

Instrucciones de uso – Microarray MammaPrint FFPE

Introducción

El test MammaPrint es un perfil de expresión génica para predecir el resultado clínico de las pacientes con cáncer de mama. Se desarrolló partiendo de la base de que la historia natural de un tumor viene determinada por sus vías génicas reguladoras subyacentes. Por lo tanto, los perfiles de expresión génica permiten, junto con la patología clínica estándar, predecir con mayor precisión el pronóstico y la respuesta al tratamiento.

Utilizando un enfoque libre de sesgos, la caracterización génica de MammaPrint se determinó realizando un análisis de 25.000 genes de todo el genoma en muestras de tumores de mama primarios no tratados y comparando los perfiles de actividad génica de las pacientes que no desarrollaron metástasis a distancia en un periodo de cinco años con los perfiles de aquellas que sí la desarrollaron. De este modo, se obtuvo un perfil de 70 genes que permitía distinguir a las pacientes con alto riesgo de desarrollar metástasis de aquellas en las que el riesgo de metástasis a distancia a largo plazo era lo suficientemente bajo como para el tratamiento sistémico aportara un beneficio clínico absoluto escaso o nulo. ^(1,2)

Riesgo de recurrencia: El test MammaPrint analiza la expresión de 70 genes específicos en una muestra de tejido utilizando ARN aislado de muestras de tumores de mama en portaobjetos de microarrays de vidrio personalizados. A continuación el perfil de expresión se utiliza en un algoritmo patentado para clasificar categóricamente a las pacientes como de alto o bajo riesgo de recurrencia del cáncer de mama.

Uso previsto

MammaPrint® FFPE es un test de diagnóstico in vitro, cualitativo y no automatizado, que se lleva a cabo en el Laboratorio de Servicios Diagnósticos de Agendia utilizando el perfil de expresión génica obtenido a partir de muestras de tejido de cáncer de mama fijadas con formol y embebidas en parafina (FFPE) para evaluar el riesgo de una paciente de desarrollar metástasis a distancia en un periodo de cinco años.

El test se realiza en pacientes mujeres con cáncer de mama en estadio I o estadio II, con ganglios linfáticos negativos o positivos y con hasta tres ganglios positivos, con un tamaño tumoral menor o igual a 5,0 cm. También se realiza en pacientes mujeres con cáncer de mama en estadio III. El resultado de MammaPrint® FFPE está indicado para el uso médico únicamente como marcador de pronóstico en combinación con otros factores clínico-patológicos.

Usuario previsto

El microarray MammaPrint FFPE está destinado a ser solicitado por un profesional sanitario tratantes de pacientes con cáncer de mama. Al solicitar el test de microarray MammaPrint FFPE, el profesional sanitario solicita a Agendia que realice el test en su muestra en el Laboratorio de Servicios Diagnósticos de Agendia.

Principios del test

El análisis se basa en varios procesos no automatizados: aislamiento de ARN de secciones de tejido FFPE de cáncer de mama; transcripción inversa del ARN para obtener ADNc; amplificación y etiquetado del ADNc; hibridación del

ADNc amplificado y etiquetado en el microarray de diagnóstico; lavado y escaneado del microarray de diagnóstico y obtención de datos (extracción de características); cálculo y determinación del riesgo de recurrencia (MammaPrint).

El análisis MammaPrint está diseñado para determinar la actividad génica de genes específicos en una muestra de tejido. El resultado es un perfil de expresión, o «huella», de la muestra. Utilizando este perfil de expresión se calcula el Índice MammaPrint y se determina el perfil de pronóstico molecular de la muestra (riesgo bajo, riesgo alto).

Advertencias y precauciones

La identificación de la paciente en el formulario de solicitud debe coincidir correctamente con la identificación del espécimen en el sistema LIMS, que crea un identificador interno que ha de coincidir correctamente con el espécimen en el proceso de laboratorio.

Rellene el formulario de solicitud del test con la información apropiada.

El espécimen seleccionado para el test MammaPrint debe coincidir con las características de la población correspondiente al uso previsto, que incluyen, entre otras, cáncer de mama femenino, en estadio precoz -y contenido de células tumorales de al menos el 30 %.

