **Gruppe 1**. Forskellen i median PFS mellem de patienter, der udviste en CTC-reduktion efter start af behandling (**Gruppe 2**) var signifikant længere i forhold til de patienter, der viste en CTC-stigning (**Gruppe 3**).

3.3 Analyse af samlet overlevelse (OS) for MPC-patienter

3.3.1 OS analyse ved brug af CTC-resultater fra baseline

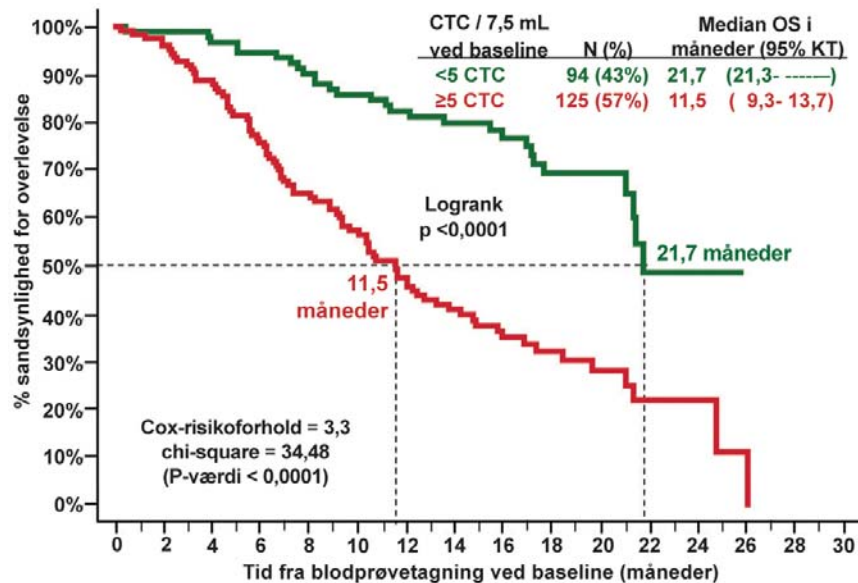
Dødsfald forekom hos 119 (52%) af de 231 MPC-patienter med en gennemsnitlig opfølgningstid for de 112 (48%) patienter, der stadig var i live, på 16,1 ±4,9 måneder (median = 16,5 måneder, interval = 1,9 til 25,7 måneder). På tidspunktet for disse analyser var 28 (30%) af 94 patienter fra den favorable gruppe (<5 CTC ved baseline) døde sammenlignet med 83 (66%) af 125 af den ikke-favorable gruppe (≥5 CTC ved baseline).

Ved Kaplan-Meier analyse blev 219 af de 231 evaluerbare patienter, som havde baseline-resultater, opdelt i to grupper baseret på deres CTC-tal ved baseline:

- Den favorable gruppe (N = 94), vist med grøn, bestod af patienter med <5 CTC.
- Den ikke-favorable gruppe (N = 125), vist med rød, bestod af patienter med ≥5 CTC.

Median OS var signifikant længere i den favorable sammenlignet med den ikke-favorable gruppe (henholdsvis 21,7 vs. 11,5 måneder). Resultaterne er illustreret i **Figur 24**.

Figur 24: OS for MPC-patienter med <5 eller ≥5 CTC ved baseline (N = 219).

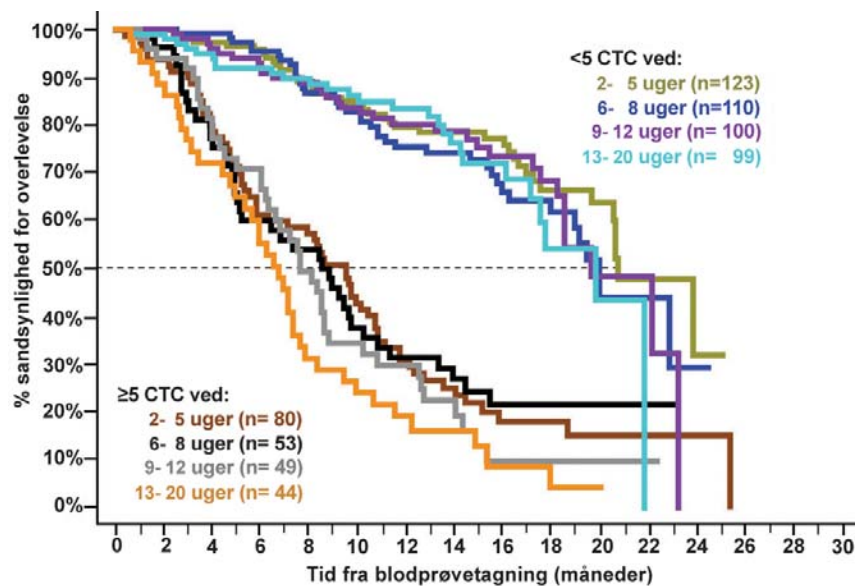


3.3.2 OS ved brug af CTC-resultater fra opfølgning

Kaplan-Meier analyser af begge MPC-patientgrupper på hver af de forskellige tidspunkter for opfølgende blodprøvetagning efter start af behandling er illustreret i **Figur 25**. Denne figur illustrerer CTC's evne til at forudsige tid til død hos MPC-patienter med <5 og ≥5 CTC 2-5 uger (N = 203) og 6-8 uger (N = 163), 9-12 uger (N = 149) og 13-20 uger (N = 143) efter start af behandling. OS tider blev beregnet fra tidspunktet for hver blodprøvetagning.

- Den favorable gruppe, der er vist med **olivengrøn, blå, lilla** og **cyan**, bestod af patienter med <5 CTC.
- Den ikke-favorable gruppe, der er vist med **brun, sort, grå** og **orange**, bestod af patienter med ≥5 CTC.

Figur 25: OS for MPC-patienter med <5 eller ≥5 CTC på forskellige opfølgningstidspunkter



Tabel 25 opsummerer resultaterne af OS-analysen med CTC-niveauer og en tærskel på ≥ 5 CTC/7,5 mL på hvert af de forskellige blodprøvetagningstidspunkter.

