

## 1 Kurzbeschreibung

Die Vista Produktreihe von LIQOMICS umfasst mehrere hausintern entwickelte ctDNA-Sequenzierungstests, die für die explorative Genotypisierung bei Krebspatienten anhand von Flüssigbiopsieproben und den Nachweis minimaler Restkrankheit (*minimal residual disease*, MRD) in Folgeproben konzipiert sind.

Beispiele sind **LymphoVista**, ein Test zur Genotypisierung und MRD Detektion bei Lymphomen, **LymphoVista HL**, eine spezifische **LymphoVista** Variante für Hodgkin-Lymphome und **CancerVista** für solide Tumore. Die Tests werden als interne *In-vitro*-Diagnostik (IVD)-Services angeboten und beinhalten die Extraktion zellfreier DNA (cfDNA), Qualitätskontrolle, Sequenzierbibliotheksvorbereitung, Zielanreicherung, Sequenzierung und informatische Analyse mit firmeneigener Pipeline.

## 2 Rechtlicher Rahmen

Die Vista Tests werden derzeit als Inhouse-IVD-Tests in einer qualitätskontrollierten Umgebung angeboten, die nach Validierung und gemäß den deutschen RiliBÄK-Richtlinien betrieben wird. Im aktuellen Angebot stehen die Tests **LymphoVista** und **LymphoVista HL** zur Verfügung. **CancerVista** befindet sich aktuell im Aufbau und wird derzeit ausschließlich für Forschungszwecke (RUO), nicht für diagnostische Zwecke, angeboten.

## 3 Probenmaterial

Bei dem Analyten handelt es sich um cfDNA, die in speziellen Entnahmeröhrchen gesammelt wird, welche die zelluläre Fraktion des entnommenen Blutes abtrennen und konservieren, sodass sie im LIQOMICS-Labor sauber vom Plasma getrennt werden kann. Primär werden Sarstedt cfDNA Tubes (S-Monovette® cfDNA Exact, CE-IVD, 9,2 ml, cap raspberry colored, Sarstedt, 01.2040.001) verwendet. Alternativ akzeptieren wir auch Qiagen ccfDNA Tubes (PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD), Qiagen, 768165), oder Strecktubes (Cell-Free DNA BCT® CE (10 ml, CE-IVD), Streck, 218997).

Die Sarstedt cfDNA Tubes sind auf Anfrage bei LIQOMICS in Form eines **Vista Collection Kits** erhältlich, das die cfDNA-Röhrchen und alle Anweisungen enthält, die Sie benötigen, um die Proben an LIQOMICS zu senden (siehe Kapitel 8). Andere Formen von genetischem Material, wie zuvor extrahierte cfDNA oder cfDNA aus Liquor oder Urin, können möglicherweise analysiert werden, aber der Test ist derzeit nicht validiert und die Ergebnisse werden nur für Forschungszwecke zur Verfügung gestellt. Bitte setzen Sie sich mit uns in Verbindung, um andere cfDNA-Quellen zu besprechen, wenn Sie an deren Analyse interessiert sind.

## 4 Indikationen und Anwendungsgebiete der Vista Produktreihe

Die Indikationen für die Vista Tests variieren je nach Testtyp. Der **LymphoVista** Test wurde für B-Zell-Lymphome entwickelt, z.B. Milz-B-Zell-Lymphome, Marginalen-Lymphome, follikuläre Lymphome, transformierte indolente B-Zell-Lymphome, großzellige B-Zell-Lymphome, ZNS-Lymphome, Burkitt-Lymphome und KSHV/HHV8-assoziierte B-Zell-Lymphoproliferationen.

Für das Hodgkin-Lymphom bieten wir den **LymphoVista HL** Test an, eine spezielle Version unseres **LymphoVista** Tests. Auch wenn der **LymphoVista** Test verwendet werden kann, empfehlen wir den **LymphoVista HL** Test für das Hodgkin-Lymphom, da er speziell für die Erfassung eines breiteren Spektrums von Genen konzipiert ist, die für diese Krankheit relevant sind.