Los resultados de MammaPrint están indicados para el uso médico como marcador de pronóstico en combinación con factores clínicopatológicos estándar. El test no está concebido para determinar el resultado de la enfermedad, ni para sugerir o inferir la respuesta de una paciente individual a la terapia.

Un resultado de MammaPrint de riesgo bajo no garantiza que no vaya a producirse una recurrencia distante en un periodo de cinco años. De modo análogo, un resultado de MammaPrint de riesgo alto no garantiza que vaya a producirse una recurrencia distante. Los resultados del test deben utilizarse en combinación con factores clínico-patológicos.

Procedimiento a) Selección de pacientes

Las pacientes son aptas para el test si son mujeres diagnosticadas con cáncer de mama en estadio I, estadio II o estadio III con ganglios linfáticos negativos o positivos (hasta tres ganglios linfáticos positivos), con un tamaño tumoral $\leq 5,0$ cm, independientemente del estado de los receptores de estrógeno (ER+/-).

b) Recogida de muestras, registro y envío

Las condiciones para la recogida, la manipulación y la preparación de la muestra se facilitan al cliente a través de las instrucciones de uso: M-ROW-067. Este kit incluye lo siguiente:

- 10 portaobjetos para microscopía
- 2 soportes para cinco portaobjetos
- Bolsa de plástico con cierre hermético, pequeña y grande
- Instrucciones para la toma de muestras
- Formulario de solicitud del test
- Hoja de etiquetas con códigos de barras
- Materiales de envío

El registro de muestras se inicia mediante la notificación del proveedor de servicios sanitarios solicitante. Esta notificación (Formulario de solicitud del test o FST) puede efectuarse en el portal online de clientes o en otro canal de comunicación donde Agendia registre todas las muestras y la información de las pacientes. El FST debe utilizarse de modo individual para cada paciente. El proveedor de servicios sanitarios solicitante enviará la muestra directamente al Laboratorio de Servicios Diagnósticos de Agendia a temperatura ambiente y utilizando los materiales de transporte suministrados.

c) Análisis de muestras en Agendia

Se utilizan los portaobjetos de vidrio con secciones de tejido FFPE suministrados por el cliente o se elaboran portaobjetos a partir del bloque tumoral FFPE suministrado por el cliente empleando para ello un microtomo estándar. El ARN total se extrae de las secciones de tejido utilizando un kit de aislamiento estándar disponible comercialmente. La muestra de ARN se purifica, se amplifica y se etiqueta con un tinte fluorescente de cianina-CTP/dUTP.

La muestra de ARN/ADNc se hibrida en un microarray de diagnóstico de diseño específico (8-pack, Agilent Technologies). Se utiliza un escáner de microarray de Agilent para escanear el microarray de diagnóstico, y el resultado es un archivo de escáner (TIFF). Este archivo se utiliza en el 'Agilent Features Extraction Software'. El 'Agilent Features Extraction Software' analiza el archivo de escáner (TIFF) determinando las intensidades fluorescentes relativas de las características individuales frente al archivo de diseño del chip de microarray de diagnóstico (como plantilla) para identificar características de control, características de normalización y características del gene informador. Las intensidades fluorescentes de los atributos son una medida de la expresión de determinados genes.

d) Análisis de datos

El análisis de datos se lleva a cabo según el algoritmo MammaPrint, que calcula el Índice MammaPrint y determina el perfil de pronóstico molecular de la muestra (riesgo bajo, riesgo alto). Las muestras con un valor del Índice MammaPrint mayor que 0 se clasifican como de riesgo bajo, y las muestras con un valor menor o igual que 0 se clasifican como de riesgo alto.

El Índice MammaPrint (MPI) de una muestra puede encontrarse en un área predefinida en torno al umbral de clasificación, entre un MPI $>-0,05$ y $<0,05$, donde el resultado de MammaPrint tiene una exactitud de clasificación $<90\%$, pero no inferior al 50% (esto es, muestra limítrofe).