Tabel 25: Samlet overlevelse (OS) for MPC-patienter med <5 eller ≥ 5 CTC på forskellige tidspunkter

1 Prøvetagningstid efter Tx-start	2 N	3 ≥ 5 CTC	4 Median OS i måneder (95% CI)		6 Log-rank p-værdi
			<5 CTC	≥ 5 CTC	
Baseline	219	125 (57%)	21,7 (21,3 - NR)	11,5 (9,3 - 13,7)	$<0,0001$
2-5 uger	203	80 (39%)	20,7 (20,5 - NR)	9,5 (5,8 - 10,7)	$<0,0001$
6-8 uger	163	53 (33%)	19,9 (17,9 - NR)	8,5 (5,0 - 10,2)	$<0,0001$
9-12 uger	149	49 (33%)	19,6 (18,5 - NR)	7,6 (6,2 - 8,6)	$<0,0001$
13-20 uger	143	44 (31%)	19,8 (17,1 - NR)	6,7 (4,9 - 7,6)	$<0,0001$

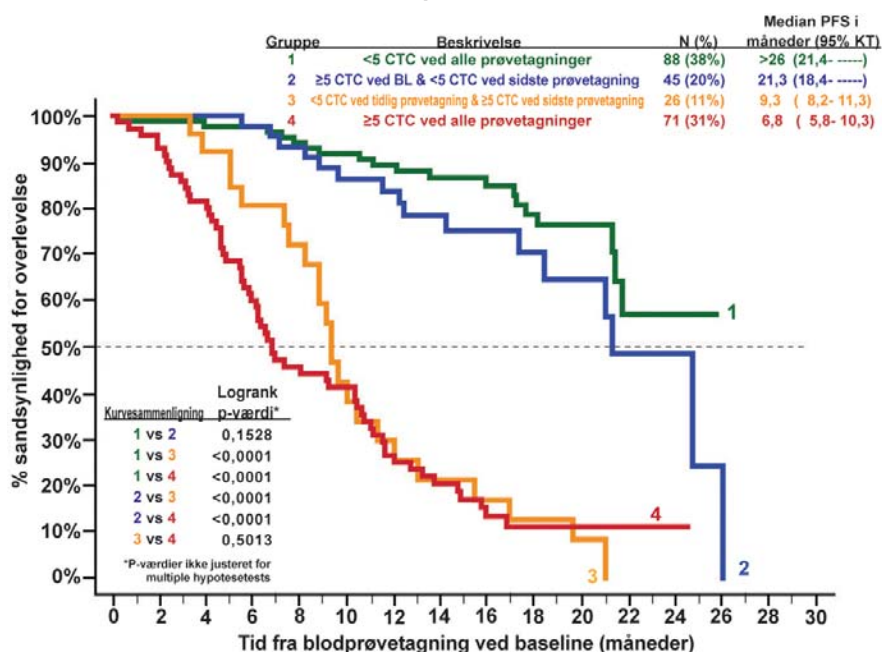
Som illustreret i **Figur 25** og **Tabel 25** i kolonne 4 & 5 havde MPC-patienter med ≥ 5 CTC på et hvilket som helst af tidspunkterne en meget højere sandsynlighed for at dø tidligere end dem med <5 CTC. De mediane OS-tider for patienter med <5 CTC varierede fra 19,6 til 21,7 måneder og var væsentligt længere end de mediane OS-tider for patienter med ≥ 5 CTC, som var fra 6,7 til 11,5 måneder.

3.3.3 Reduktion eller stigning af CTC forudsiger forbedret eller nedsat OS

Forløbne OS-tider blev beregnet ud fra blodprøven taget ved baseline. Ved Kaplan-Meier analysen (Figur 26) blev patienter opdelt i fire grupper baseret på deres CTC-tal ved baseline, 2-5 uger, 6-8 uger, 9-12 uger og 13-20 uger efter start af behandlingen:

- Gruppe 1 (**grøn** kurve), 88 (38%) patienter med <5 CTC på alle tidspunkter. Fem (6%) af disse patienter fik kun taget en blodprøve ved baseline, mens syv (8%) fik taget en enkelt blodprøve mellem deres første og sidste blodprøvetagning, der havde ≥ 5 CTC.
- Gruppe 2 (**blå** kurve), 45 (20%) patienter med ≥ 5 CTC forud for behandlingsstart, men som var faldet til <5 CTC på tidspunktet for deres sidste blodprøvetagning.
- Gruppe 3 (**orange** kurve), 26 (11%) patienter med <5 CTC ved en tidlig blodprøvetagning, men som steg til ≥ 5 CTC på tidspunktet for deres sidste blodprøvetagning.
- Gruppe 4 (**rød** kurve), 71 (31%) patienter med ≥ 5 CTC på alle tidspunkter. Otte (11%) af disse patienter fik kun taget en blodprøve ved baseline, mens to (3%) fik taget en enkelt blodprøve mellem deres første og sidste blodprøve, der havde <5 CTC.

Figur 26: En reduktion i CTC under 5 efter behandlingsstart forudsiger længere OS, mens en stigning i CTC-tal til 5 eller mere forudsiger kortere OS for MPC-patienter



Figur 26 viser, at patienterne med ≥ 5 CTC på hvilket som helst tidspunkt efter behandlingsstart havde en meget højere risiko for at dø tidligere. Patienter med ≥ 5 CTC på alle tidspunkter (**Gruppe 4**) havde den korteste mediane OS, som var signifikant anderledes i forhold til median OS for **Gruppe 2** og **Gruppe 1**, men ikke **Gruppe 3**. Patienter

med <5 CTC på alle tidspunkter (**Gruppe 1**) havde den længste mediane OS, som var signifikant anderledes i forhold til den mediane OS for **Gruppe 4** og **Gruppe 3**, men ikke **Gruppe 2**. **Figur 26** viste også, at patienter, der udviste et fald i CTC (**Gruppe 2**), forbedrede deres overlevelseschancer og havde en median OS svarende til patienterne med favorable CTC ved alle blodprøvetagninger (**Gruppe 1**). Figuren viser også, at ikke-favorable CTC-niveauer efter behandlingsstart signifikant reducerede den samlede overlevelse (**Gruppe 3** og **Gruppe 4**).

3.3.4 Univariat Cox-regressionsanalyse hos MPC-patienter

Univariat Cox-proportional hazard-regressionsanalyse blev brugt til at evaluere forbindelsen mellem følgende forbehandlingsparametre og PFS og OS: Sygdomsstadie på diagnosetidspunktet (1-4), patientens alder (≥ 70 eller < 70 år), ECOG-status før start af en ny behandlingslinje (0-2), Gleason score (2-10), hæmoglobinniveau inden for ± 30 dage fra blodprøvetagning ved baseline (g/dL, kontinuert), albuminniveau inden for ± 30 dage fra blodprøvetagning ved baseline (g/dL, kontinuert), testosteronniveau på tidspunktet for blodprøvetagning ved baseline (ng/mL, kontinuert), LDH-niveau på tidspunktet for blodprøvetagning ved baseline (IU/mL, kontinuert), alkalisk fosfataseniveau på tidspunktet for blodprøvetagning ved baseline (IU/mL, kontinuert), PSA-niveau på tidspunktet for blodprøvetagning ved baseline (ng/mL, kontinuert), forbehandling af PSA-fordoblingstid (måneder, kontinuert), forbehandling PSA-hastighed (ng/mL/måned, kontinuert), behandlingslinje (1., 2., 3., 4., 5., eller 6.), behandlingstype (inklusive taxotere eller ej), forekomst af målbar sygdom (ja eller nej), forekomst af knoglemetastaser (ja eller nej), forekomst af viscerale metastaser (ja eller nej) og CTC-niveau ved baseline (≥ 5 CTC/7,5 mL eller < 5 CTC/7,5 mL) og opfølgende CTC-tal ved 2-5, 6-8, 9-12 og 13-20 uger.

