

REF			SYSTEM
07027478190*	07027478500	100	cobas e 402
07027478214*			cobas e 801

* Algunos kits indicados pueden no estar disponibles en todos los países.

Español

Información del sistema

Nombre abreviado	ACN (código de aplicación)
HE4	10102

Advertencia

El valor de HE4 de una muestra de paciente puede variar según el método de ensayo aplicado. Por lo tanto, el laboratorio siempre debe indicar el método de determinación de HE4 empleado. Los valores de HE4 de un paciente, obtenidos mediante diferentes procedimientos de test, no pueden compararse entre sí pudiendo dar lugar a interpretaciones erróneas por parte del médico. En caso de cambiar de método de determinación de la HE4 durante el control del tratamiento, confirmar los valores durante el período de transición mediante mediciones paralelas con ambos métodos.

Uso previsto

Inmunoensayo para la determinación cuantitativa de la HE4 en suero y plasma humanos. El ensayo constituye una ayuda para el seguimiento de pacientes con un cáncer ovárico epitelial recurrente o avanzado. Para el seguimiento del cáncer ovárico deben efectuarse mediciones seriadas de los valores de HE4 conjuntamente con otros exámenes clínicos.

Empleado en combinación con el ensayo Elecsys CA 125 II, este ensayo constituye además una herramienta útil para estimar el riesgo de la presencia de un cáncer epitelial de ovario en mujeres pre y posmenopáusicas con una masa pélvica. Los resultados obtenidos deben interpretarse teniendo en cuenta los resultados de otros métodos de acuerdo con los estándares vigentes para el manejo clínico.

Este inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (electrochemiluminescence immunoassay) "ECLIA" está previsto para el uso en inmunoanalizadores **cobas e**.

Características

La proteína epididimal humana 4 (HE4, también conocida como WFDC2) pertenece a la familia de proteínas ácidas séricas nucleares de 4 enlaces disulfuro (WFDC), de las que se supone presentan características propias de los inhibidores de la tripsina.^{1,2} En su forma glucosilada madura, la proteína tiene un peso molecular de aproximadamente 20-25 kDa y consta de una monocadena polipeptídica con dos dominios WFDC.^{3,4}

Originalmente se creyó que la expresión de HE4 era específica del epidídimo.^{4,5} Pero recientemente se descubrió que la HE4 tiene una baja expresión en los epitelios de los tejidos respiratorio y reproductivo, mientras que su expresión es alta en el tejido del cáncer ovárico.⁶ Asimismo se han detectado altos niveles de secreción en el suero de pacientes con cáncer ovárico.⁷

El cáncer ovárico es la séptima causa de muerte femenina por cáncer a nivel mundial.⁸ Representa el tumor ginecológico más letal pero puede curarse cuando se detecta a tiempo⁹ y se trata por un cirujano experimentado.^{9,10} Ahora bien, los síntomas de cáncer ovárico son a menudo vagos e inespecíficos. Así que la mayoría de los carcinomas ováricos se detectan en una fase tardía disminuyendo la tasa de supervivencia de pacientes al cabo de 5 años desde el 90 % en la fase I hasta inferior al 20 % en la fase IV.¹¹

Empleada como único marcador tumoral, la HE4 tiene una alta sensibilidad para detectar el cáncer ovárico, especialmente en la fase I de la enfermedad que es la fase asintomática. La sensibilidad más alta (76.4 %) - con una especificidad del 95 % - se obtuvo al combinar el test de la HE4 con el del CA 125.^{12,13}

La determinación combinada de CA 125 y HE4 puede contribuir a decidir si una masa pélvica es benigna o maligna en mujeres pre y postmenopáusicas. Aplicados conjuntamente, los dos marcadores tumorales CA 125 y HE4 pueden predecir con mayor exactitud la

malignidad que si se aplican por separado.¹² Huhtinen et al. indicaron una sensibilidad del 78.6 % con una especificidad del 95 % en el diagnóstico diferencial entre carcinomas ováricos y quistes del endometrio.¹⁴ Moore et al. indicaron una exactitud del 94 % en la identificación de masas pélvicas benignas y malignas al combinar los valores de CA 125 y de HE4 en el así llamado algoritmo ROMA (del inglés, Risk of Ovarian Malignancy Algorithm).¹⁵

Además, las concentraciones de HE4 están correlacionadas con la respuesta clínica a la terapia y el estado de las recidivas en mujeres con carcinoma ovárico diagnosticado por tomografía computada. Por esta razón, la HE4 puede convertirse en un importante marcador precoz de recidivas.¹⁶

Principio del test

Principio sándwich. Duración total del test: 18 minutos.

