

## VENTANA anti-MSH6 (SP93) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

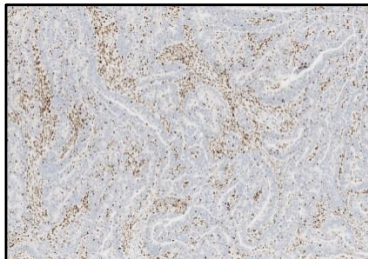
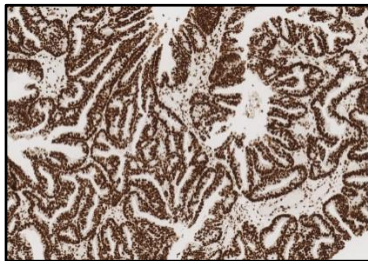
Для использования с панелью VENTANA MMR RxDx Panel

Для использования с панелью VENTANA MMR IHC Panel

**REF** 760-5092

08033676001

**IVD** 50



**Рис. 1.** Окрашивание кроличьим моноклональным антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) Rabbit Monoclonal Primary Antibody при сохранении (вверху) или потере (внизу) экспрессии в ткани карциномы эндометрия.

### НАЗНАЧЕНИЕ

Кроличье моноклональное антитело VENTANA anti-MSH6 (SP93) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (антитело VENTANA anti-MSH6 (SP93)) предназначено для использования в лаборатории с целью качественной иммуногистохимической детекции белка MSH6 в срезах фиксированных формалином и залитых в парафин (FFPE) тканей средствами световой микроскопии. Антитело VENTANA anti-MSH6 (SP93) разработано как продукт, готовый к применению на приборе BenchMark IHC/ISH в сочетании с набором для детекции OptiView DAB IHC Detection Kit и дополнительными реагентами. Антитело VENTANA anti-MSH6 (SP93) входит в состав панелей VENTANA MMR RxDx Panel и VENTANA MMR IHC Panel, перечисленных в Табл. 1.

| Название панели       | Антитела панели <sup>[a]</sup>      | Клиническое применение   |
|-----------------------|-------------------------------------|--|
| VENTANA MMR IHC Panel | MLH1, PMS2, MSH2, MSH6 и BRAF V600E | Панель VENTANA MMR IHC Panel предназначена для детекции недостаточности белка системы репарации неспаренных оснований, и применяется в качестве теста для выявления лиц с риском наличия синдрома Lynch среди больных с диагностированным колоректальным раком (CRC), а также со статусом BRAF V600E в целях дифференцирования CRC спорадического и при вероятном синдроме Lynch в отсутствии экспрессии белка MLH1. |

<sup>[a]</sup> MLH1- VENTANA anti-MLH1 (M1) Mouse Monoclonal Primary Antibody  
 PMS2- VENTANA anti-PMS2 (A16-4) Mouse Monoclonal Primary Antibody  
 MSH2- VENTANA anti-MSH2 (G219-1129) Mouse Monoclonal Primary Antibody  
 MSH6- VENTANA anti-MSH6 (SP93) Rabbit Monoclonal Primary Antibody  
 BRAF- VENTANA anti-BRAF V600E (VE1) Mouse Monoclonal Primary Antibody

Результаты теста, полученные с помощью этой панели, должны интерпретироваться квалифицированным врачом-патологоанатомом в сочетании с гистологическим исследованием, соответствующей клинической информацией и надлежащими средствами контроля.

Этот продукт предназначен для диагностики in vitro (IVD).

### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ИНФОРМАЦИЯ

Антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) — это кроличьи моноклональные антитела к синтетическому пептиду, соответствующему внутренней области белка MSH6 человека. Антитело VENTANA anti-MSH6 (SP93) распознает белок MSH6, который является одним из нескольких клинически важных белков системы коррекции неспаренных оснований ДНК (MMR).<sup>1,2</sup> Антитело VENTANA anti-MSH6 (SP93) входит в состав панелей VENTANA MMR RxDx Panel и VENTANA MMR IHC Panel; обе основаны на иммуногистохимическом исследовании (IHC) для выявления опухоли с недостаточной экспрессией любого из 4 белков MMR (например, MLH1, PMS2, MSH2, MSH6), которые обычно повсеместно экспрессируются в пролиферирующих нормальных и злокачественных клетках.<sup>3</sup> Эти опухоли считаются MMR-дефицитными (dMMR).

MMR — это консервативный молекулярный механизм, исправляющий ошибки спаривания нуклеотидных оснований, спонтанно возникающие при репликации ДНК.<sup>4</sup> В исследованиях с применением полимеразной цепной реакции (PCR) установили, что недостаточность системы MMR часто приводит к микросателлитной нестабильности (MSI) — состоянию, при котором в цепь ДНК оказываются встроены короткие цепочки повторяющихся оснований.<sup>5,6,7</sup> Если количество повторов составляет 30 % или больше от исследованных микросателлитных локусов, говорят о MSI высокой степени (MSI-High, MSI-H). Дефекты в механизме MMR объясняются мутациями в белках MMR, чаще всего MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6.