For disse analyser blev de forløbne tider for både PFS og OS beregnet fra tidspunktet for blodprøven ved baseline. Cox-regressionsresultater (dvs. hazards ratio og tilknyttet 95% konfidensinterval, chi-kvadratværdi og tilhørende p-værdier) for parametrene evne til selvstændigt at forudsige PFS og OS er anført i **Tabel 26** sammen med antallet af patienter i hver evaluering.

Tabel 26: Univariat Cox-regressionsanalyse hos MPC-patienter

Parameter	Kategorier		Antal MPC-patienter	PFS-risiko fra baseline		OS-risiko fra baseline	
	Positiv	Negativ		HR	p-værdi ²	HR	p-værdi ²
Stadie ved primær diagnose	4 vs. 3 vs. 2 vs. 1		121	0,88	0,206	0,83	0,174
Alder ved blodprøvetagning ved baseline	≥70	<70	231	0,96	0,764	1,28	0,178
ECOG-status ved undersøgelsesstart	2 vs. 1 vs. 0		222	1,34	0,011	2,36	<0,001
Gleason score	10 til 2		208	1,01	0,919	1,02	0,717
PSA-doblingstid før behandling (måneder)	Kontinuerlig		230	0,97	0,542	0,97	0,664
PSA-hastighed før behandling (ng/mL/måned)	Kontinuerlig		230	1,00	0,200	1,00	0,544
Hæmoglobin ved baseline (g/dL)	Kontinuerlig		221	0,87	0,002	0,71	<0,001
Albumin ved baseline (g/dL)	Kontinuerlig		214	0,99	0,748	1,02	0,557
Testosteron ved baseline (ng/mL) ¹	Kontinuerlig		223	1,07	0,900	2,71	0,060
LDH ved baseline (IU/mL) ¹	Kontinuerlig		219	1,001	<0,001	1,002	<0,001
Alkalisk fosfatase ved baseline (IU/mL) ¹	Kontinuerlig		223	1,00	0,158	1,0008	0,001
Behandlingslinje	Kontinuerlig (1–6)		231	1,23	0,003	1,28	0,003
Behandlingstype (Taxotere: Ja/Nej)	Ja	Nej	229	0,57	<0,001	0,59	0,006
Målbar sygdom?	Ja	Nej	230	1,00	0,993	1,28	0,181
Knoglemetastase?	Ja	Nej	227	1,02	0,933	2,22	0,057
Visceral metastase?	Ja	Nej	230	1,01	0,918	1,26	0,216
PSA ved baseline (ng/mL) ¹	Kontinuerlig		231	1,00	0,746	1,00	0,907
PSA ved 2-5 uger (ng/mL) ¹	Kontinuerlig		207	1,00	0,819	1,00	0,794
PSA ved 6-8 uger (ng/mL) ¹	Kontinuerlig		167	1,00	0,426	1,00	0,654
PSA ved 9-12 uger (ng/mL) ¹	Kontinuerlig		155	1,00	0,684	1,00	0,324
PSA ved 13-20 uger (ng/mL) ¹	Kontinuerlig		143	1,00	0,639	1,00	0,205
PSA-reduktion fra BL ved 2-5 uger (%) ¹	<30%	≥ 30%	207	1,56	0,006	1,24	0,318
PSA-reduktion fra BL ved 6-8 uger (%) ¹	<30%	≥ 30%	167	2,21	<0,001	2,27	0,001
PSA-reduktion fra BL ved 9-12 uger (%) ¹	<30%	≥ 30%	155	2,76	<0,001	2,30	<0,001
PSA-reduktion fra BL ved 13-20 uger (%) ¹	<30%	≥ 30%	143	2,69	<0,001	3,19	<0,001
CTC-tal ved baseline	≥5	<5	219	1,62	0,001	3,33	<0,001
CTC-tal ved uge 2-5	≥5	<5	203	2,34	<0,001	4,46	<0,001
CTC-tal ved uge 6-8	≥5	<5	163	3,29	<0,001	3,66	<0,001
CTC-tal ved uge 9-12	≥5	<5	149	3,23	<0,001	5,82	<0,001
CTC-tal ved uge 13-20	≥5	<5	144	4,82	<0,001	7,18	<0,001

¹ Bestemmes ud fra serum udtaget på samme dato som blodprøve til CTC

² p-værdi fra Wald-test af Z-statistik

3.3.5 Multivariat Cox-regressionsanalyse hos MPC-patienter

Multivariate Cox regressionsanalyser blev udført for at evaluere den uafhængige prædiktive effekt af CTC-tal ved at justere for virkningerne af de kendte, vigtige kliniske faktorer, der er statistisk signifikante i univariate analyser. CTC blev konstateret den stærkeste prædikator for PFS og OS på de fleste tidspunkter (**Tabel 27**).