- 1.ª incubación: 6 µL de muestra, un anticuerpo monoclonal biotinilado anti-HE4 y un anticuerpo monoclonal anti-HE4 marcado con quelato de rutenio^{a)} forman un complejo sándwich.
- 2.ª incubación: después de incorporar las micropartículas recubiertas de estreptavidina, el complejo formado se fija a la fase sólida por interacción entre la biotina y la estreptavidina.
- La mezcla de reacción es trasladada a la célula de medida donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminan posteriormente con ProCell II M. Al aplicar una corriente eléctrica controlada se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide con un fotomultiplicador.
- Los resultados se determinan mediante una curva de calibración generada específicamente para el instrumento a partir de una calibración a 2 puntos y una curva máster suministrada a través de **cobas link**.

a) Quelato Tris (2,2'-bipiridina) rutenio (II) (Ru(bpy)₃²⁺)

Reactivos - Soluciones de trabajo

El **cobas e** pack está etiquetado como HE4.

- M Micropartículas recubiertas de estreptavidina, 1 frasco, 5.8 mL:
Micropartículas recubiertas de estreptavidina: 0.72 mg/mL, conservante.
- R1 Anticuerpo anti-HE4~biotina, 1 frasco, 10.3 mL:
Anticuerpo monoclonal biotinilado anti-HE4 (ratón) 0.75 mg/L;
tampón fosfato 100 mmol/L, pH 6.5; conservante.
- R2 Anticuerpo anti-HE4~Ru(bpy)₃²⁺, 1 frasco, 10.3 mL:
Anticuerpo monoclonal anti-HE4 (ratón) marcado con quelato de rutenio 1.5 mg/L; tampón fosfato 100 mmol/L, pH 7.4; conservante.

Medidas de precaución y advertencias

Para el uso diagnóstico *in vitro* por los profesionales de la salud. Observe las medidas de precaución usuales para la manipulación de reactivos de laboratorio.

Residuos infecciosos o microbiológicos:

Advertencia: manipule los residuos como material biológico potencialmente peligroso. Deseche los residuos de acuerdo con las instrucciones y procedimientos de laboratorio aceptados.

Peligros ambientales:

Aplique todas las normas locales de eliminación pertinentes para asegurar una eliminación segura.

Existe una ficha de datos de seguridad a disposición del usuario profesional que la solicite.

El presente estuche contiene componentes que han sido clasificados por la directiva CE No. 1272/2008 de la siguiente manera:



Advertencia

H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

Prevención:

- P261 Evitar respirar la niebla o el vapor.
- P272 Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.
- P280 Llevar guantes de protección.

Respuesta:

- P333 + P313 En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
- P362 + P364 Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

Eliminación:

- P501 Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada.

Las indicaciones de seguridad del producto corresponden a los criterios del sistema globalmente armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos (GHS por sus siglas en inglés) válidas en la UE.

Contacto telefónico internacional: +49-621-7590

Evite la formación de espuma en reactivos y muestras de todo tipo (especímenes, calibradores y controles).

Preparación de los reactivos

Los reactivos incluidos en el kit están listos para el uso y forman una unidad inseparable.

La información necesaria para el correcto funcionamiento está disponible a través de **cobas** link.

Conservación y estabilidad

Conservar a 2-8 °C.

No congelar.

Conservar el **cobas e** pack **en posición vertical** para garantizar la disponibilidad total de las micropartículas durante la mezcla automática antes del uso.

Estabilidad:	
Sin abrir, a 2-8 °C	Hasta la fecha de caducidad indicada
En los analizadores	16 semanas

Obtención y preparación de las muestras

Sólo se ha analizado y considerado apto el tipo de muestras aquí indicado. Suero recogido en tubos estándar de muestra o en tubos que contienen gel de separación.

Plasma tratado con heparina de litio o con EDTA di o tripotásico.

Pueden emplearse tubos para plasma con heparina de litio que contengan gel de separación.

Criterio: Pendiente 0.9-1.1, coeficiente de correlación ≥ 0.95 .

Estable durante 5 horas a 20-25 °C; 2 días a 2-8 °C; 12 semanas a -20 °C (± 5 °C). Las muestras pueden congelarse 2 veces.

Los tipos de muestra aquí indicados fueron analizados con tubos de recogida de muestras seleccionados, comercializados en el momento de efectuar el análisis, lo cual significa que no fueron analizados todos los tubos de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que, en ciertos casos, pueden llegar a afectar los resultados de los análisis. Si las

muestras se procesan en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), seguir las instrucciones del fabricante de tubos.

Centrifugar las muestras que contienen precipitado antes de realizar el ensayo.

No emplear muestras inactivadas por calor.

No utilizar muestras ni controles estabilizados con azida.

Se debe garantizar una temperatura de 20-25 °C para la medición de muestras y calibradores.

Para evitar posibles efectos de evaporación, determinar las muestras y los calibradores que se sitúan en los analizadores dentro de un lapso de 2 horas.

Material suministrado

Consultar la sección "Reactivos - Soluciones de trabajo" en cuanto a los reactivos suministrados.

