

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 distante 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 riesgo alto de desarrollar metástasis de aquellas en las que el riesgo de metástasis distante a largo plazo era lo bastante bajo como para que la terapia sistémica ofreciera poco o ningún beneficio clínico absoluto. ^(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 tumor mamario en portaobjetos de microarrays de vidrio personalizados. El perfil de expresión se emplea entonces en un algoritmo patentado para realizar una clasificación categórica de las pacientes en pacientes con riesgo alto o bajo 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 embebidas en parafina y fijadas con formol (FFPE) para evaluar el riesgo de una paciente de desarrollar metástasis distante en un periodo de cinco años.

MammaPrint ofrece información de pronóstico sobre el riesgo de una paciente de desarrollar metástasis a distancia y de predicción del alcance del beneficio de la terapia sistémica para guiar la toma de decisiones de tratamiento en pacientes con cáncer de mama.

Los genes analizados con MammaPrint miden las características del desarrollo en múltiples pasos de las células del cáncer de mama para su supervivencia, proliferación, diseminación y metástasis, según lo descubierto dentro de las características distintivas del cáncer⁽³⁾.

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 inferior 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 y debe interpretarse en combinación con otros factores clinicopatológicos.

Usuario previsto

El microarray MammaPrint FFPE está concebido para ser solicitado por proveedores de asistencia sanitaria tratantes de pacientes con cáncer de mama. Al solicitar el test de microarray MammaPrint FFPE, el proveedor de asistencia sanitaria solicita a Agendia aplicar el test a 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 atributos); 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 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 temprano y contenido de células tumorales de al menos el 30 %.

Los resultados de MammaPrint están indicados para el uso médico como perfil molecular en combinación con factores clínicopatológicos estándar. El test no está concebido para determinar el resultado de la enfermedad.

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 clínicopatológicos.

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 negativo para ganglios linfáticos o positivo para ganglios linfáticos (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: MKT-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 el muestreo de especímenes
- 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 asistencia sanitaria 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 asistencia sanitaria 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 software de extracción de atributos de Agilent. El software de extracción de atributos analiza el archivo de escáner (TIFF) determinando las intensidades fluorescentes relativas de los atributos individuales frente al archivo de diseño del chip de microarray de diagnóstico (como plantilla) para identificar atributos de control, atributos de normalización y atributos de genes reporteros. 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 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 límite).

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 molecular de una muestra se determina calculando el 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 límite 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», la exactitud del test baja 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 límite tienen una exactitud media >99 %.

Características de rendimiento

Las características de rendimiento investigadas para MammaPrint incluyen: precisión y reproducibilidad, rango de registro y umbral de clasificación, especificidad analítica y límite de detección.

Rendimiento analítico

La concordancia de los resultados de los tejidos Fresh y FFPE se evaluó en dos estudios en los que se observó que era del 91,5 % (n = 221) y del 94,3 % (n = 345), sin sesgo en los resultados de MammaPrint entre ambos tipos de tejido. MammaPrint también es estable entre diferentes aislamientos en los que no se detectaron diferencias significativas ($p = 0,994/p = 0,290$), diferentes ubicaciones y diferentes escáneres, y muestra una elevada precisión (97,3 %), reproducibilidad (96 %) y repetibilidad (97,8 %)⁽⁴⁾.

Asimismo, en cuanto al array del FG (array del genoma completo), no se encontraron diferencias entre los resultados de los aislamientos repetidos de ARN, la precisión (98,47 %), la reproducibilidad (97,73 %) y la

repetibilidad (98,74 %), y la concordancia entre los resultados del 8pack y el array del FG de dos conjuntos de datos independientes resultó ser del 98,52 % (n = 135) y del 94,27 % (n = 698).

El rango de registro del MPI está establecido para cubrir valores de -1,00 a +1,00 y el umbral de clasificación del MPI está establecido en +0,0. Un MPI inferior o igual a 0,0 se considera de riesgo alto, mientras que un MPI superior a 0,0 se considera de riesgo bajo^(1, 2, 4).

Se realizó un estudio de interferencia en el array del FG para evaluar la interferencia o no de cuatro sustancias relevantes en los resultados de MammaPrint FFPE. Los resultados mostraron que la contaminación del ADN hasta 2,5 veces los niveles de fondo y los picos de proteínas durante el aislamiento del ARN, así como el remanente de etanol y de perlas AMPure XP durante la purificación del ADNc, no afectaron a los resultados de MammaPrint. En general, los componentes de tejido interferentes no influyen en el Índice MammaPrint, ya que la serie tumoral original ha sido representativa de los especímenes de cáncer de mama y, también en este caso, los otros componentes de tejido se distribuyeron aleatoriamente y no estaban relacionados con el resultado de enfermedad⁽¹⁾.

Para evaluar el límite de detección (LDD), se compararon los resultados de MammaPrint FFPE con las distintas diluciones y se observó que los resultados eran muy estables incluso con cantidades muy bajas de ADNc en el array. Según los resultados, el límite de detección para la cantidad de ADNc es de 900 ng. Además, se observó que el LDD para la cantidad de ARN procedente de un estudio independiente era de 8,24 ng.

Validación clínica

Los resultados se basan en datos publicados anteriormente para el perfil molecular de 70 genes⁽¹⁾ en tumores mamarios. Las pacientes con buenos resultados se clasifican como de riesgo bajo (es decir, sin metástasis distante 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 distante 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 clinicopatológicos relevantes y los resultados de la caracterización de MammaPrint.

A continuación, MammaPrint se llevó a cabo también en tejido FFPE de 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⁽⁶⁾.

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⁽⁶⁾.

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 clinicopatológica^(6, 7).

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 especímenes. 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 +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. Haan *et al.* Genes Chromosomes Cancer 2021; (61):148-160
4. Sapino *et al.* J Mol Diagnostics 2014; 16: 190-197
5. Drukker *et al.* Int J Cancer 2013; 133(4): 929-936
6. Beumer *et al.* Breast Cancer Res Treat 2016; DOI 10.1007/s10549-016-3764-5
7. 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 logotipo de Agendia y MammaPrint son marcas registradas de Agendia, NV.

MKT-517-V2

Fecha de emisión: Febrero de 2025

Modificaciones a la versión anterior

Versión 2 - Ampliación del uso previsto, actualización del rendimiento analítico, la sección de referencias y las advertencias y precauciones

Publicación inicial – 3 de noviembre de 2022