Tabel 27: Multivariat Cox-regressionsanalyse hos MPC-patienter

Parameter	Antal patienter	PFS-risiko fra baseline		OS-risiko fra baseline	
		HR	p-værdi ²	HR	p-værdi ²
Baseline CTC (<5 vs. ≥5)	188	1,14	0,455	1,92	0,009
ECOG-status ved baseline (0 vs. 1 vs. 2)		1,00	0,982	1,46	0,032
Hæmoglobin ved baseline (g/dL) ³		0,88	0,027	0,81	0,007
LDH ved baseline (IU/mL) ^{1, 3}		1,0007	0,018	1,002	<0,001
Alkalisk fosfatase ved baseline (IU/mL) ^{1, 3}		—	—	1,00	0,410
Behandlingslinje (1. til 6.)		1,14	0,145	1,07	0,547
Behandlingstype (Taxotere: Ja/Nej)		0,63	0,009	0,70	0,139
CTC ved uge 2-5 (<5 vs. ≥5)	173	1,48	0,041	2,91	<0,001
PSA-reduktion fra baseline ved uge 2-5 (≥30% vs. <30%) ¹		1,40	0,077	1,13	0,637
ECOG-status ved baseline (0 vs. 1 vs. 2)		0,97	0,836	1,46	0,054
Hæmoglobin ved baseline (g/dL) ³		0,93	0,246	0,89	0,141
LDH ved baseline (IU/mL) ^{1, 3}		1,002	0,002	1,003	<0,001
Alkalisk fosfatase ved baseline (IU/mL) ^{1, 3}		—	—	1,00	0,622
Behandlingslinje (1. til 6.)		1,11	0,274	1,11	0,399
Behandlingstype (Taxotere: Ja/Nej)		0,75	0,133	0,80	0,397
CTC ved uge 6-8 (<5 vs. ≥5)	139	2,14	<0,001	2,13	0,009
PSA-reduktion fra baseline ved uge 6-8 (≥30% vs. <30%) ¹		1,88	0,002	2,38	0,007
ECOG-status ved baseline (0 vs. 1 vs. 2)		1,04	0,810	1,52	0,088
Hæmoglobin ved baseline (g/dL) ³		0,97	0,695	0,79	0,013
LDH ved baseline (IU/mL) ^{1, 3}		1,002	0,003	1,004	<0,001
Alkalisk fosfatase ved baseline (IU/mL) ^{1, 3}		—	—	1,00	0,780
Behandlingslinje (1. til 6.)		1,37	0,001	1,35	0,035
Behandlingstype (Taxotere: Ja/Nej)		0,80	0,278	1,45	0,276
CTC ved uge 9-12 (<5 vs. ≥5)	125	1,74	0,015	3,94	<0,001
PSA-reduktion fra baseline ved uge 9-12 (≥30% vs. <30%) ¹		2,23	<0,001	1,46	0,221
ECOG-status ved baseline (0 vs. 1 vs. 2)		1,21	0,307	1,89	0,004
Hæmoglobin ved baseline (g/dL) ³		0,93	0,322	0,97	0,758
LDH ved baseline (IU/mL) ^{1, 3}		1,00	0,190	1,003	<0,001
Alkalisk fosfatase ved baseline (IU/mL) ^{1, 3}		—	—	1,00	0,989
Behandlingslinje (1. til 6.)		1,25	0,052	1,11	0,499
Behandlingstype (Taxotere: Ja/Nej)		0,97	0,903	1,26	0,486
CTC ved uge 13-20 (<5 vs. ≥5)	123	2,95	<0,001	3,75	0,001
PSA-reduktion fra baseline ved uge 13-20 (≥30% vs. <30%) ¹		1,97	0,002	1,52	0,275
ECOG-status ved baseline (0 vs. 1 vs. 2)		0,98	0,919	1,98	0,002
Hæmoglobin ved baseline (g/dL) ³		1,03	0,723	0,87	0,232
LDH ved baseline (IU/mL) ^{1, 3}		1,00	0,380	1,003	<0,001
Alkalisk fosfatase ved baseline (IU/mL) ^{1, 3}		—	—	1,00	0,078
Behandlingslinje (1. til 6.)		1,25	0,050	1,06	0,751
Behandlingstype (Taxotere: Ja/Nej)		1,04	0,882	0,90	0,770

¹ Bestemmes ud fra serum udtaget på samme dato som blodprøve til CTC

² p-værdi fra Wald-test af Z-statistik

³ Vurderet som en kontinuerlig parameter

3.4 Brug af CTC til monitorering af den kliniske tilstand for patienter med metastatisk prostatacancer

3.4.1 Forholdet mellem overlevelse, CTC'er og sygdomsvurdering ved PSA

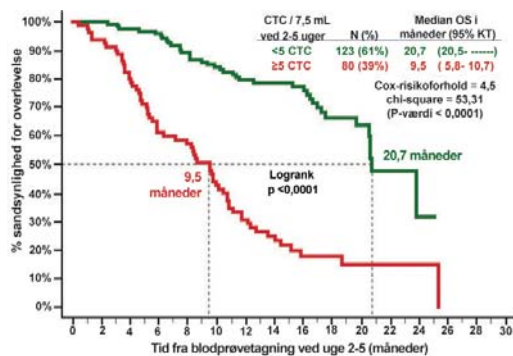
På nuværende tidspunkt er en reduktion i PSA et af de primære midler til at bestemme respons på behandlingen hos MPC-patienter. For at bestemme forholdet mellem klinisk status som bestemt ved en PSA til CTC, blev reduktion af $\geq 30\%$ eller $\geq 50\%$ PSA og CTC målt 2-5 uger, 6-8 uger, 9-12 uger og 13-20 uger efter behandlingsstart og sammenlignet med den samlede overlevelse.

Ved Kaplan-Meier analyse blev de forløbne OS-tider beregnet fra tidspunktet for blodprøvetagning. Patienterne blev opdelt i favorable grupper baseret på en CTC på < 5 på evalueringstidspunktet og en $\geq 30\%$ reduktion af PSA fra baseline til evalueringstidspunktet. Patienterne blev opdelt i ikke-favorable grupper baseret på en CTC på ≥ 5 og en $< 30\%$ reduktion af PSA fra baseline til evalueringstidspunktet.

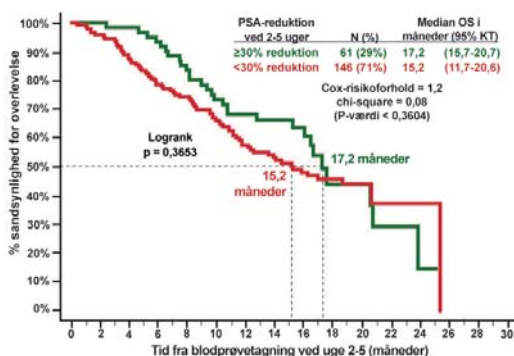
Figur 27 viser resultaterne af analysen 2-5 uger efter start af behandling, **Figur 28** viser analysen 6-8 uger efter start af behandling, **Figur 29** viser analysen 9-12 uger efter start af behandling og **Figur 30** viser analysen 13-20 uger efter start af behandling.