## 5 Funktion und Zweck des Tests

Der **LymphoVista** Test kann zur Genotypisierung von Lymphomen und zur Überwachung des Krankheitsverlaufs durch Bewertung der MRD verwendet werden. In bestimmten Fällen, wie dem Hodgkin-Lymphom und dem diffusen großzelligen B-Zell-Lymphom, hat sich der MRD-Wert als prognostisch bedeutsam erwiesen (siehe Kapitel 6 für weitere Einzelheiten). Die Vista Tests können zur Überwachung des Krankheitsverlaufs und des Ansprechens auf die Behandlung eingesetzt werden und helfen so bei der laufenden Betreuung der Patienten. Ein quantitatives Ergebnis wird in Form eines absoluten MRD-Wertes geliefert, der mit anderen Zeitpunkten verglichen werden kann, zu denen der Test verwendet wurde. Die Tests sollten nicht zum Screening oder zur Diagnose verwendet werden.

## 6 Analytische und klinische Leistung

### 6.1 LymphoVista

#### Technische Validierung [1]:

- **Varietenerkennung:** 93,86% Sensitivität und 99,999% Spezifität für Varianten mit  $\geq 0,5\%$  mutierter Allelfrequenz (mAF).
- **MRD-Bewertung:** Nachweisgrenze (LoD):  $6,69 \times 10^{-6}$ ; Spezifität, Sensitivität und Genauigkeit: 100 % für MRD-Werte  $> 3,04 \times 10^{-5}$ .

#### Klinische Validierung (Vista Plattform, rrDLBCL) [2]:

Die klinische Validierungsstudie umfasste 326 Proben von 88 Patienten aus 131 Behandlungslinien. Patienten, die zu irgendeinem Zeitpunkt MRD-Negativität erreichten, hatten eine signifikant höhere 18-Monats-Überlebensrate (*overall survival*, OS) von 77 % im Vergleich zu 33 % bei Patienten, die nie MRD-negativ waren (HR 4,61, 95% CI 2,38-8,92,  $p < 0,0001$ ). Das 18-monatige progressionsfreie Überleben (*progression-free survival*, PFS) betrug 51 % bei MRD-negativen gegenüber 5 % bei MRD-positiven Fällen (HR 4,32, 95 % CI 2,46-7,61,  $p < 0,0001$ ). Dies deutet darauf hin, dass die MRD als unabhängiger Prädiktor für ein schlechtes Ergebnis verwendet werden kann, wenn keine MRD-Negativität vorliegt.

### 6.2 LymphoVista HL

#### Technische Validierung [3]:

- **Varietendetektion:** 91,27% Sensitivität und 99,99% Spezifität für Varianten mit  $\geq 0,5\%$  mAF.
- **MRD-Bewertung:** LoD:  $6,54 \times 10^{-6}$ ; Spezifität, Sensitivität und Genauigkeit: 100 % für MRD-Werte  $> 1,76 \times 10^{-5}$ .

## Klinische Validierung (LymphoVista HL, HL) [3]:

Die klinische Validierungsstudie basierte auf Patienten aus der HD21-Studie mit einem medianen Nachbeobachtungszeitraum von 50 Monaten. Hier lag die MRD-positive Rate nach 2 Zyklen Chemotherapie (MRD-2-positive Rate) bei 18,5 %. Das 4-Jahres-PFS war bei MRD-2-negativen Patienten signifikant höher (95,3%) als bei MRD-2-positiven Patienten (72,2%) (HR 6,9,  $p < 0,0001$ ). Subgruppenanalysen zeigten, dass MRD-2 auch bei PET-2-positiven/-negativen Patienten sowie in behandlungsspezifischen Kohorten (z. B. BrECADD, eBEACOPP) prognostisch für den Behandlungserfolg bleibt.

## 6.3 CancerVista

### Technische Validierung [4]:

- **Variantendetektion:** 93.17% Sensitivität mit  $\geq 1\%$  mutierter Allelfrequenz (mAF) und  $>99\%$  Spezifität für alle Varianten.
- **MRD-Bewertung:** Nachweisgrenze (LoD):  $3.30 \times 10^{-6}$ ; MRD wird positiv bewertet ab  $2.5 \times 10^{-5}$  (25 ppm), Spezifität von 96.7%, Sensitivität von 80% und Genauigkeit von 94.3% für MRD-Werte  $>5.1 \times 10^{-5}$ .