Se aplican controles de calidad exhaustivos (>25) para garantizar un resultado analítico correcto. Los controles de calidad y el resultado son revisados y aprobados internamente por el Director del Laboratorio.

e) Elaboración de informes

El proveedor de asistencia sanitaria solicitante recibe un Informe de la paciente, así como un Resumen de resultados, para cada test de microarray MammaPrint FFPE solicitado. En cuanto al tratamiento de los datos personales de las pacientes, consulte nuestras condiciones de tratamiento de datos en la Política de privacidad de Agendia.

Limitaciones del procedimiento

MammaPrint ha sido validado únicamente para el uso con tejido tumoral de cáncer de mama en mujeres. El análisis de otros tipos de especímenes puede producir resultados incorrectos o ningún resultado. La fiabilidad de

los resultados depende de la aplicación de procedimientos adecuados para la recogida y transporte del espécimen.

MammaPrint ha sido validado específicamente para tumores de carcinoma invasivo ductal o lobular. El análisis de otros tipos de especímenes (p. ej. ganglios linfáticos) no ha sido evaluado.

Valores esperados

El resultado de MammaPrint se ofrece en forma de resultado binario y se categoriza como de «riesgo bajo» o «riesgo alto» de recurrencia. El perfil de pronóstico de una muestra se determina calculando el Índice MammaPrint (MPI) en una escala de -1,000 a +1,000.

Como en cualquier otra prueba, nuestro test también tiene un umbral de clasificación establecido. Para MammaPrint, el umbral para riesgo bajo y alto se ha establecido en cero a fin de alcanzar la mayor sensibilidad posible; los valores $>0,000$ se clasifican como de riesgo bajo, y los valores $\leq 0,000$ como de riesgo alto. La exactitud media general del MPI es del 98,5 %, donde los valores $<0,1685$ o $>0,168$ tienen una exactitud del 99 %.

Valores limítrofe (or borderline in English) de MPI

Aunque la exactitud técnica de MammaPrint es extremadamente alta, las muestras con un valor de MPI muy próximo al umbral del valor cero tienen un porcentaje de exactitud ligeramente menor que las muestras más alejadas del umbral. En concreto, en torno al umbral cero, entre un MPI $>-0,05$ y $<0,05$, también denominado «región límite limítrofe», la exactitud del test baja por debajo del 90 %. Por ejemplo, con un MPI de 0,04, hay una certeza del 86 % de que el resultado de MP se encuentre en el rango positivo (riesgo bajo), y un 14 % de posibilidades de que se encuentre en el rango negativo (riesgo alto). Es importante señalar que las muestras con valores de MPI fuera de la región limítrofe o borderline tienen una exactitud media >99 %.

Características de rendimiento

Las características de rendimiento investigadas para MammaPrint incluyen: precisión, reproducibilidad, umbral, sensibilidad, especificidad, límite de detección y exactitud.

MammaPrint

Rendimiento analítico

La precisión y la repetibilidad de MammaPrint fueron evaluadas por un estudio independiente interlaboratorio en dos laboratorios de Agendia provistos de la certificación CLIA (Enmiendas de Mejora de Laboratorios Clínicos) en los Países Bajos y los Estados Unidos. ⁽³⁾

Basándose en el rendimiento analítico de MammaPrint, la precisión de la clasificación de una muestra como de riesgo alto o riesgo bajo es del 97,3 %, con una repetibilidad de la medición del 97,8 %. ⁽³⁾ La reproducibilidad se midió en más de 300 muestras de control y demostró ser del 99 %. ⁽⁴⁾ Las características de rendimiento se basan en los estudios y artículos enumerados a continuación.

Validación clínica

Los resultados se basan en datos publicados anteriormente para el perfil de pronóstico molecular de 70 genes⁽¹⁾ en tumores mamarios. Las pacientes con buenos resultados se clasifican como de riesgo bajo (es decir, sin metástasis a distancia en un periodo de al menos cinco años). Las pacientes con peores resultados se clasifican

como de riesgo alto (es decir, mayor probabilidad de metástasis a distancia en un periodo de cinco años). Se proporciona el valor numérico del Índice MammaPrint.