Белки MLH1 и PMS2 обычно функционируют вместе в гетеродимерном комплексе, как и белки MSH2 и MSH6. При нормальной работе MMR гетеродимер MSH6/MSH2 связывается с содержащей неспаренные основания молекулой ДНК. Связывание запускает изменение конформации молекулы, которое позволяет гетеродимеру MLH1/PMS2 образовать связь с комплексом ДНК и MSH6/MSH2. При этом происходит эксцизионная репарация поврежденной молекулы ДНК.<sup>7,8</sup> Мутация или недостаток этих белков приводят к частым появлениям MSI и соматическим мутациям вследствие ошибок репликации. Тестирование MMR методом IHC может быть полезным для выявления опухолей с изменениями в MMR.<sup>9</sup>

### КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

#### Карцинома эндометрия (ЕС)

ЕС — наиболее распространенное гинекологическое злокачественное заболевание, занимающее четвертое место среди злокачественных новообразований у женщин Северной Америки.<sup>10,11</sup> Это одна из ведущих причин смерти от рака в мире.<sup>12</sup> Часто отмечается, что ЕС характеризуется большим количеством генетических изменений, включая MSI.<sup>10</sup> Приблизительно 20–40 % опухолей ЕС являются dMMR или имеют MSI.<sup>13,14,15</sup> Несмотря на то, что лечение карциномы эндометрия различается в зависимости от степени дифференцировки, гистологических

**Табл. 1.** Диагностические показания к применению панелей VENTANA MMR Panel.

| Название панели               | Антитела панели <sup>[a]</sup> | Клиническое применение   |
|-------------------------------|--------------------------------|--|
| Панель VENTANA MMR RxDx Panel | MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6        | Панель VENTANA MMR RxDx Panel предназначена для помощи в выявлении пациентов с раком эндометрия с дефицитом MMR (dMMR), подходящих для лечения препаратом JEMPERLI (достарлимаб) в соответствии с зарегистрированными показаниями препарата. |

характеристик и стадии заболевания, оценка статуса MMR EC полезна для прогноза и лечения.<sup>16</sup>

Новые методы иммунотерапии, особенно те, которые изменяют клеточные пути, включающие белки программируемой смерти 1 (PD-1) или лиганды программируемой смерти 1 (PD-L1), меняют терапевтические стратегии врачей. PD-1 — это ингибиторный рецептор, экспрессируемый на Т-клетках после активации Т-клеток, которая поддерживается в состояниях хронической стимуляции, таких как хроническая инфекция или рак.<sup>17</sup> Экспрессия PD-L1 наблюдалась в иммунных и злокачественных клетках, а аномальная экспрессия PD-L1 на опухолевых клетках, как сообщается, препятствует противоопухолевому иммунитету, что приводит к уклонению от иммунного ответа.<sup>17,18</sup> Таким образом, прерывание пути PD-L1/PD-1 представляет собой привлекательную стратегию для активизации опухолеспецифичного Т-клеточного иммунитета. Многочисленные исследования продемонстрировали, что дефицит MMR коррелирует с более высокой экспрессией PD-1 или PD-L1, возможно, из-за повышенной экспрессии неоантигенов, связанной с мутационной нагрузкой опухоли, которая возникает в результате ошибок репликации.<sup>10,19</sup> Таким образом, белки MMR могут быть полезны в качестве прогностических биомаркеров для таргетной терапии PD-1; в частности, потеря экспрессии одного или нескольких белков MMR может предсказывать повышенную вероятность ответа на такую терапию.<sup>20,21,22</sup> Ингибиторы PD-1 могут быть полезны при раке с высокой частотой дефицита MMR и (или) MSI-H, таком как эндометриальная карцинома.<sup>19,20,22</sup> Следовательно, пациенты с EC, которые рассматривают таргетную терапию PD-1, получают пользу от анализа сопроводительной диагностики (CDx), чтобы определить, могут ли они подходить для лечения терапией с использованием ингибирования контрольных точек PD-1 или PD-L1.

Потеря экспрессии любого из основных белков MMR, включая MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6, вызывает дефицит MMR. Как часть VENTANA MMR RxDx Panel, антитело VENTANA anti-MLH1 (M1) поможет определить статус MMR опухолей методом IHC, классифицируя их как «Сохранение» или «Потеря» экспрессии белка MMR. Наличие окрашивания на все четыре маркера белка MMR в опухоли с использованием VENTANA MMR RxDx Panel указывает на то, что случай MMR-полносоставный (pMMR). Отсутствие окрашивания на любой из маркеров белка MMR с использованием VENTANA MMR RxDx Panel указывает на то, данный случай является dMMR.

