

## Instruções de utilização – Microarranjo MammaPrint FFPE

### **Introdução**

O teste MammaPrint é um perfil de expressão genética que tem como objetivo prever o resultado clínico de doentes com cancro da mama. Foi desenvolvido com base no princípio de que a história natural de um tumor é determinada pelas suas vias genéticas reguladoras subjacentes e, portanto, os perfis de expressão genética, para além da patologia clínica padrão, podem prever com maior precisão o prognóstico e a resposta ao tratamento.

Utilizando uma abordagem imparcial, a assinatura genética MammaPrint foi determinada com base na execução de uma análise pangenómica de 25 000 genes em amostras de tumores mamários primários não tratados, assim como na comparação dos perfis de atividade genética entre doentes que apresentaram e não apresentaram metástases distantes dentro de 5 anos. Tal resultou num perfil de 70 genes que conseguia distinguir os doentes em alto risco de desenvolverem metástases daqueles cujo risco de metástases distantes a longo prazo era suficientemente baixo para que a terapia sistémica proporcionasse pouco ou nenhum benefício clínico absoluto.  
(1,2)

*Risco de recidiva* – O teste MammaPrint analisa a expressão de 70 genes específicos numa amostra de tecido ao testar o RNA isolado das amostras de tumores mamários em lâminas de microarranjo de vidro personalizadas. O perfil de expressão é então utilizado num algoritmo patenteado para classificar categoricamente o doente como sendo de alto ou baixo risco de recidiva do cancro da mama.

### ***Utilização prevista***

---

MammaPrint® FFPE é um teste de diagnóstico in vitro qualitativo e não automatizado, o qual é realizado no Laboratório do Serviço de Diagnóstico da Agendia, que utiliza o perfil de expressão genética obtido a partir de amostras de tecido de cancro da mama fixadas em formol e incluídas em parafina (FFPE, Formalin-fixed paraffin embedded) para avaliar o risco de metástase distante de um doente dentro de 5 anos.

O teste é realizado para doentes com cancro da mama do sexo feminino com doença em Estádio I ou Estádio II, com gânglios linfáticos negativos ou gânglios linfáticos positivos com até 3 gânglios positivos, com tumor de tamanho  $\leq 5,0$  cm, e para doentes com doença em Estádio III. O resultado do MammaPrint® FFPE é indicado para ser utilizado pelos médicos apenas como marcador prognóstico, juntamente com outros fatores clínico-patológicos.

### ***Utilizador pretendido***

---

O microarranjo MammaPrint FFPE destina-se a ser solicitado pelos prestadores de cuidados de saúde dos doentes com cancro da mama. Ao encomendar o teste de microarranjo MammaPrint FFPE, o prestador de cuidados de saúde solicita à Agendia a execução do teste na sua amostra no Laboratório do Serviço de Diagnóstico da Agendia.

### ***Princípio do teste***

---

A análise baseia-se em vários processos não automatizados: isolamento de RNA das secções de tecido FFPE do cancro da mama; transcrição reversa do RNA resultando no cDNA; amplificação e rotulagem do cDNA; hibridização do cDNA amplificado e rotulado para o microarranjo de diagnóstico; lavagem e leitura do

microarranjo de diagnóstico e aquisição de dados (extração de características); cálculo e determinação do risco de recidiva (MammaPrint).

A análise MammaPrint foi concebida para determinar a atividade genética de genes específicos numa amostra de tecido. O resultado é um perfil de expressão, ou "impressão digital", da amostra. Através deste perfil de expressão, calcula-se o índice MammaPrint e determina-se o perfil de prognóstico molecular da amostra (baixo risco, alto risco).

### ***Avisos e precauções***

A identificação do doente no formulário de pedido tem de corresponder corretamente à identificação da amostra no sistema LIMS, que cria um identificador interno que deve corresponder corretamente à amostra no processo laboratorial.

Preencha o formulário de pedido do teste com a informação adequada.

A amostra selecionada para o teste MammaPrint deve corresponder às características da população à qual se destina, como (mas não apenas) cancro da mama feminino, estágio inicial e célula tumoral de, pelo menos, 30%.