Figur 27: OS for MPC-patienter 2-5 uger efter behandlingsstart

A. 2-5 ugers CTC

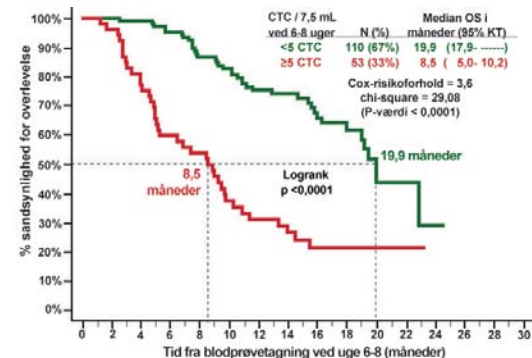


B. $\geq 30\%$ PSA-reduktion ved 2-5 uger

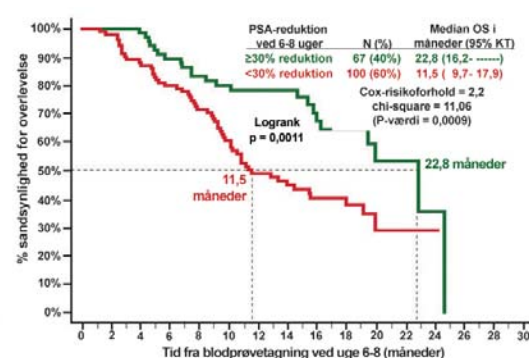


Figur 28: OS for MPC-patienter 6-8 uger efter behandlingsstart

A. 6-8 ugers CTC

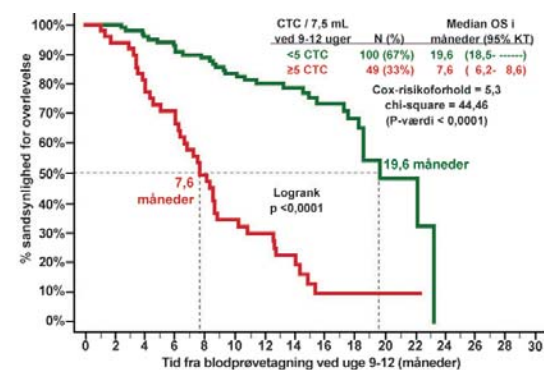


B. $\geq 30\%$ PSA-reduktion ved 6-8 uger

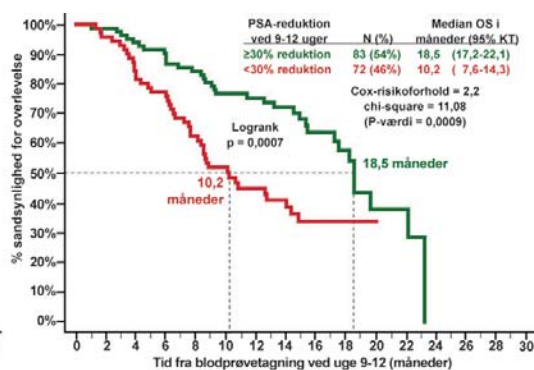


Figur 29: OS for MPC-patienter 9-12 uger efter behandlingsstart

A. 9-12 ugers CTC

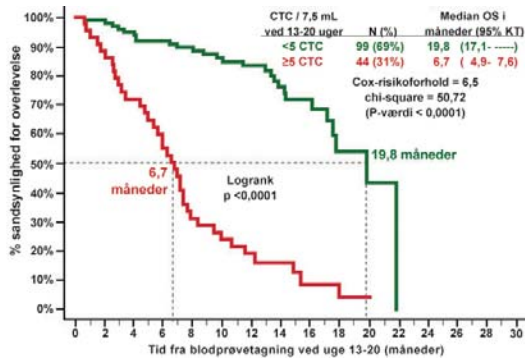


B. $\geq 30\%$ PSA-reduktion ved 9-12 uger

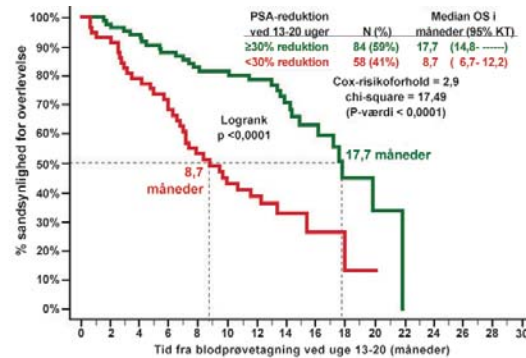


Figur 30: OS for MPC-patienter 13-20 uger efter behandlingsstart

A. 13-20 ugers CTC



B. ≥30% PSA-reduktion ved 13-20 uger



Tabel 28 illustrerer sammenligningen af median samlet overlevelse på forskellige tidspunkter efter behandling med CTC, en 30% PSA-reduktion og en 50% PSA-reduktion.

Tabel 28: Sammenligning af median OS mellem grupper med favorabel og ikke-favorabel CTC- og PSA-reduktion

Tids- punkt	CTC / 7,5 mL						30% PSA-reduktion fra baseline						50% PSA-reduktion fra baseline					
	N	≥5 (%)	Median OS		logrank p-værdi	HR	N	<30 (%)	Median OS		logrank p-værdi	HR	N	<50 (%)	Median OS		logrank p-værdi	HR
			<5	≥5					≥30%	<30%					≥50%	<50%		
2-5 uger	203	39%	20,7	9,5	<0,0001	4,5	207	71%	17,2	15,2	0,3653	1,2	207	83%	17,5	16,2	0,5599	1,2
6-8 uger	163	33%	19,9	8,5	<0,0001	3,6	167	60%	22,8	11,5	0,0011	2,2	167	75%	22,8	14,4	0,0117	2,1
9-12 uger	149	33%	19,6	7,6	<0,0001	5,3	155	46%	18,5	10,2	0,0007	2,2	155	59%	19,6	10,8	0,0006	2,3
13-20 uger	143	31%	19,8	6,7	<0,0001	6,5	142	41%	17,7	8,7	<0,0001	2,9	142	46%	17,7	9,9	0,0001	2,6

Dataene i **Figur 27** til **Figur 30** samt i **Tabel 28** viser en meget signifikant forskel i samlet overlevelse mellem patienter med ikke-favorabel CTC og favorabel CTC på alle de undersøgte tidspunkter, mens PSA-evalueringerne ikke var signifikante, før 6-8 uger efter start af behandling. Selv om forskellene i median OS mellem de favorable (≥30% eller ≥50% PSA-reduktion fra baseline) og de ikke-favorable (<30% eller <50% PSA-reduktion fra baseline) PSA-reduktionsgrupper var signifikant, syntes afstanden mellem de favorable (<5 CTC) og ikke-favorable (≥5 CTC) CTC-grupper større, og den var signifikant på alle tidspunkter efter start af behandling.

3.4.2 Konkordanser mellem CTC og PSA-ændringer hos MPC-patienter

Aktuelt er enten en ≥30% eller ≥50% reduktion i PSA almindeligt anvendt til at vurdere sygdommens progression hos patienter med metastatisk prostatacancer. For at fastslå forholdet mellem CTC og ændringer i PSA blev der derfor udarbejdet to-og-to tabuleringer med overensstemmende og uoverensstemmende observationer mellem ændringer i CTC og PSA for hvert tidspunkt efter start af behandling. Selvom sammenligninger i ændringer af CTC med PSA blev beregnet ved begge størrelser, blev der kun rapporteret data fra ændringer i CTC vs. ≥30% PSA. Denne beslutning var baseret på en nylig publikation (*J Nat Ca Inst.* 98 (8): s. 516-521, 2006) der viser, at et 3-måneders fald på 30% i PSA viste en stærkere forbindelse med reduktion i risikoen for død end et fald på 50% i PSA. Endvidere påviste en sammenligning af patient- og observationsvise resultater fra PSA fald på 30% og 50% vs. CTC-analyser ikke væsentlige forskelle i den positive % overensstemmelse, negative % overensstemmelse og generelle overensstemmelse på nogen af de observerede tidspunkter.

