

INSTRUCCIONES PARA PREPARACIÓN DE MUESTRAS



Si el material enviado no satisface los requisitos básicos que se enumeran a continuación, la prueba puede tener como resultado la emisión de un informe condicional* o la solicitud de material tumoral adicional. **Esto puede prolongar el análisis o dar lugar a una muestra insuficiente para realización del servicio de FoundationOne® CDx.**

*En caso de emitirse un informe condicional, se enumerarán las alteraciones detectadas. Sin embargo, debido a la calidad de la muestra, podría haber otras alteraciones genómicas que no hayan sido detectadas.

Uso previsto

FoundationOne® CDx (F1 CDx) es un estudio de perfilado genómico integral basado en secuenciación de nueva generación, realizado a partir del ADN obtenido de una muestra tumoral fijada en formol y embebida en parafina. Mediante F1 CDx es posible identificar los cuatro tipos de alteraciones genómicas (sustituciones, inserciones/ deleciones (indels), alteraciones en el número de copias y reordenamientos cromosómicos) en **324 genes relacionados al cáncer y clínicamente relevantes**. Asimismo, informa biomarcadores de respuesta a inmunoterapia como la inestabilidad microsatelital (MSI) y la carga mutacional tumoral (TMB). En algunos tipos tumorales específicos también reporta la pérdida de heterocigocidad genómica (gLOH).

Este estudio ha sido diseñado para brindar información molecular al profesional de la salud que le permite identificar pacientes que podrían beneficiarse (o ser resistentes) a diferentes tipos de tratamientos, de acuerdo al perfil tumoral.

Cómo seleccionar la mejor muestra entre varias opciones

¿Ha recibido el paciente tratamientos dirigidos?



- Utilice la muestra disponible más reciente.
- Elija la muestra con el foco tumoral más alto o más extenso.
- Se consideran aceptables las muestras del tumor primario o de metástasis.



- Es **fundamental** utilizar una muestra posterior al tratamiento dirigido.
- En el caso de no contar con una biopsia sólida reciente o que la ésta sea insuficiente, se podrá optar por realizar biopsia líquida (Foundation One® Liquid CDx).

Requisitos para una muestra óptima

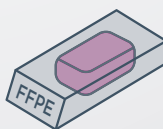
Muestras Aceptables

- Los tipos de muestras aceptables comprenden resecciones de tejido, biopsias diagnósticas de pequeño tamaño y biopsias con aguja gruesa.
- El tejido debe fijarse con métodos convencionales para preservar la integridad de los ácidos nucleicos. El método habitual consiste en la fijación con **formol tamponado neutro al 10 %** durante 6-72 horas. **No utilice otros fijadores** (Bouin, B5, AZF, Holland). **Observación importante:** Los tejidos en fresco no se consideran aceptables.
- **Se recomienda especialmente evitar la descalcificación**, en el caso de no ser posible utilizar ácidos débiles ya que los ácidos fuertes como el nítrico, clorhídrico, sulfúrico o pícrico producirán la degradación del ADN requerido para poder realizar el estudio.
- Para la realización del estudio es posible enviar tacos de parafina o cortes (slides) de 4-5 micras de espesor. **Es mandatorio utilizar vidrios con carga positiva para evitar efectuar procedimientos de secado.**

TAMAÑO DE LA MUESTRA

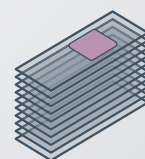
Utilice portaobjetos convencionales (aprox. 26 mm x 76 mm) y **cassettes de tejido también convencionales** (aprox. 30 mm x 25 mm x 4 mm).

Si desea consultar acerca de bloques o preparaciones que no se ajusten a estas medidas, póngase en contacto con el representante de Foundation Medicine – Roche.



Bloque FFPE

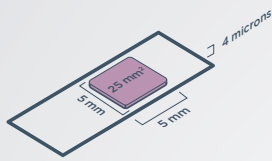
o



Al menos 11 preparaciones sin teñir

(con carga positiva y **sin secar** de 4-5 micras de espesor).