MammaPrint se desarrolló principalmente con pacientes europeas sin tratamiento adyuvante, con ganglios linfáticos negativos, a fin de capturar la biología del tumor primario en un perfil de expresión génica.^(1,2) En enero de 2013 se publicaron los resultados a cinco años del estudio prospectivo y observacional RASTER⁽⁴⁾. Este estudio de impacto fue un ensayo pionero centrado en biomarcadores en el que se llevó a cabo y se informó de la prueba MammaPrint Fresh con 427 pacientes con cáncer de mama en estadio temprano de edades comprendidas entre 18 y 61 años, pT1 y pT2, con ganglios linfáticos negativos, ER+/-, HER 2 +/- antes de la decisión médico-paciente de aplicar terapia adyuvante. Las pacientes recibieron un tratamiento conforme con las directrices de práctica estándar, teniendo en cuenta todos los factores clínico-patológicos relevantes y los resultados de la caracterización de MammaPrint.

Posteriormente, MammaPrint también se realizó en tejido FFPE de los -pacientes del estudio RASTER. Los resultados de MammaPrint se compararon utilizando 345 muestras frescas emparejadas y FFPE RASTER con datos de resultados a cinco años. Sin tener en cuenta otras covariables distintas a las del resultado del test MammaPrint de la paciente, las pacientes clasificadas como de «riesgo bajo» por MammaPrint FFPE (71 con tratamiento adyuvante y 108 sin tratamiento adyuvante), mostraron una probabilidad del 1,3 % (95 % CI 0 – 3,1) de recurrencia del cáncer en un periodo de cinco años⁽⁵⁾.

Las pacientes clasificadas como de «riesgo alto» por MammaPrint FFPE (145 con tratamiento adyuvante y 21 sin tratamiento adyuvante), mostraron una probabilidad del 11,7 % (95 % CI 6,6 – 16,8) de recurrencia del cáncer en un periodo de cinco años⁽⁵⁾.

MammaPrint ha sido validado de modo independiente en estudios con más de 75.000 pacientes con cáncer de mama, con resultados publicados en revistas médicas y científicas de prestigio internacional con revisión por pares, y ha demostrado proporcionar información independiente de la evaluación de riesgo clínico-patológico⁽⁵⁶⁾.

Solicitud del test

Su persona de contacto en Agendia le proporcionará un kit de recogida de muestras. Utilizando el kit, coloque la muestra tumoral en los portaobjetos siguiendo las instrucciones, o prepare un bloque FFPE. Realice su solicitud a través de nuestro portal online o rellenando el formulario de solicitud del test que encontrará en el kit de recogida de muestras. Encontrará más detalles en las instrucciones de uso de este kit.

Si necesita asistencia o información adicional, póngase en contacto con nosotros en Customerservice@agendia.com o en el teléfono +31 (0)20 462 1510.

Referencias

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

Advertencia:

Notifique cualquier incidente grave relativo a MammaPrint FFPE al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro. El fabricante notificará dicho incidente grave a la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el usuario/la paciente.

Enmiendas de Mejora de Laboratorios Clínicos (CLIA)

Certificados de acreditación: Agendia, Inc.:
05D1089250

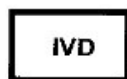
Datos de fabricación



Agendia NV
Radarweg 60
1043 NT Ámsterdam, Países Bajos
Teléfono: +31 (0)20 462 1510
Correo electrónico:
customerservice@agendia.com

Dirección del Laboratorio de Servicios
Diagnósticos de Agendia Agendia, Inc.:
22 Morgan,
Irvine, CA 92618, EE. UU.
Teléfono: +1 888 321 2732
Fax: +1 866 756 7548
www.agendia.com

UDI-DI básico: 0850024841MammaprintK9



© 2021 Agendia, NV. Todos los derechos reservados. Agendia, el logo de Agendia y MammaPrint son marcas registradas de Agendia, NV.

M-ROW-387-V1

Fecha de emisión: 03Nov2022

Modificaciones a la versión anterior

Publicación inicial – xx-xxx-2021