I alt 197, 159, 146 og 138 patienter fik analyseret serumprøver af det centrale laboratorium og havde evaluerbare CTC-resultater hhv. 2-5 uger, 6-8 uger, 9-12 uger og 13-20 uger efter behandlingsstart. For at bestemme en patients respons på behandling blev den procentvise ændring i PSA fra baseline beregnet for hvert af tidspunkterne efter behandlingsstart. For PSA-ændringer på hvert tidspunkt blev den favorable gruppe defineret som patienter med en ≥30% reduktion i PSA, og den ikke-favorable gruppe blev defineret som patienter med en <30% reduktion i PSA. For CTC ved hvert tidspunkt blev den favorable gruppe defineret som patienter, der havde <5 CTC pr. 7,5 mL blod, og den ikke-favorable gruppe blev defineret som patienter med ≥5 CTC.

Da CTC- vs. PSA-resultaterne af de patientvise sammenligninger mellem CTC og en ≥30% PSA-reduktion ved 2-5 uger og 13-20 uger efter start af behandling viste henholdsvis de mest signifikante uoverensstemmelser og overensstemmelser, præsenteres disse data henholdsvis i **Tabel 29** og **Tabel 30**.

Tabel 29: MPC-patientvis sammenligning af CTC og 30% PSA-reduktion ved 2-5 uger

% reduktion i PSA fra baseline ved 2-5 uger efter behandlingsstart	CTC'er 2-5 uger efter behandlingsstart		I alt
	<5 CTC'er/7,5 mL	≥5 CTC'er/7,5 mL	
≥30% reduktion i PSA	50	11	61
<30% reduktion i PSA	69	67	136
I alt	119	78	197

Måling	Estimat	Nedre 95% CI	Øvre 95% CI
Positiv % overensstemmelse	49%	41%	58%
Negativ % overensstemmelse	82%	70%	91%
Positiv prædiktiv værdi	86%	76%	93%
Negativ prædiktiv værdi	42%	33%	51%
Samlet overensstemmelse	59%	52%	66%
Odds ratio	4,4	2,1	9,2

Tabel 30: MPC-patientvis sammenligning af CTC og 30% PSA-reduktion ved 13-20 uger

% reduktion i PSA fra baseline ved 13-20 uger efter behandlingsstart	CTC 13-20 uger efter behandlingsstart		I alt
	<5 CTC	≥5 CTC	
≥30% reduktion i PSA	72	9	81
<30% reduktion i PSA	23	34	57
I alt	95	43	138

Måling	Estimat	Nedre 95% CI	Øvre 95% CI
Positiv % overensstemmelse	60%	46%	72%
Negativ % overensstemmelse	89%	80%	95%
Positiv prædiktiv værdi	79%	64%	90%
Negativ prædiktiv værdi	76%	66%	84%
Samlet overensstemmelse	77%	69%	84%
Odds ratio	11,8	4,9	28,3

Resultaterne af en "observationsvis" sammenligning af CTC- og PSA-ændringer ved brug af en ≥30% reduktionstærskel ved 2-5 uger, 6-8 uger, 9-12 uger og 13-20 uger efter start af behandlingen, kombineret, er vist i **Tabel 31**.

Tabel 31: MPC-observationsvis sammenligning af CTC og 30% PSA-reduktion

% reduktion i PSA fra baseline efter behandlingsstart	CTC efter behandlingsstart		I alt
	<5 CTC	≥5 CTC	
≥30% reduktion i PSA	243	41	284
<30% reduktion i PSA	175	181	356
I alt	418	222	640

Måling	Estimat	Nedre 95% CI	Øvre 95% CI
Positiv % overensstemmelse	51%	46%	56%
Negativ % overensstemmelse	86%	81%	89%
Positiv prædiktiv værdi	82%	76%	86%
Negativ prædiktiv værdi	58%	53%	63%
Samlet overensstemmelse	66%	62%	70%
Odds ratio	6,1	4,1	9,1

Den generelle overensstemmelse mellem ændringer i CTC og PSA på forskellige tidspunkter efter behandlingsstart varierede fra 59% til 77% ved sammenligning med en ≥30% PSA-reduktion og fra 52% til 75% ved sammenligning med en ≥50% PSA-reduktion, hvilket viste, at der var uoverensstemmelse mellem ændringer i CTC og PSA hos ~ 25% til 40% af patienterne.

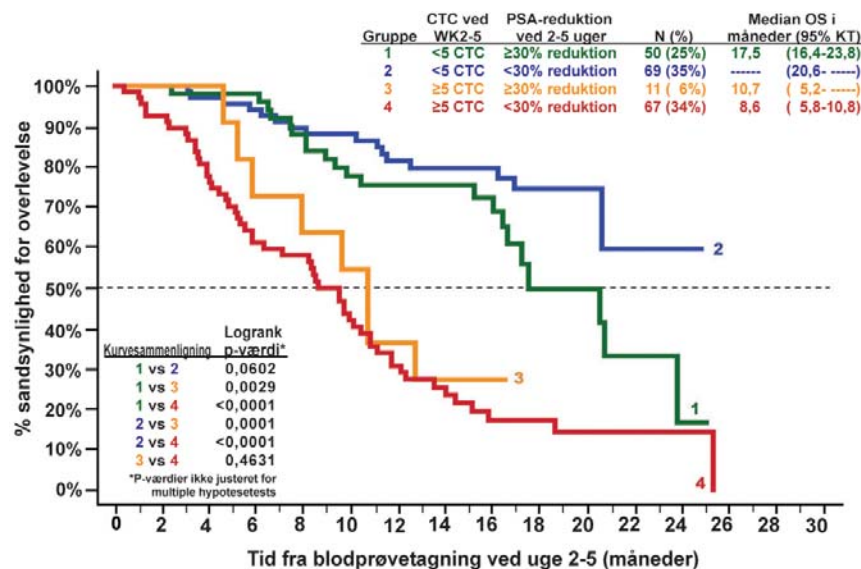
3.4.3 Kombination af CTC-niveauer og PSA-reduktion til forudsigelse af OS for MPC-patienter