## 7 Testprinzip

Die Vista Produktreihe dient zur Genotypisierung von Krebserkrankungen durch die Sequenzierung von zellfreier, vom Tumor stammender DNA (ctDNA) aus Flüssigbiopsien. Dabei kann mithilfe der Kombination von Ergebnissen aus einer vor Behandlungsbeginn entnommenen Ausgangsprobe und beliebig vielen späteren Proben die MRD bestimmt werden. Dies erfolgt durch die Quantifizierung der verbleibenden ctDNA anhand tumorspezifischer Mutationen. Zunächst wird die cfDNA extrahiert. Nach einer Qualitätskontrolle der cfDNA werden Sequenzierbibliotheken erstellt und für die relevanten Targets der einzelnen Vista Tests angereichert. Die Bibliotheken werden auf einem Illumina-Sequenziergerät sequenziert. Die resultierenden Daten werden mit der proprietären Genotypisierungs- und MRD-Pipeline von LIQOMICS analysiert und die Ergebnisse werden in einem standardisierten Format berichtet. Ein **Beispielbericht** ist auf der LIQOMICS-Website verfügbar<sup>1</sup>.



## 7.1 Probenvoraussetzungen

Die erste Probe eines Patienten sollte bei aktiver Erkrankung entnommen werden, um möglichst viele Marker (Mutationen) zu identifizieren und die MRD zu verfolgen. Folgeproben können jederzeit entnommen werden, auch in Phasen, in denen laut bildgebender Verfahren (z. B. CT oder PET) keine sichtbare Erkrankung nachweisbar ist, um eine minimale Resterkrankung (MRD) zu identifizieren, die möglicherweise durch diese Methoden nicht erfasst wird.

<sup>1</sup> <https://liqomics.com/de/downloads/musterbericht-de.pdf>

## 7.2 Wann ist der Test nicht möglich

Patienten mit einer früheren allogenen Stammzell- oder Organtransplantation (abgesehen von Hornhauttransplantation) können nicht getestet werden.

## 7.3 Einschränkungen des Tests

Die Tests der Vista Produktreihe sind nicht für das Krebs-Screening geeignet. Ihr Hauptzweck ist die Identifizierung von Varianten zur MRD-Verfolgung und die MRD-Verfolgung an sich. Dabei können bestimmte Krebsgenotypen, insbesondere bei niedrigem ctDNA-Gehalt, übersehen werden. Obwohl Genotypisierung und MRD-Detektion für die Vista Tests validiert sind, sollte die Genotypisierung derzeit nicht genutzt werden um Patienten für spezifische Behandlungen basierend auf einem bestimmten Krebsgenotyp zu qualifizieren.

## 8 Probennahme, Lagerung und Versand

Dieses Kapitel enthält Anweisungen zu Entnahme, Lagerung und Versand von Blutproben an LIQOMICS. Bitte beachten Sie diese zur Sicherstellung der Probenintegrität.

Obwohl wir weitere cfDNA-Röhrchen akzeptieren (siehe Kapitel 3), verwenden wir vorzugsweise die Sarstedt S-Monovette® cfDNA Exact Tubes. Diese sind im Vista Collection Kit enthalten, und ihre Anwendung wird in diesem Abschnitt ausführlich beschrieben.

### 8.1 Das LIQOMICS Vista Collection Kit

Für eine einfache Probennahme und korrekte Handhabung stellen wir das Vista Collection Kit bereit. Dieses cfDNA-Kit enthält alle benötigten Materialien und wird in einer umweltfreundlichen, wiederverwendbaren Box geliefert, die auch für den Rückversand der Proben genutzt werden kann. Zur Anforderung eines Kits kontaktieren Sie uns bitte über unsere Webseite, per E-Mail oder telefonisch (siehe Kapitel 12). Auf Anfrage erhalten Sie das Kit, zusammen mit allen notwendigen Anweisungen.