Material requerido adicionalmente (no suministrado)

- REF 05950945190, HE4 CalSet, para 4 x 1.0 mL
- REF 05950953190, PreciControl HE4, para 4 x 1.0 mL
- REF 07299010190, Diluent MultiAssay, 36 mL de diluyente para muestras
- Equipo usual de laboratorio

Analizador **cobas e**

Para la evaluación del riesgo de cáncer ovárico epitelial con ROMA (algoritmo de riesgo de malignidad ovárica):

- REF 07026986190, Elecsys CA 125 II, 300 pruebas
- REF 07030207190, CA 125 II CalSet II, para 4 x 1.0 mL
- REF 11776452122, PreciControl Tumor Marker, para 4 x 3.0 mL
- REF 07299001190, Diluent Universal, 36 mL de diluyente para muestras

Materiales adicionales para los analizadores **cobas e** 402 y **cobas e** 801:

- REF 06908799190, ProCell II M, 2 x 2 L de solución del sistema
- REF 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L de solución de limpieza para la célula de medida
- REF 07485409001, Reservoir Cup, 8 recipientes para ProCell II M y CleanCell M
- REF 06908853190, PreClean II M, 2 x 2 L de solución de lavado
- REF 05694302001, Bandeja de Assay Tip/Assay Cup, 6 x 6 bandejas, cada una con 105 cubetas y 105 puntas de pipeta (3780 determinaciones), 3 cartones de residuos sólidos
- REF 07485425001, Liquid Flow Cleaning Cup, 2 recipientes para la solución de limpieza ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean para la unidad de detección Liquid Flow Cleaning Detection Unit
- REF 07485433001, PreWash Liquid Flow Cleaning Cup, 1 recipiente para la solución de limpieza ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean para la unidad de prelavado Liquid Flow Cleaning PreWash Unit
- REF 11298500316, ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean, 5 x 100 mL de solución de limpieza para el sistema

Realización del test

Para garantizar el funcionamiento óptimo del test, observe las instrucciones de la presente metódica referentes al analizador empleado. Consulte el manual del operador apropiado para obtener las instrucciones de ensayo específicas del analizador.

Las micropartículas se mezclan automáticamente antes del uso.

Colocar el **cobas e** pack refrigerado (a 2-8 °C) en el gestor de reactivos (reagent manager). Evitar la formación de espuma. El analizador realiza automáticamente los procesos de atemperar, abrir y tapar el **cobas e** pack.

Calibración

Trazabilidad: El presente método ha sido estandarizado frente al método HE4 EIA de Fujirebio Diagnostics, Inc.

La curva máster predefinida es adaptada al analizador a través del CalSet correspondiente.

Intervalo de calibraciones: efectuar la calibración una vez por lote con reactivos frescos de un **cobas e** pack registrado como máximo 24 horas antes en el analizador.

El intervalo de calibración puede ampliarse si el laboratorio asegura una verificación aceptable de la calibración.

Se recomienda repetir la calibración:

- Después de 12 semanas si se trata del mismo lote de reactivos
- Después de 28 días (si se emplea el mismo **cobas e** pack en el analizador)
- En caso necesario: por ejemplo, si los valores del control de calidad están fuera del intervalo definido

Control de calidad

Efectuar el control de calidad con PreciControl HE4.

Adicionalmente pueden emplearse otros controles apropiados.

Los controles de los diferentes intervalos de concentración deberían efectuarse junto con el test en determinaciones simples por lo menos 1 vez cada 24 horas, con cada **cobas e** pack y después de cada calibración.

Adaptar los intervalos y límites de control a los requisitos individuales del laboratorio. Los resultados obtenidos deben hallarse dentro de los límites definidos. Cada laboratorio debería establecer medidas correctivas a seguir en caso de obtener valores fuera del intervalo definido.

Si fuera necesario, repetir la medición de las muestras en cuestión.

Cumplir con las regulaciones gubernamentales y las normas locales de control de calidad pertinentes.

Cálculo

El analizador calcula automáticamente en pmol/L la concentración de analito de cada muestra.

Limitaciones del análisis - interferencias

Se analizaron los efectos de las siguientes sustancias endógenas y los siguientes compuestos farmacéuticos sobre el funcionamiento del test sin que se hayan observado interferencias.

Sustancias endógenas

Compuesto	Concentración analizada
Bilirrubina	≤ 1130 µmol/L o ≤ 66 mg/dL
Hemoglobina	≤ 0.621 mmol/L o ≤ 1000 mg/dL
Intralipid	≤ 2000 mg/dL
Biotina	≤ 491 nmol/L o ≤ 120 ng/mL
Factores reumatoides	≤ 1500 UI/mL

Criterio: recuperación dentro de ± 3 pmol/L del valor inicial para muestras ≤ 30 pmol/L y dentro de ± 10 % del valor inicial para muestras > 30 pmol/L.