For at bestemme hvilke af de uoverensstemmende resultater, der bedst afspejlede prognosen for patienten, blev CTC-vurdering og ændringer i PSA 2-5 uger, 6-8 uger, 9-12 uger og 13-20 uger efter start af behandling sammenlignet med den samlede overlevelse. Forløbene OS-tider blev beregnet ud fra den blodprøve, der blev evalueret. Ved Kaplan-Meier analysen **Figur 31 (Panel A, B, C og D)** blev patienter opdelt i fire grupper baseret på deres CTC-tal og PSA-reduktion hhv. 2-5 uger, 6-8 uger, 9-12 uger og 13-20 uger efter start af behandlingen:

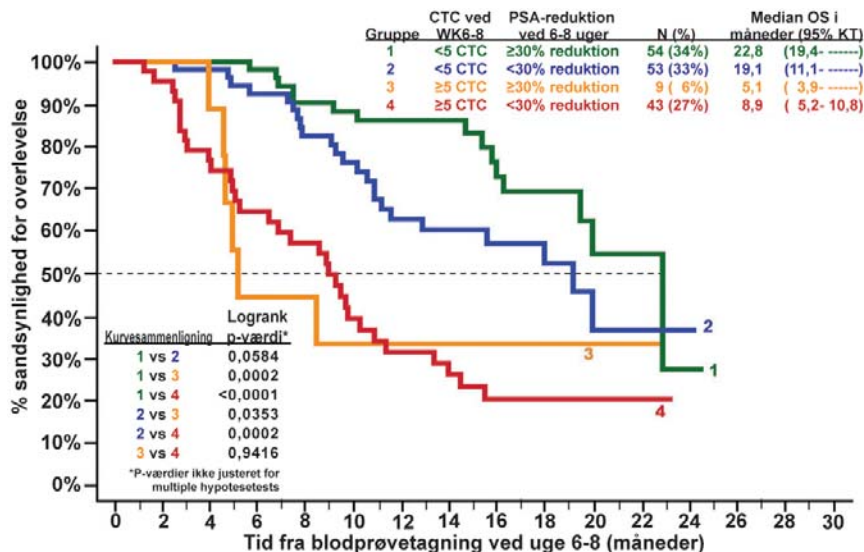
- Gruppe 1 (**grøn** kurve), patienter med <5 CTC på evalueringstidspunktet og en $\geq 30\%$ PSA-reduktion fra baseline til evalueringstidspunktet.
- Gruppe 2 (**blå** kurve), patienter med <5 CTC på evalueringstidspunktet og en <30% PSA-reduktion fra baseline til evalueringstidspunktet.
- Gruppe 3 (**orange** kurve), patienter med ≥ 5 CTC på evalueringstidspunktet og en $\geq 30\%$ PSA-reduktion fra baseline til evalueringstidspunktet.
- Gruppe 4 (**rød** kurve), patienter med ≥ 5 CTC på evalueringstidspunktet og en <30% PSA-reduktion fra baseline til evalueringstidspunktet.

Figur 31: CTC-niveauer og PSA-ændringer kombineret for at forudsige OS 2-5 uger (Panel A), 6-8 uger (Panel B) 9-12 uger (Panel C) og 13-20 uger (Panel D) efter behandlingsstart