**Inhalt des Kits:** Jedes Kit enthält die folgenden Artikel:

- **Rücksendepaket:** Dies ist der Karton, in dem Sie Ihr Kit erhalten haben – bitte bewahren Sie ihn auf!  
**Hinweis:** Wenn Sie mehrere Proben in einem Karton einsenden, beschriften Sie bitte jede Probe deutlich und legen Sie für jede Probe ein Einsendeformular bei, sonst können die Proben nicht bearbeitet werden.
- **Sarstedt cfDNA Tube:** S-Monovette® cfDNA Exact (9,2 ml, himbeerfarbener Deckel, Sarstedt, Kat. Nr. 01.2040.001) – bitte nur **dieses Röhrchen** verwenden!
- **Sarstedt cfDNA Röhrchen Produktblatt:** enthält die Informationen zur Blutentnahme mit den Sarstedt S-Monovette® cfDNA Exact Röhrchen
- **Venenpunktionsset:** Venofix A (0.8x19mm 21G, 30cm, grün (Braun, Kat. Nr. 17935255) – Sie können es durch jedes beliebige Venenpunktionsset ersetzen, das Sie verwenden möchten
- **Adapter:** Multi-Adapter (Sarstedt, Kat. Nr. 14.1205) – bei Verwendung eines anderen venösen Punktionssets könnte ein anderer Adapter erforderlich sein

- **Probenbehälter:** Transparentes Schutzgefäß in zylindrischer Form mit saugfähigem Einsatz (126 mm Länge, 30 mm Durchmesser, Sarstedt, Kat.-Nr. 78.898) – zum Schutz gegen versehentliches Verschütten von Proben während des Transports zu LIQOMICS
- **Deckel des Probenbehälters:** Schraubverschluss, naturfarben, passend zum Transportbehälter (Sarstedt, Kat.-Nr. 65.679)
- **Einsendeformular:** Auszufüllen, zu unterschreiben und mit den Proben zurückzusenden - **ohne den vollständig ausgefüllten Bogen ist eine Analyse nicht möglich!**
- **Diese Informationsbroschüre:** Allgemeine und probenverarbeitungsbezogene Informationen für die LIQOMICS Vista Testfamilie
- **Rücksendeetikett:** Bereits vorausbezahltes Etikett für die erleichterte Probensendung an das LIQOMICS-Labor

Hinweis: Bitte lesen Sie die beiliegenden Anweisungen sorgfältig, um eine korrekte Nutzung des Kits und die Probenintegrität während des Transports zu gewährleisten. Bei Fragen wenden Sie sich gerne über die angegebenen Kontaktdaten an uns (siehe Kapitel 12).

## 8.2 Probennahme

### 1. Öffnen Sie den Karton an der perforierten Stelle

Achten Sie darauf, den Karton an der vorperforierten Stelle zu öffnen, um ihn später für die Rücksendung der Proben sicher verschließen zu können. Durch die richtige Öffnung können Sie den inneren Klebestreifen (geschützt durch eine grüne Folie) verwenden, um den Karton für die Sendung der Probe(n) wieder zu verschließen.

### 2. Informieren Sie den Patienten und vervollständigen Sie die Dokumentation

Bitte stellen Sie sicher, dass der Patient über alle relevanten Details informiert ist, die im Einsendeformular aufgeführt sind. Das Formular muss vor der Probennahme ausgefüllt und unterzeichnet werden.

### 3. Blutentnahme mit Sarstedt cfDNA-Röhrchen

Verwenden Sie bei der Blutprobenentnahme die Sarstedt S-Monovette® cfDNA Exact Tubes mit dem himbeerfarbenen Deckel. Detaillierte Anweisungen zum Blutentnahmeverfahren finden Sie im Sarstedt S-Monovette® cfDNA Exact-Produktblatt, das im Kit enthalten ist.

Frieren Sie die Blutproben nicht ein! Die ordnungsgemäße Handhabung und Temperaturkontrolle sind entscheidend für den Erhalt der Probenintegrität. Nach der Entnahme befolgen Sie bitte die Anweisungen im Kit zum Verpacken und Versenden (Kapitel 8.3 und Abbildung 1) und verwenden Sie den mitgelieferten Rücksendekarton und das Etikett.

### 4. Sonderfälle

Falls Sie das beschriebene Verfahren nicht befolgen können oder alternative Materialien verwenden möchten, kontaktieren Sie uns bitte (siehe Kapitel 12). Wir werden gemeinsam mit Ihnen eine maßgeschneiderte Lösung erarbeiten, die Ihren Anforderungen entspricht.