En pacientes en tratamiento con altas dosis de biotina (> 5 mg/día), no recoger la muestra antes de transcurridas como mínimo 8 horas tras la última administración.

No se registró el efecto prozona (high-dose hook) con concentraciones de HE4 de hasta 40000 pmol/L.

Compuestos farmacéuticos

Se analizaron in vitro 18 fármacos de uso extendido. sin encontrar interferencias con el presente ensayo.

Adicionalmente se analizaron los siguientes fármacos anticancerígenos sin encontrar interferencias con el presente ensayo.

Fármacos anticancerígenos

Fármaco	Concentración (µg/mL)
Carboplatino	600
Cisplatino	180
Ciclofosfamida	500
Dexametasona	20
Doxorrubicina	120
Leucovorina	750
Melfalán	15
Metotrexato-disódico	1000

Fármaco	Concentración (µg/mL)
Paclitaxel	265
Fluorouracilo	900
Bevacizumab (Avastin)	750
Erlotinib (Tarceva)	150
Rituximab (MabThera)	750
Trastuzumab (Herceptin)	600

En casos aislados pueden presentarse interferencias por títulos extremadamente altos de anticuerpos dirigidos contra anticuerpos específicos del analito, la estreptavidina o el rutenio. Estos efectos se han minimizado gracias a un adecuado diseño del test.

Para el diagnóstico, los resultados del test siempre deben interpretarse teniendo en cuenta la anamnesis del paciente, la exploración clínica así como los resultados de otros exámenes.

Límites e intervalos

Intervalo de medición

15-1500 pmol/L (definido por el Límite de Detección y el máximo de la curva principal). Los valores inferiores al Límite de Detección se indican como < 15 pmol/L. Los valores superiores al intervalo de medición se indican como > 1500 pmol/L (o hasta 30000 pmol/L para muestras diluidas de 1/20).

Límites inferiores de medición

Límite de Blanco, Límite de Detección y Límite de Cuantificación

Límite de Blanco = 5 pmol/L

Límite de Detección = 15 pmol/L

Límite de Cuantificación = 20 pmol/L

El Límite de Blanco, el Límite de Detección y el Límite de Cuantificación fueron determinados cumpliendo con los requerimientos EP17-A2 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute).

El Límite de Blanco es el valor del percentil 95 obtenido a partir de $n \geq 60$ mediciones de muestras libres de analito en varias series independientes. El Límite de Blanco corresponde a la concentración por debajo de la cual se encuentran, con una probabilidad del 95 %, las muestras sin analito.

El Límite de Detección se determina basándose en el Límite de Blanco y en la desviación estándar de muestras de baja concentración. El Límite de Detección corresponde a la menor concentración de analito detectable (valor superior al Límite de Blanco con una probabilidad del 95 %).

El Límite de Cuantificación es la menor concentración de analito cuya medición puede reproducirse con un coeficiente de variación intermedio para la precisión de ≤ 20 %.

Se efectuó un estudio interno en base al protocolo EP17-A2 del CLSI. El Límite de Blanco y el Límite de Detección se determinaron resultando:

Límite de Blanco = 3.26 pmol/L

Límite de Detección = 3.44 pmol/L

El Límite de Cuantificación se determinó con ≥ 4 muestras de suero humano durante 5 días en 5 réplicas con 1 analizador. El Límite de Cuantificación fue de 6.75 pmol/L con un coeficiente de variación intermedio para la precisión de ≤ 20 %.

Dilución

Las muestras con concentraciones de HE4 superiores al intervalo de medición pueden diluirse con Diluent MultiAssay. Se recomienda una dilución a 1:20 (automáticamente por los analizadores o de forma manual). La concentración de la muestra diluida debe ser > 75 pmol/L.

Multiplicar los resultados obtenidos tras dilución manual por el factor de dilución.

El software de los analizadores tiene en cuenta la dilución automática al calcular la concentración de las muestras.

Valores teóricos

Un estudio llevado a cabo en un centro clínico alemán con el test Elecsys HE4 en muestras de suero de 358 mujeres aparentemente sanas dio los siguientes resultados:

Edad (años)	N	HE4 (pmol/L)	
		Mediana	Percentil 95
< 40	127	42.0	60.5
40-49	65	44.3	76.2
50-59	60	47.9	74.3
60-69	60	55.0	82.9
≥ 70	46	62.1	104

En la tabla siguiente, se indica la distribución porcentual (%) de los valores del test HE4 determinados en dos centros clínicos de España y Alemania con el test Elecsys HE4 a partir de 896 muestras femeninas:

	Valores del test Elecsys HE4 (pmol/L)					
	0.0-70.0	70.1-140	140.1-500	500.1-1500	> 1500	
N (distribución porcentual)						
Fumadores						
Mujeres premenopáusicas	90 (84.4%)	76 (14.4%)	13 (1.1%)	1 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Mujeres posmenopáusicas	106 (59.4%)	63 (37.7%)	40 (2.8%)	3 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Enfermedades benignas						
Mujeres premenopáusicas	177 (90.4%)	160 (9.0%)	16 (0.6%)	1 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Mujeres posmenopáusicas	102 (60.8%)	62 (30.4%)	31 (8.8%)	9 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Embarazo	50 (100%)	50 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Enfermedades no ginecológicas	35 (45.7%)	16 (17.1%)	6 (17.1%)	6 (20.0%)	7 (0.0%)	0 (0.0%)
ICC ^{b)}	23 (39.1%)	9 (47.8%)	11 (13.0%)	3 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Cáncer						
Cáncer ovárico Mujeres premenopáusicas	39 (30.8%)	12 (17.9%)	7 (33.3%)	13 (12.8%)	5 (5.1%)	2 (5.1%)
Cáncer ovárico Mujeres posmenopáusicas	97 (10.3%)	10 (19.6%)	19 (35.1%)	34 (28.9%)	28 (6.2%)	6 (6.2%)
Cáncer de endometrio	49 (36.7%)	18 (40.8%)	20 (18.4%)	9 (2.0%)	1 (2.0%)	1 (2.0%)
Cáncer de mama	47 (46.8%)	22 (40.4%)	19 (10.6%)	5 (2.1%)	1 (0.0%)	0 (0.0%)
Cáncer gastrointestinal	46 (41.3%)	19 (43.5%)	20 (13.0%)	6 (2.2%)	1 (0.0%)	0 (0.0%)
Cáncer pulmonar	23 (21.7%)	5 (30.4%)	7 (43.5%)	10 (4.3%)	1 (0.0%)	0 (0.0%)
Cáncer de vejiga	12 (25.0%)	3 (33.3%)	4 (33.3%)	4 (8.3%)	1 (0.0%)	0 (0.0%)

b) ICC = insuficiencia cardíaca congestiva

En este estudio, el 84 % de las mujeres premenopáusicas aparentemente sanas presentó un valor para el ensayo Elecsys HE4 igual o inferior a 70 pmol/L y el 97 % de las mujeres posmenopáusicas y aparentemente sanas presentó un valor de Elecsys HE4 igual o inferior a 140 pmol/L.

El percentil 95 de las mujeres pre y posmenopáusicas aparentemente sanas de todas las edades fue de 92.1 pmol/L y 121 pmol/L, respectivamente.

Cada laboratorio debería comprobar si los intervalos de referencia pueden aplicarse a su grupo de pacientes y, en caso necesario, establecer sus propios valores.

Monitorización del estado de la enfermedad en pacientes con diagnóstico de cáncer ovárico

La eficacia del test Elecsys HE4 en el seguimiento del estadio de cáncer ovárico se determinó evaluando los cambios de las concentraciones de HE4 en muestras de suero seriadas de 100 pacientes respecto a los cambios del estado de la enfermedad. Para ello, se llevó a cabo un estudio con un total de 375 pares de observaciones tomando ≥ 3 muestras de sangre por paciente. Como cambio positivo fue definido aquel incremento del valor de HE4 que fuera como mínimo superior en un 20 % al valor anteriormente obtenido con el test. El 58.0 % de las muestras de pacientes (29/50) con un cambio positivo se correlacionaron con el avance de la enfermedad, mientras que el 84.0 % de las muestras seriadas de pacientes (273/325) sin cambios significativos del valor de HE4 se correlacionaron con la ausencia de avance. La concordancia total fue del 80.5 % (302/375). A continuación, se presentan los datos en el formato 2 x 2.

Cambio del estado de la enfermedad por par secuenciado			
Aumento de la concentración de HE4	Con avance	Sin avance	Total
> 20 %	29	52	81
≤ 20 %	21	273	294
Total	50	325	375

Estimación del riesgo en pacientes con masa pélvica

La eficacia del test Elecsys HE4 en combinación con el test Elecsys CA 125 II para la estimación del riesgo de cáncer ovárico epitelial en pacientes que presentan masa pélvica fue determinada en un ensayo clínico multicéntrico internacional con muestras almacenadas. Se desarrolló el algoritmo ROMA (algoritmo de riesgo de malignidad ovárica) para la estimación del riesgo de cáncer ovárico epitelial. Este algoritmo tiene en cuenta los valores de HE4 y CA 125, así como el estado menopáusico de la paciente. El algoritmo calcula una probabilidad pronóstica de encontrar cáncer ovárico epitelial durante una cirugía.