SUPERFICIE Y VOLUMEN



Volumen óptimo: 1 mm³

- Superficie del tejido x grosor del corte x número de preparaciones.

Ejemplo:

5 mm x 5 mm (= 25 mm²)

x 4 micras (= 0,1 mm³)

x 10 preparaciones (= 1 mm³)

Volumen mínimo aceptable: 0,6 mm³

- En el caso de muestras con una superficie más pequeña (<25 mm²) o muestras impuras, pueden ser necesarias preparaciones sin teñir adicionales para extraer suficiente ADN para el análisis.

Ejemplo:

3 mm x 5 mm (= 15 mm²)

x 4 micras (= 0,06 mm³)

x 10 preparaciones (= 0,6 mm³)

Muestras con un volumen de tejido de 0,2 mm³ a 0,6 mm³

- Este volumen de tejido se acepta como condicional. El laboratorio de Foundation Medicine revisará primero la muestra. Si se considera aceptable, nos pondremos en contacto con el médico tratante para que brinde su aprobación antes de proceder con la muestra disponible.

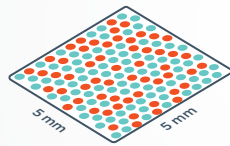
PORCENTAJE DE NÚCLEOS TUMORALES

Porcentaje de núcleos tumorales (%TN) = número de células tumorales dividido por el número total de todas las células con núcleos.

Nota: El área de tejido ocupada por el tumor no equivale al porcentaje de núcleos tumorales.

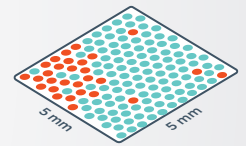
Óptimo (≥35 %)

- Las células tumorales nucleadas se encuentran dispersas por todo el campo en una proporción superior a 35:100 (patrón difuso).



Subóptimo (<20 %)

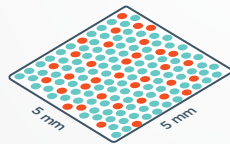
- Células poco abundantes con una proporción total inferior a 20:100, pero todas las células tumorales aparecen agrupadas.



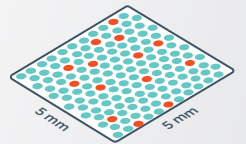
Muestra **potencialmente aceptable** tras enriquecer el área que contiene células tumorales.

Aceptable (20-35 %)

- Las células tumorales nucleadas se encuentran dispersas por todo el campo en una proporción superior a 1:5.



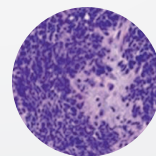
- Las células tumorales nucleadas se encuentran dispersas por todo el campo en una proporción inferior a 1:5 (patrón difuso).



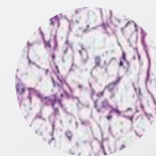
No es susceptible de enriquecimiento. La muestra podrá procesarse con la aprobación del médico solicitante si se considera aceptable tras su revisión en Foundation Medicine.

● Células tumorales nucleadas ● Células normales

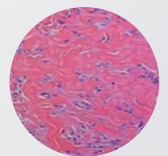
Muestras de hígado: el contenido tumoral mínimo debe ser ≥40 %. Dado que la poliploidía es una característica común de los hepatocitos, se necesitarían el doble de células tumorales para obtener suficiente ADN tumoral para el análisis; puede ser necesario un mayor contenido tumoral porque los núcleos de los hepatocitos tienen el doble de contenido de ADN con respecto a los núcleos de otras células somáticas.



Hiper celular



Paucicelular con mucina



Paucicelular

Hay que tener en cuenta que la densidad de células nucleadas del tejido modifica el volumen de tejido necesario. Las áreas de necrosis y fibrosis, la mucina extracelular y otros materiales que no contienen ADN pueden reducir la densidad del tejido.