## 8.3 Lagerung und Versand von Proben

### 1. Lagerung von cfDNA in Sarstedt-Röhrchen

Die in Sarstedt S-Monovette® cfDNA Exact Röhrchen gesammelte cfDNA sollte bis zum Versand bei Raumtemperatur gelagert werden. Um optimale Ergebnisse zu erzielen, senden Sie die Proben bitte so schnell wie möglich nach der Entnahme an LIQOMICS. Falls ein sofortiger Versand nicht möglich ist, stellen Sie sicher, dass die Proben innerhalb von 48 Stunden versandt werden, um die Integrität auch bei verlängertem Transport zu gewährleisten. **Wichtig:** Frieren Sie die Proben nicht ein!

### 2. Verpackung und Versand (Abbildung 1)

Wenn Sie ein Rücksendepaket von uns erhalten haben und Probleme bei der Verwendung haben, lesen Sie bitte Kapitel 10 für weitere Anweisungen.

- Legen Sie das cfDNA-Röhrchen in den mitgelieferten **Schutzbehälter** und verschließen Sie ihn sicher mit dem mitgelieferten Deckel. Legen Sie den **verschlossenen Behälter** in den Karton.
- Fügen Sie das **ausgefüllte und unterschriebene Einsendeformular** bei, welches bestätigt, dass der Patient ausreichend über den Test informiert wurde. **Wichtig:** Proben ohne ausgefülltes Einsendeformular können von LIQOMICS nicht bearbeitet werden.
- Legen Sie das cfDNA-Röhrchen zusammen mit dem Einsendeformular in den **mitgelieferten Karton** oder eine andere sichere Verpackung.
- Verschließen Sie den Karton ordnungsgemäß und adressieren Sie ihn mit dem mitgelieferten **Rücksende-etikett**.

Sollten Sie Probleme mit der Verpackung oder dem Versand von Proben haben, können Sie uns über unsere Website, per E-Mail oder telefonisch kontaktieren (siehe Kapitel 12).

## 9 Testergebnisse

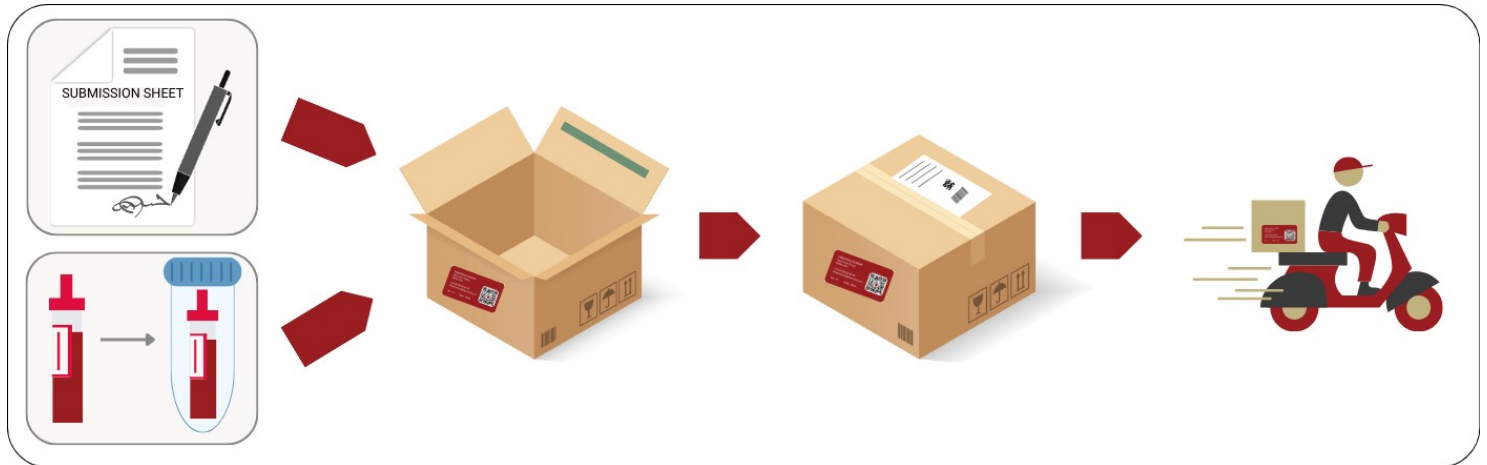
### 9.1 Wie Sie die Ergebnisse erhalten

Es wird ein automatischer Bericht erstellt, der von LIQOMICS technisch und medizinisch validiert wird. Dieser Bericht wird dem anfordernden Arzt innerhalb von 2-4 Wochen nach Erhalt der Probe per Fax oder passwortgeschützter E-Mail zugesandt.