Cálculo del índice pronóstico (IP)¹⁷

El índice pronóstico se calcula por separado para mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas utilizando las ecuaciones (1) y (2) indicadas a continuación. Para calcular el IP, los valores de ensayo obtenidos con el test Elecsys HE4 y con el ensayo Elecsys CA 125 II se introducen en las ecuaciones siguientes en función del estado menopáusico de la mujer.

(1) Mujer premenopáusica:

$$IP = -12.0 + 2.38 \cdot \ln[HE4] + 0.0626 \cdot \ln[CA125]$$

(2) Mujer posmenopáusica:

$$IP = -8.09 + 1.04 \cdot \ln[HE4] + 0.732 \cdot \ln[CA125]$$

siendo LN = logaritmo natural. No emplear LOG = Log₁₀.

Cálculo del valor de ROMA¹⁷

Para calcular el valor de ROMA (es decir, la probabilidad pronóstica), introducir en la ecuación (3) el valor obtenido para el índice pronóstico:

$$(3) \text{ Valor de ROMA (\%)} = \exp(IP) / [1 + \exp(IP)] * 100 \text{ siendo } \exp(IP) = e^{IP}$$

NOTA: Estas ecuaciones se emplearon para el cálculo de los valores de ROMA con el test Elecsys HE4 de 28.8-3847 pmol/L y con el test Elecsys CA 125 II de 6.42-5000 U/mL.

Se recomienda utilizar los siguientes ejemplos para validar los cálculos del IP y del algoritmo de ROMA antes de comunicar los resultados a las pacientes:

Estado menopáusico	Valores Elecsys		Cálculo del IP	IP	ROMA %
	HE4 (pmol/L)	CA 125 II (U/mL)			
Mujeres premenopáusicas	37.5	74.9	-12.0 + (2.38*3.624) + (0.0626*4.316)	-3.10388	4.29
	387	21.8	-12.0 + (2.38*5.958) + (0.0626*3.082)	2.373978	91.5
Mujeres posmenopáusicas	66.7	11.3	-8.09 + (1.04*4.200) + (0.732*2.425)	-1.94683	12.5
	383	22.7	-8.09 + (1.04*5.948) + (0.732*3.122)	0.3815275	59.4

Valores de LN[HE4], LN[CA125] y PI no redondeados ni truncados.

Estratificación en grupos de bajo y alto riesgo

A fin de hacer un pronóstico de probabilidad del cáncer de ovario y evaluar la capacidad de distinguir entre un grupo de bajo y alto riesgo a partir de los valores de ROMA se efectuó un estudio con un total de 384 muestras almacenadas.

Se empleó el algoritmo de riesgo de malignidad ovárica para estratificar a las mujeres en grupos de riesgo para detectar cáncer ovárico epitelial. Se utilizaron los siguientes puntos de corte para alcanzar un nivel de especificidad del 75 % para la combinación del test Elecsys HE4 con el ensayo Elecsys CA 125 II:

Mujeres premenopáusicas

Valor de ROMA ≥ 11.4 % = Alto riesgo de detectar cáncer ovárico epitelial

Valor de ROMA < 11.4 % = Bajo riesgo de detectar cáncer ovárico epitelial

Mujeres postmenopáusicas

Valor de ROMA ≥ 29.9 % = Alto riesgo de detectar cáncer ovárico epitelial

Valor de ROMA < 29.9 % = Bajo riesgo de detectar cáncer ovárico epitelial

La tabla siguiente representa la estratificación de riesgo de todas las 384 pacientes (194 pre y 190 postmenopáusicas) con masa pélvica a partir de los valores ROMA para la combinación de las pruebas Elecsys HE4 y Elecsys CA 125 II:

Grupos de pacientes presentando masa pélvica	Pacientes premenopáusicas			Pacientes postmenopáusicas		
	N	ROMA < 11.4 %	ROMA ≥ 11.4 %	N	ROMA < 29.9 %	ROMA ≥ 29.9 %
COE, fase I-II ^{c)}	16	6 (37.5 %)	10 (62.5 %)	16	6 (37.5 %)	10 (62.5 %)
COE, fase I-III ^{c)}	21	7 (33.3 %)	14 (66.7 %)	34	9 (26.5 %)	25 (73.5 %)
COE, fase I-IV	25	7 (28.0 %)	18 (72.0 %)	53	10 (18.9 %)	43 (81.1 %)
COE, fase III-IV	9	1 (11.1 %)	8 (88.9 %)	37	4 (10.8 %)	33 (89.2 %)
COE sin fase definida	12	2 (16.7 %)	10 (83.3 %)	44	2 (4.5 %)	42 (95.5 %)
Benigno	157	118 (75.2 %)	39 (24.8 %)	93	71 (76.3 %)	22 (23.7 %)

c) COE = cáncer ovárico epitelial

d) fase I-IIIb y fase I-IIIc (omento negativo, nodo linfático positivo)

Las pacientes con un cáncer epitelial de ovario en el estadio I-IV fueron estratificadas en el grupo de alto riesgo con una sensibilidad del 84.3 % y una especificidad preestablecida del 75 %, de modo que el 75.6 % de las mujeres con masa pélvica benigna fue clasificada como perteneciente al grupo de bajo riesgo. Los valores pronósticos positivos y negativos fueron del 64.9 % y del 90 %, respectivamente.