Os resultados MammaPrint são indicados para serem utilizados pelos médicos como marcador prognóstico, para além dos fatores clínico-patológicos padrão. O teste não pretende determinar o desfecho da doença nem sugerir ou inferir a resposta de um doente individual à terapia.

Um resultado MammaPrint de baixo risco não garante que a recidiva distante não ocorrerá dentro de cinco anos. Do mesmo modo, um resultado de alto risco não garante que ocorrerá uma recidiva distante. Os resultados do teste devem ser utilizados em conjunto com fatores clínico-patológicos.

### ***Procedimento a) Seleção de doentes***

---

Os doentes são elegíveis se forem do sexo feminino e diagnosticados com cancro da mama em Estádio I, Estádio II ou Estádio III com gânglio linfático negativo e gânglio linfático positivo (até 3 gânglios positivos), com tumor de tamanho  $\leq 5,0$  cm, independentemente do estado do recetor de estrogénio (ER+/-).

### ***b) Recolha, registo e envio de amostras.***

As condições de recolha, manuseamento e preparação da amostra são fornecidas ao cliente através de IFU: M-R0W067. Este kit inclui o seguinte:

- 10 lâminas microscópicas
- 2 porta-lâminas para cinco lâminas
- Sacos de plástico pequeno e grande com fecho
- Instruções de recolha de amostras
- Formulário de pedido do teste
- Folha de etiquetas com código de barras
- Materiais de envio

O registo das amostras tem início com a notificação do prestador de cuidados de saúde que fez o pedido. Esta notificação (formulário de pedido do teste – TRF, Test Request Form) pode ser feita através do portal de cliente online ou de outro canal de comunicação onde a Agendia regista todas as informações relacionadas com as

amostras e os doentes. O TRF só deve referir-se a um único doente. A amostra é enviada diretamente para o Laboratório do Serviço de Diagnóstico da Agendia pelo prestador de cuidados de saúde que fez o pedido, à temperatura ambiente, utilizando os materiais de transporte fornecidos pelo correio.

### ***c) Análise de amostras na Agendia***

São utilizadas secções de tecido FFPE fornecidas pelo cliente em lâminas de vidro ou feitas a partir de blocos tumorais FFPE utilizando um micrótomo padrão. O RNA total é extraído das secções de tecido utilizando um kit de isolamento comum disponível comercialmente. A amostra de RNA é purificada, amplificada e rotulada com um corante fluorescente de cianina-CTP/dUTP.

A amostra de RNA/cDNA é hibridizada num microarranjo de diagnóstico especificamente concebido (pacote de 8 unidades, Agilent Technologies). É utilizado um scanner de microarranjo da Agilent para a leitura do microarranjo de diagnóstico, resultando num ficheiro de análise (TIFF). Este ficheiro é utilizado pelo software de extração de características da Agilent. O software de extração de características verifica o ficheiro de análise (TIFF) determinando as intensidades fluorescentes relativas das características individuais por oposição ao ficheiro de conceção do chip do microarranjo de diagnóstico como um modelo, de modo a identificar as características de controlo, as características de normalização e as características do gene repórter. As intensidades fluorescentes das características constituem uma medida para a expressão de genes particulares.

### ***d) Análise de dados***

A análise de dados é realizada de acordo com o algoritmo MammaPrint, que calcula o índice MammaPrint e determina o perfil de prognóstico molecular da amostra (baixo risco, alto risco). As amostras com um valor de índice MammaPrint superior a 0 são classificadas como sendo de baixo risco e as amostras com um valor inferior ou igual a 0 são classificadas como sendo de alto risco.

O índice MammaPrint de uma amostra pode situar-se numa área predefinida em torno do limiar de classificação entre um MPI de  $> -0,05$  e  $< 0,05$ , em que o resultado MammaPrint tem uma precisão de classificação  $< 90\%$ , mas não inferior a 50% (ou seja, amostra limítrofe).

São implementados Controlos de Qualidade extensivos ( $>25$ ) a fim de assegurar o resultado analítico correto. Os CQ, juntamente com o resultado, são revistos e aprovados internamente pelo Diretor do Laboratório.