### 9.2 Wie der Patient die Ergebnisse erhält

Die Ergebnisse werden dem anfordernden Arzt mitgeteilt. LIQOMICS informiert den Patienten nicht direkt über die Ergebnisse. Der anfordernde Arzt ist dafür verantwortlich, alle lokalen Vorschriften zur Kommunikation von genetischen Testergebnissen an den Patienten einzuhalten. In seltenen Fällen können während der Analyse der Testergebnisse genetische Befunde auftreten, die nicht im Zusammenhang mit dem durchgeführten Vista Test stehen. LIQOMICS wird den anfordernden Arzt über etwaige zufällige genetische Befunde informieren, wenn dies auf dem Einreichformular durch Ankreuzen des entsprechenden Kästchens angefordert wird. Der anfordernde Arzt ist dann verantwortlich für die Kommunikation dieser Befunde an den Patienten, gemäß den lokalen Vorschriften für genetische Tests.





**Abbildung 1: Probenversandanweisungen**

Legen Sie das ausgefüllte und unterschriebene Proben-Einreichformular sowie das cfDNA-Röhrchen im Schutzbehälter in den bereitgestellten wiederverwendbaren Versandkarton. Entfernen Sie die grüne Folie und verschließen Sie die Box. Verwenden Sie das bereitgestellte Etikett, um das Paket an LIQOMICS zurückzusenden. Versenden Sie die Proben innerhalb von **48 Stunden!**

## 10 Verwendung des Rücksendepakets

1. Öffnen Sie den Karton vorsichtig entlang der Perforierung, um Beschädigungen zu vermeiden.
2. Verwenden Sie den inneren Klebestreifen (bedeckt von einer grünen Folie), um die Schachtel für die Rücksendung der Proben wieder zu verschließen.
3. Wenn Sie unsicher sind, sehen Sie sich das vom Hersteller bereitgestellte **Video** an<sup>2</sup>.



## 12 Kontakt für Fragen und Beschwerden

Sollten Sie Probleme, Fragen oder Beschwerden haben, können Sie sich vor oder während des Tests jederzeit über unser **Web-Kontaktformular**<sup>3</sup>, per Telefon oder per E-Mail an uns wenden, und wir werden uns umgehend und um Ihr Anliegen kümmern.

### Liqomics GmbH

Neurather Ring 1  
51063 Köln

+49 221 69 05 65 97  
diagnostics@liqomics.com

Mo - Fr 8:00 - 15:00



## 11 Literatur

- [1] Validation Report Version 1.0, data on file
- [2] SERIAL MONITORING OF CIRCULATING TUMOR DNA WITH AN ULTRASENSITIVE ASSAY FACILITATES OUTCOME PREDICTION IN RELAPSED/REFRACTORY LARGE B-CELL LYMPHOMA TREATED WITH MODERN AGENTS, EHA Library. Schleifenbaum J. 06/13/2024; 419348; P1261 <https://library.ehaweb.org/eha/2024/eha2024-congress/419348/julia.k.schleifenbaum.serial.monitoring.of.circulating.tumor.dna.with.an.html>
- [3] 4355 Lymphovista HL - a Validated Assay for Genotyping and MRD Assessment in Hodgkin Lymphoma, ASH, Annual Meeting & Exposition <https://ash.confex.com/ash/2024/webprogram/Paper205034.html>
- [4] 9.1-LIQ-REC\_V2.0\_Technical Documentation (in-house IVDs)\_VistaFamily of combined ctDNA genotyping and MRD tests.pdf

<sup>2</sup> <https://youtu.be/JrFlvyQyo8c?feature=shared>

<sup>3</sup> <https://liqomics.com/de/contact/>