AUC (IC del 95 %):

Mujeres premenopáusicas = 0.858 (0.779-0.937)

Mujeres posmenopáusicas = 0.923 (0.885-0.962)

Consideraciones importantes

- La concentración de HE4 no constituye una evidencia absoluta de la presencia o ausencia de un carcinoma maligno. El test Elecsys HE4 no es un test de cribado del cáncer.
- Para la interpretación de los resultados del test Elecsys HE4 deben considerarse también otras informaciones diagnósticas como por ejemplo los síntomas o el historial del paciente.
- Si los resultados del test Elecsys HE4 no coinciden con las evidencias clínicas, se recomienda efectuar pruebas adicionales para confirmar el resultado.
- Los resultados del test Elecsys HE4 no son intercambiables con los resultados de pruebas de HE4 de otros fabricantes.

- Para el cálculo de ROMA, no intercambie los resultados del test Elecsys CA 125 II con los resultados de pruebas de CA 125 de otros fabricantes.
- Las pacientes con cáncer ovárico confirmado pueden presentar valores del ensayo Elecsys HE4 en el mismo intervalo que las mujeres sanas. Ciertos tipos histológicos de cáncer ovárico, por ejemplo los tumores de células mucinosas o germinales, raramente expresan HE4, por lo que no se recomienda emplear el test Elecsys HE4 para monitorizar pacientes con diagnóstico de cáncer ovárico de células mucinosas o germinales.⁶ Inversamente, puede haber concentraciones elevadas de antígeno HE4 en individuos con enfermedades renales, hepáticas y no malignas.
- El algoritmo de riesgo de malignidad ovárica no se ha validado para los siguientes grupos de pacientes: pacientes tratadas previamente por tumor maligno, pacientes tratadas actualmente con quimioterapia y pacientes menores de 18 años de edad. En caso de que las pruebas Elecsys HE4 y/o Elecsys CA 125 II no funcionaran correctamente o los resultados se calcularan erróneamente, el riesgo se evaluará de forma inexacta y la paciente será tratada de modo inadecuado. En concreto, al obtenerse un resultado falsamente bajo en alguno de los ensayos, la paciente será estratificada como de bajo riesgo de padecer un cáncer epitelial de ovario, privándola así de cuidados y asistencia especializados.

Datos específicos de funcionamiento del test

A continuación, se indican los datos representativos del funcionamiento de los analizadores. Los resultados de cada laboratorio en particular pueden diferir de estos valores.

Precisión

La precisión ha sido determinada mediante reactivos Elecsys, una mezcla de sueros humanos y controles según un protocolo (EP05-A3) del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute): 2 ciclos diarios por duplicado, cada uno durante 21 días (n = 84). Se obtuvieron los siguientes resultados:

Analizadores cobas e 402 y cobas e 801					
Muestra	Media pmol/L	Repetibilidad		Precisión intermedia	
		DE pmol/L	CV %	DE pmol/L	CV %
Suero humano 1	15.9	0.160	1.0	0.210	1.3
Suero humano 2	22.8	0.332	1.5	0.374	1.6
Suero humano 3	135	2.88	2.1	3.27	2.4
Suero humano 4	688	5.99	0.9	8.33	1.2
Suero humano 5	1368	32.2	2.4	32.7	2.4
PreciControl HE4 1	50.4	0.484	1.0	0.558	1.1
PreciControl HE4 2	343	2.32	0.7	3.65	1.1

Comparación de métodos

a) Una comparación entre el ensayo Elecsys HE4, [REF] 07027478190 (analizador **cobas e 801**; y) y el ensayo Elecsys HE4, [REF] 05950929190 (analizador **cobas e 601**; x) generó las siguientes correlaciones (en pmol/L):

Número de muestras medidas: 140

Passing/Bablok¹⁸

$y = 0.996x + 1.43$

$\tau = 0.988$

Regresión lineal

$y = 0.997x + 1.19$

$r = 1.00$

Las concentraciones de las muestras se situaron entre 16.4 y 1478 pmol/L.

b) Una comparación entre el ensayo Elecsys HE4, [REF] 07027478190 (analizador **cobas e 402**; y) y el ensayo Elecsys HE4, [REF] 07027478190 (analizador **cobas e 801**; x) generó las siguientes correlaciones (en pmol/L):

Número de muestras medidas: 143

Passing/Bablok¹⁸

$y = 1.02x + 0.259$

Regresión lineal

$y = 1.04x + 0.056$

$\tau = 0.975$ $r = 0.999$

Las concentraciones de las muestras se situaron entre 19.3 y 1434 pmol/L.