### ***e) Relatórios***

O prestador de cuidados de saúde que fez o pedido recebe um Relatório do Doente, assim como um Resumo dos Resultados para cada teste de microarranjo MammaPrint FFPE pedido. No que diz respeito aos dados pessoais dos doentes, consulte os nossos termos de tratamento de dados na Política de Privacidade da Agendia.

### ***Limitações do procedimento***

---

O MammaPrint foi validado para ser utilizado apenas com tecido tumoral do cancro da mama feminino. Os testes de outros tipos de amostra podem resultar em resultados incorretos ou na ausência de resultados. Os resultados fiáveis dependem dos procedimentos adequados de recolha e transporte de amostras.

O MammaPrint foi especificamente validado para tumores que são carcinomas ductais ou carcinomas lobulares invasivos. Os testes de outros tipos de amostra (por exemplo, gânglios linfáticos) não foram avaliados.

## **Valores previstos**

---

O resultado MammaPrint é fornecido como um resultado binário e é classificado como sendo de "baixo risco" ou "alto risco" de recidiva. O perfil prognóstico de uma amostra é determinado pelo cálculo do índice MammaPrint (MPI) numa escala de -1000 a +1000.

Tal como acontece em qualquer outro teste, o nosso teste também possui um limiar de classificação estabelecido. No caso do MammaPrint, o limiar de baixo e alto risco foi fixado em zero para atingir a maior sensibilidade possível, sendo que os valores  $> 0,000$  são classificados como sendo de baixo risco e os valores  $\leq 0,000$  são classificados como sendo de alto risco. A precisão média global do MPI é de 98,5%, com pontuações  $< 0,1685$  ou  $> 0,168$  com uma precisão  $> 99\%$ .

### Valores "limítrofes" de MPI

Embora a precisão técnica do MammaPrint seja extremamente elevada, as amostras com um valor de MPI muito próximo do limiar zero têm uma percentagem de precisão ligeiramente inferior à das amostras mais afastadas do limiar. Especificamente, em torno do limiar zero, entre um MPI de  $> -0,05$  e  $< 0,05$ , também referido como região limítrofe, a precisão do teste diminui para menos de 90%. Por exemplo, num MPI de 0,04, há uma certeza de 86% de que o resultado MP está no intervalo positivo (baixo risco) e uma possibilidade de 14% de estar no intervalo negativo (alto risco). É importante salientar que as amostras com valores de MPI fora da região "limítrofe" têm uma precisão média  $> 99\%$ .

## **Características de desempenho**

---

As características de desempenho investigadas para o MammaPrint incluem: precisão, reprodutibilidade, limiar, sensibilidade, especificidade, Limite de Detecção e precisão.

### MammaPrint

#### *Desempenho analítico*

A precisão e repetibilidade do MammaPrint foram avaliadas por um estudo interlaboratorial independente nos dois laboratórios certificados CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) da Agendia nos Países Baixos e nos EUA. <sup>(3)</sup>

Com base no desempenho analítico do MammaPrint, a precisão de classificar uma amostra como sendo de alto ou baixo risco é de 97,3%, com uma repetibilidade da medição de 97,8%. <sup>(3)</sup> A reprodutibilidade foi medida em mais de 300 amostras de controlo e revelou-se ser de 99%. <sup>(4)</sup> As características de desempenho baseiam-se nos estudos e documentos listados abaixo.

#### *Validação clínica*

Os resultados baseiam-se em dados previamente publicados relativamente ao perfil de prognóstico molecular de 70 genes<sup>(1)</sup> em tumores mamários. Os doentes com bons resultados são classificados como sendo de baixo risco (ou seja, sem metástases distantes dentro de, pelo menos, 5 anos). Os doentes com resultados desfavoráveis são classificados como sendo de alto risco (ou seja, maior probabilidade de metástases distantes dentro de 5 anos). O valor numérico do índice MammaPrint é fornecido.