! Si el material enviado no satisface los requisitos básicos mencionados, la prueba puede tener como resultado la emisión de un informe condicional* o la solicitud de material tumoral adicional. **Esto puede prolongar el proceso de análisis o impedir la realización de éste.**

*En caso de emitirse un informe condicional, se enumerarán las alteraciones detectadas. Sin embargo, debido a la calidad de la muestra, podría haber otras alteraciones genómicas que no hayan sido detectadas.

BIOPSIAS ÓSEAS Y POR PUNCIÓN

Instrucciones para obtención y manejo

Se recomienda que todos los involucrados en el proceso de obtención y manejo del material de biopsia estén en pleno conocimiento de la totalidad de la información antes de su obtención.

! Biopsias óseas











IMPORTANTE: NO DESCALCIFICAR EL TEJIDO QUE SERÁ ENVIADO A ANALIZAR, éste debe fijarse y embeberse en parafina como si la biopsia no fuera de sitio óseo ya que Foundation Medicine USA tiene la capacidad de realizar el análisis de este tipo de material sin descalcificar.

Para el caso de biopsias de hueso, es muy importante **enviar el taco de biopsia entero**. En el caso que se requiera el estudio anatomopatológico de la muestra de hueso, se recomienda preparar un taco para dicho procesamiento y uno adicional sin descalcificar para el estudio de perfilado genómico integral (con los requerimientos mínimos de volumen de tejido necesarios previamente indicados).

! Biopsias por punción

Las consideraciones adicionales a tener en cuenta en caso de realizarse una biopsia por punción (independientemente del tejido en la cual se realice dicha biopsia) son:

- **Longitud mínima de tejido: 2,5 cm totales**, puede ser en una o más punciones teniendo en cuenta que el diámetro del tejido obtenido sea de, al menos, 1 milímetro (mínima cantidad requerida). Cuanto mayor calibre tenga la aguja mayor volumen de material será posible obtener y mejores chances de tener un resultado completo.
- **Colocar la mayor cantidad de material de punción en el taco de biopsia que se enviará a analizar**, de esta manera se incrementan las chances de extraer mayor cantidad de ADN del taco a analizar.
- **La presencia de células tumorales viables y en cantidades apropiadas es fundamental** para reducir al máximo los posibles resultados indeseados, por lo que sería importante la presencia de un patólogo durante el procedimiento para verificar:
 1. La presencia de células tumorales.
 2. La viabilidad de dichas células (ausencia de necrosis, desmoplasia y/o fibrosis).
 3. El porcentaje de células tumorales presentes en el tumor. Cantidad ideal: mayor a 35 %. Si el tejido fuera hígado, cantidad ideal: mayor a 40 %.

	Calibre 14 Diámetro externo: 0,072 in (1,83 mm)
	Calibre 15 Diámetro externo: 0,065 in (1,65 mm)
	Calibre 16 Diámetro externo: 0,064 in (1,63 mm)
	Calibre 18 Diámetro externo: 0,050 in (1,27 mm)
	Calibre 20 Diámetro externo: 0,036 in (0,91 mm)
	Calibre 21 Diámetro externo: 0,033 in (0,83 mm)
	Calibre 22 Diámetro externo: 0,027 in (0,70 mm)
	Calibre 23 Diámetro externo: 0,025 in (0,63 mm)
	Calibre 25 Diámetro externo: 0,020 in (0,53 mm)
	Calibre 27 Diámetro externo: 0,016 in (0,42 mm)

- **En el caso que se realice una biopsia quirúrgica (no punción), sugerimos utilizar el apartado de instrucciones para la preparación de muestras indicado previamente.**
- **Finalmente, en todos los casos recomendamos minimizar el tiempo de exposición del tejido a isquemia fría para evitar la necrosis y la degradación de los ácidos nucleicos.**
- **Las consideraciones indicadas previamente ayudan a maximizar las chances de obtener un reporte completo e integral de la muestra, pero no lo garantizan.**