Especificidad analítica

A continuación se indican las reacciones cruzadas obtenidas para concentraciones de HE4 de 65 pmol/L y 155 pmol/L:

Proteínas (Familia WFDC)	Concentración analizada pmol/L	Reactividad cruzada %
Elafina ^{e)} /SKALP ^{f)}	54500	0.025
SLPI ^{g)}	20833	0.088

e) Elafina = inhibidor específico de la elastasa

f) SKALP = antileucoproteína derivada de la piel

g) SLPI = Inhibidor de la secreción de la proteasa leucocitaria

Referencias bibliográficas

- Israeli O, Goldring-Aviram A, Rienstein S, et al. In silico chromosomal clustering of genes displaying altered expression patterns in ovarian cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 2005;160:35-42.
- Bouchard D, Morisset D, Bourbonnais Y, et al. Proteins with whey-acidic-protein motifs and cancer. *Lancet Oncol* 2006;7:167-174.
- Bingle L, Singleton V, Bingle CD. The putative ovarian tumour marker gene HE4 (WFDC2), is expressed in normal tissues and undergoes complex alternative splicing to yield multiple protein isoforms. *Oncogene* 2002;21:2768-2773.
- Kirchhoff C. Molecular characterization of epididymal proteins. *Rev Reprod* 1998;3:86-95.
- Kirchhoff C, Habben I, Ivell R, et al. A major human epididymis-specific cDNA encodes a protein with sequence homology to extracellular proteinase inhibitors. *Biol Reprod* 1991;45:350-357.
- Drapkin R, von Horsten HH, Lin Y, et al. Human epididymis protein 4 (HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous and endometrioid ovarian carcinomas. *Cancer Res* 2005;65:2162-2169.
- Hellström I, Raycraft J, Hayden-Ledbetter M, et al. The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma. *Cancer Res* 2003;63:3695-3700.
- Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet] Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed on day/month/year.
- Earle CC, Schrag D, Neville BA, et al. Effect of surgeon specialty on processes of care and outcomes for ovarian cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:172-180.
- Engelen MJ, Kos HE, Willemse PH, et al. Surgery by consultant gynecologic oncologists improves survival in patients with ovarian carcinoma. *Cancer* 2006;106:589-598.
- Clarke-Pearson, DL. Clinical practice. Screening for ovarian cancer. *NEJM* 2009;361(2):170-177.
- Moore RG, Brown AK, Miller MC, et al. The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass. *Gynecol Oncol* 2008;108:402-408.
- Moore RG, Brown AK, Miller MC, et al. Utility of a novel serum tumor biomarker HE4 in patients with endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *Gynecol Oncol* 2008;110:196-201.
- Huhtinen K, Suvitie P, Hiissa J, et al. Serum HE4 concentration differentiates malignant ovarian tumours from ovarian endometriotic cysts. *Br J Cancer* 2009;100:1315-1319.
- Moore RG, Miller MC, Disilvestro P, et al. Evaluation of the Diagnostic Accuracy of the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm in Women With a Pelvic Mass. *Obstet Gynecol* 2011;118(2,Part1):280-288.
- Anastasi E, Marchei GG, Viggiani V, et al. HE4: a new potential early biomarker for the recurrence of ovarian cancer. *Tumor Biol* 2010;31:113-119.
- Moore RG, McMeekin DS, Brown AK, et al. A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *Gynecol Oncol* 2009;111:40-46.

- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988 Nov;26(11):783-790.

Para más información acerca de los componentes, consultar el manual del operador del analizador, las hojas de aplicación y las metodicas correspondientes (disponibles en su país).

En la presente metodología se emplea como separador decimal un punto para distinguir la parte entera de la parte fraccionaria de un número decimal. No se utilizan separadores de millares.



ROMA es una marca registrada de Fujirebio Diagnostics, Inc.

Los antígenos HE4 y los anticuerpos anti-HE4 utilizados en los productos Roche HE4 son licenciados por Fujirebio Diagnostics, Inc.

Todo incidente grave que se haya producido en relación con el producto se comunicará al fabricante y a la autoridad competente del Estado Miembro en el que se encuentre el usuario y/o el paciente.

Para el resumen del informe de seguridad y funcionamiento, consulte: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Símbolos

Roche Diagnostics utiliza los siguientes símbolos y signos adicionalmente a los indicados en la norma ISO 15223-1 (para los EE.UU.: consulte dialog.roche.com para la definición de los símbolos usados):

	Contenido del kit
	Analizadores/instrumentos adecuados para los reactivos
	Reactivo
	Calibrador
	Volumen para la reconstitución
	Número Global de Artículo Comercial

La barra del margen indica suplementos, eliminaciones o cambios.

© 2022, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com
+800 5505 6606