O MammaPrint foi desenvolvido com recurso a doentes maioritariamente europeus com gânglios linfáticos negativos não tratados adjuvantes para captar a biologia do tumor primário num perfil de expressão genética. <sup>(1,2)</sup>

Em janeiro de 2013, foram publicados os resultados de 5 anos do estudo prospetivo observacional RASTER<sup>(4)</sup>. Este estudo de impacto constituiu um ensaio centrado em biomarcadores inédito, no qual foi realizado o ensaio MammaPrint Fresh, tendo reportado 427 doentes com cancro da mama em estágio inicial, com idades compreendidas entre 18 e 61 anos, pT1 e pT2, gânglio linfático negativo, ER+/-, HER2 +/- antes da decisão entre médico e doente para a terapia adjuvante. Os doentes foram tratados de acordo com as diretrizes de prática padrão, tendo em conta todos os fatores clínico-patológicos relevantes, assim como os resultados da assinatura MammaPrint.

Posteriormente, o MammaPrint foi também realizado no tecido FFPE dos doentes RASTER. Os resultados do MammaPrint foram comparados com recurso a 345 amostras RASTER frescas e FFPE emparelhadas com dados de resultados aos 5 anos. Sem considerar quaisquer covariáveis para além do resultado de teste MammaPrint do doente, os doentes classificados como sendo de "baixo risco" pelo MammaPrint FFPE (71 tratados de forma adjuvante e 108 não tratados de forma adjuvante) demonstraram uma probabilidade de 1,3% (IC de 95% 0 – 3,1) de recidiva do cancro dentro de 5 anos<sup>(5)</sup>.

Os doentes classificados como sendo de "alto risco" pelo MammaPrint FFPE (145 tratados de forma adjuvante e 21 não tratados de forma adjuvante) demonstraram uma probabilidade de 11,7% (IC de 95% 6,6 – 16,8) de recidiva do cancro dentro de 5 anos<sup>(5)</sup>.

O MammaPrint foi validado independentemente em estudos em mais de 75 000 doentes com cancro da mama, com resultados publicados em importantes revistas médicas e científicas revistas pelos pares a nível internacional, e revelaram prestar informação independente da avaliação de risco clínico-patológico<sup>(56)</sup>.

### ***Pedido do teste***

---

Será fornecido um kit de recolha de amostras pela pessoa de contacto da Agendia. Utilizando o kit, adicione a amostra do tumor às lâminas de acordo com as instruções ou prepare um bloco FFPE. Faça o seu pedido através do nosso portal online ou preencha o formulário de pedido do teste que encontra no kit de recolha de amostra. Encontra todos os detalhes nas IFU deste kit.

Se necessitar de apoio ou informação adicional, entre em contacto connosco através de [Customerservice@agendia.com](mailto:Customerservice@agendia.com) ou +31 (0)20 462 1510.

### ***Referências***

---

1. van 't Veer et al. Nature 2002; 415(31): 530-536
2. van de Vijver et al. New Engl J Med 2002; 347(25): 1999-2009
3. Sapino et al. J Mol Diagnostics 2014; 16: 190-197
4. Beumer et al. Breast Cancer Res Treat 2016; DOI 10.1007/s10549-016-3764-5
5. Drukker et al. Int J Cancer 2013; 133(4): 929-936
6. Piccart et al. Lancet Oncol. 2021;22(4):476-488

**Nota de aviso:**

Comunique qualquer incidente grave relacionado com o MammaPrint FFPE ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro. O fabricante comunicará o incidente grave à autoridade competente do Estado-Membro em que o utilizador/doente está estabelecido.

**Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA)**

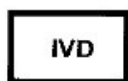
Certificados de acreditação: Agendia, Inc.:  
05D1089250

**Detalhes de fabrico**

Agendia NV  
Radarweg 60  
1043 NT Amesterdão, Países Baixos  
Telefone: +31 (0)20 462 1510  
E-mail: [customerservice@agendia.com](mailto:customerservice@agendia.com)

Endereço do Laboratório do Serviço de Diagnóstico  
(Diagnostic Service Laboratory) da Agendia  
Agendia, Inc.:  
22 Morgan,  
Irvine, CA 92618, EUA  
Telefone: +1 888 321 2732 Fax: +1 866 756 7548  
[www.agendia.com](http://www.agendia.com)

**UDI-DI básico: 0850024841MammaprintK9**



© 2021 Agendia, NV. Todos os direitos reservados. Agendia, o logótipo da Agendia e MammaPrint são marcas registadas da Agendia, NV.

M-ROW-387-V1

Data de publicação: 03Nov2022

**Modificações à versão anterior**

Publicação inicial – xx-xxx-2021