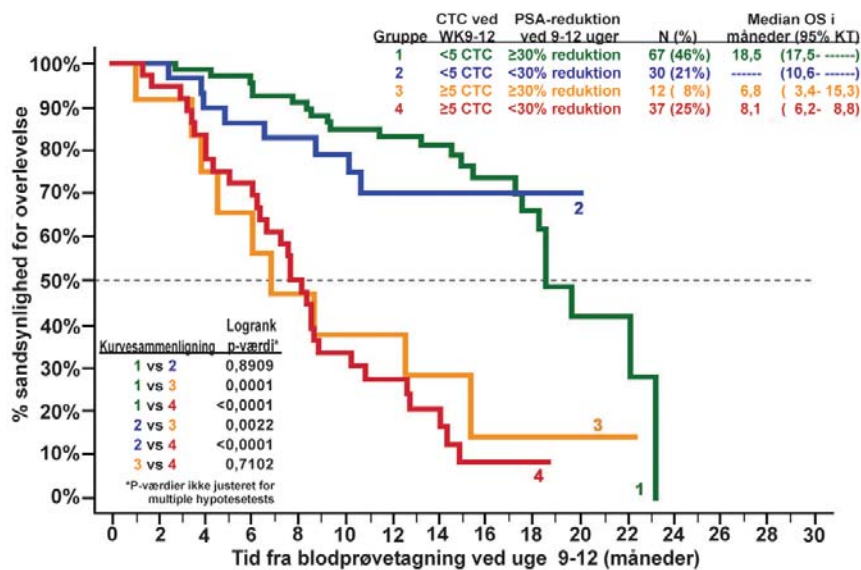
A. 2-5 uger



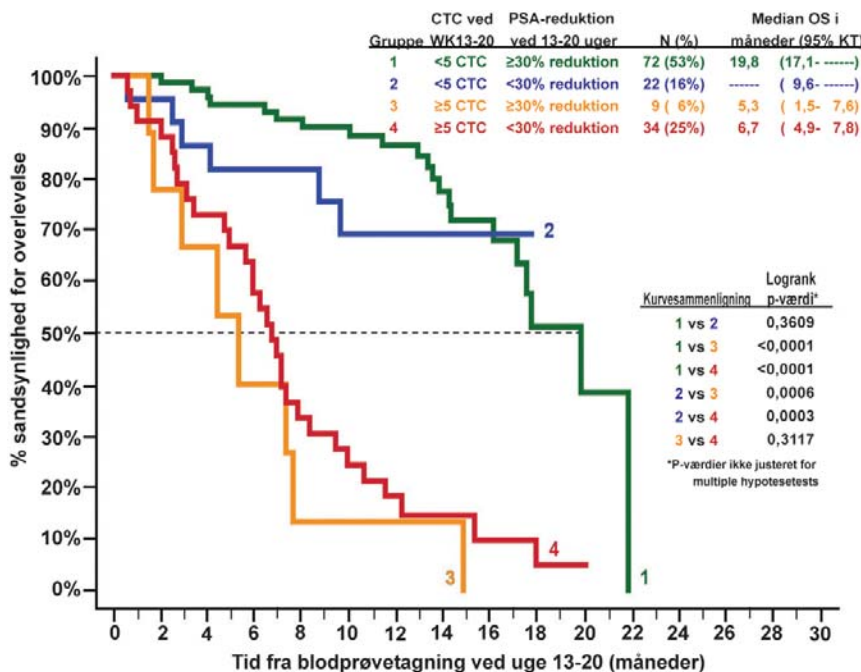
B. 6-8 uger



C. 9-12 uger



D. 13-20 uger



Figur 31 viser, at patienter med ≥ 5 CTC på et hvilket som helst tidspunkt efter behandlingsstart havde en meget højere risiko for at dø tidligere uanset ændringerne i PSA-niveauer fra baseline. Patienter med ≥ 5 CTC på alle tidspunkter (**Gruppe 3** og **Gruppe 4**) havde de korteste mediane samlede overlevelser, som ikke var signifikant forskellig. Den mediane OS for disse to grupper var imidlertid signifikant anderledes i forhold til median OS for patienter med <5 CTC på alle tidspunkter (**Gruppe 1** og **Gruppe 2**). Disse to grupper (**Gruppe 1** og **Gruppe 2**) havde de længste mediane samlede overlevelser, som ikke var signifikant forskellig. Det vigtige fund illustreret i **Figur 31** er, at selvom en PSA-reduktion på nogle punkter efter start af behandling kan have betydning for forudsigelse af overlevelse, var favorabel CTC på et hvilket som helst tidspunkt mere præcis end PSA-evalueringen. Den praktiske konsekvens er brugen af CTC-analyse til vurdering af sandsynligheden for MPC-patienters overlevelse. I de tilfælde hvor ændringer i CTC og PSA var uoverensstemmende, gav CTC den mest præcise vurdering af prognosen.

REVISIONSHISTORIK

Revisionsdato	Komponentkode	Beskrivelse af tekniske ændringer
2013-08-29	e631600001_DA	Svarer teknisk til e631500023_DA med følgende ændringer: • Tildelt et nyt delnummer • Opdateret til Janssen forretningsattributter, herunder: – Janssen-logo – Fremstillingsadresse – EC/REP-adresse – Telefonnummer – Hjemmeside • Fjernet alle forekomster af CELLSPOTTER® Analyzer • Opdateret alle forekomster af ordlyden CELLSEARCH® koniske rør til CELLSEARCH® koniske centrifugalrør (15 mL) • Opdateret alle forekomster af CELLSEARCH®-kit til CELLSEARCH® CTC-kit • I afsnittet TOLKNING AF RESULTATER: – Opdateret celleoverførselsoplysning til '5000 eller flere' • I afsnittet Janssen Technical & Customer Support: – Opdateret alle forekomster af Veridex, LLC til Janssen Diagnostics, LLC – USA-patenterklæring opdateret • I afsnittet FORKLARING TIL SYMBOLERNE: – Tilføjet fremstillingsdatosymbol og teksten 'Fremstillingsdato' • Opdateret revisionsdato



Janssen Technical & Customer Support

Janssen Diagnostics, LLC

700 US Highway Rte 202 South

Raritan, NJ 08869-0606 USA

documents.cellsearchctc.com

Tlf.: 1-877-837-4339

00 8000 8374339 (EU)

CELLSEARCH®, CELLTRACKS®, CELLTRACKS ANALYZER II®, MAGNEST® og AUTOPREP® er registrerede varemærker tilhørende Janssen Diagnostics, LLC. Mitomycin® er et registreret varemærke tilhørende Bristol Meyers Oncology. Procrit® er et registreret varemærke tilhørende Ortho BioTech. Armidex® er et registreret varemærke tilhørende AstraZeneca. Aredia® er et registreret varemærke tilhørende Novartis. Herceptin® er et registreret varemærke tilhørende Genentech. Proclin® er et registreret varemærke tilhørende Supelco.

Denne teknologi, herunder produkter og/eller tilknyttede komponenter, og procedurer og instrumentsystemer, der er beskrevet heri, er beskyttet af USA-patenter og tilsvarende internationale patenter og verserende patentansøgninger, herunder et eller flere af følgende: USA-patentnumre 5,466,574; 5,459,073; 5,512,332; 5,597,531; 5,698,271; 5,849,517; 5,985,153; 5,993,665; 6,120,856; 6,136,182; 6,365,362; 6,551,843; 6,620,627; 6,623,982; 6,645,731; 6,660,159; 6,790,366; 6,861,259; 6,890,426; 7,011,794, 7,282,350 og 7,332,288.

**SYMBOLFORKLARING /
SYMBOLIEN MERKITYKSET /
LEGENDA /
SYMBOLFÖRKLARINGAR /**

Følgende symboler kan være anvendt i denne brugsanvisning eller på den associerede etikettering. / Seuraavia symboleja voidaan käyttää tässä tuoteselosteessa tai siihen liittyvissä tuotetarroissa. / De volgende symbolen kunnen zijn gebruikt in deze gebruiksaanwijzing of op desbetreffende etiketten. / Följande symboler kan förekomma i denna bruksanvisning eller på tillhörande etiketter.



Anvendes inden ÅÅÅÅ-MM-DD eller
ÅÅÅÅ-MM
Viimeinen käyttöpäivä VVVV-KK-PP tai
VVVV-KK
Niet meer gebruiken na YYYY-MM-DD
of YYYY-MM
Används före ÅÅÅÅ-MM-DD eller
ÅÅÅÅ-MM



Batchkode
Eräkoodi
Lotnummer
Satskod



Serienummer
Sarjanumero
Serienummer
Serienummer



Forsigtig, se de medfølgende dokumenter
Huomio, lue mukana toimitetut asiakirjat
Let op, raadpleeg de begeleidende
documenten
Försiktighet! Läs medföljande dokument



Fremstillingsdato
Valmistuspäivä
Fabricagedatum
Tillverkningsdatum



Producent
Valmistaja
Fabrikant
Tillverkare



Indeholder tilstrækkeligt til < n > tests
Sisältö riittää < n > testiin
Bevat voldoende voor < n > testen
Tillräckligt för < n > tester



Skadelig
Haitallinen
Schadelijk
Skadligt



Katalognummer
Tuotenumero
Catalogusnummer
Katalognummer



Autoriseret repræsentant i EU
Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä
Gevolmachtigd vertegenwoordiger in de
Europese Gemeenschap
Auktoriserad representant i Europeiska
gemenskapen



Temperaturgrænser
Lämpötilarajoitus
Beperking met betrekking tot de
temperatuur
Temperaturbegränsning



Biologiske risici
Biologiset vaarat
Biologische risico's
Biologiska risker



Se brugsanvisningen
Lue käyttöohjeet
Raadpleeg de gebruiksinstructies
Läs bruksanvisningen



In vitro-diagnostisk medicinsk udstyr
In vitro-diagnostisk medicinteknisk produkt
Medisch product voor *in-vitro* diagnostiek
In vitro -diagnostiikkaan tarkoitettu
lääkinnällinen laite

EC REP

Janssen Diagnostics BVBA
Turnhoutseweg 30
2340 Beerse
Belgium

e631600001_DA
august 2013



Janssen Diagnostics, LLC
700 US Highway Rte 202 South
Raritan, NJ 08869-0606 USA
documents.cellsearchctc.com
Tlf.: 1-877-837-4339
00 8000 8374339 (EU)