## Колоректальная карцинома (CRC) и синдром Lynch

Рак толстой и прямой кишки является третьим по частоте встречаемости видом рака и четвертой по частоте причиной смерти от онкологических заболеваний в мире.<sup>23</sup> Для большинства случаев колоректального рака характерна хромосомная нестабильность, однако около 15 % случаев рака развивается по альтернативному пути, характеризующему нарушениями функционирования системы исправления ошибок сравнения оснований (MMR) ДНК. Злокачественные опухоли толстой и прямой кишки группы dMMR часто низкодифференцированы, чаще наблюдаются в проксимальных отделах толстой кишки, относятся к гистологическим типам слизистого, медуллярного или перстневидно-клеточного рака, характеризуются большим количеством лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль.<sup>24,25</sup> В целом, состояние дефицита MMR может быть вызвано или мутацией одного из генов MMR в клетках зародышевой линии с последующей потерей нормального аллеля по генетическому или эпигенетическому механизму, соматической мутацией в аллелях, либо эпигенетической инактивацией гена MLH1 по механизму метилирования.<sup>26</sup>

Синдром Lynch был описан в 1960-х годах, он указывает на связь между потерей функции MMR и развитием рака.<sup>27</sup> Потеря белков системы MMR (MLH1, PMS2, MSH2 или MSH6) может приводить к MSI и большему пожизненному риску не только колоректального рака, но и злокачественных опухолей желудка, головного мозга, поджелудочной железы, кожи, эндометрия и яичников. Пациенты с синдромом Lynch на протяжении жизни подвергаются на 50–80 % более высокому риску развития колоректального рака.<sup>7,28,29</sup> Синдром Lynch отличается от других наследственных опухолевых синдромов, поскольку прямое исследование тканей опухоли позволяет выявлять пациентов в группе риска наличия синдрома Lynch, и является фактором, учитываемым при последующем тестировании на определение герминальных мутаций в генах. Семьи с синдромом Lynch получают преимущества использования передовых протоколов скрининга на рак.

В ряде руководств, включая руководство National Comprehensive Cancer Network (NCCN), рекомендуется проводить скрининг для выявления возможного синдрома

Lynch во всех случаях колоректального рака. Это позволит обнаружить пациентов и семьи, которые получат пользу от последующего генетического тестирования и консультирования.<sup>27,30-33</sup> Применение панели VENTANA MMR IHC Panel также помогает при определении состояния MMR у больных с колоректальным раком, разделяя их на группы с сохранением или потерей экспрессии белка MMR. Потеря экспрессии белков MLH1 или MSH2 практически всегда сопровождается потерей и их партнеров по гетеродимеру, PMS2 или MSH6 соответственно. Однако потеря PMS2 или MSH6 не приводит к потере MLH1 или MSH2. Потеря белков PMS2, MSH2 и (или) MSH6 может свидетельствовать о наличии Lynch синдрома, и пациенты с такими мутациями должны направляться на дополнительное тестирование и консультирование в соответствии с действующими стандартами оказания медицинской помощи.

Потеря белка MLH1 может указывать на спорадический случай или возможный синдром Lynch. Не менее чем в 15 % случаев спорадического колоректального рака потеря белка MLH1 вызвана гиперметилированием промотора MLH1.<sup>7,34,35</sup> Важным наблюдением является выявление мутации BRAF V600E в двух третях опухолей с потерей экспрессии MLH1 из-за гиперметилирования промотора MLH1. В то же время мутация BRAF V600E крайне редко наблюдается при опухолях, ассоциированных с синдромом Lynch.<sup>34</sup> В связи с этим результат применения антитела VENTANA anti-MLH1 (M1) позволяет определить потерю белка MLH1, а антитело VENTANA anti-BRAF V600E (VE1) — стратифицировать опухоль как спорадическую или связанную с синдромом Lynch.<sup>7,36</sup> При колоректальном раке потеря белка MLH1 с положительным статусом мутации BRAF V600E с высокой долей вероятности указывает на спорадический характер рака, практически исключая синдром Lynch как причину развития заболевания.<sup>37,38</sup> Когда потеря белка MLH1 сопровождается отрицательным статусом мутации BRAF V600E, потеря MLH1 согласуется с высокой вероятностью наличия синдрома Lynch.<sup>39</sup>

## ПРИНЦИП ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) — это кроличьи моноклональные антитела, продуцируемые против синтетического пептида, соответствующего внутренней области белка MSH6 человека. Антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) связываются с белком MSH6 в срезах тканей FFPE. Антитело можно локализовать с использованием гаптенированного вторичного антитела и последующей обработки мультимерным конъюгатом антигаптен-HRP (набор для детекции OptiView DAB IHC Detection Kit). Далее специфический комплекс антитело-фермент визуализируется по выпадающему в осадок продукту ферментативной реакции. На каждом этапе выполняется инкубация в течение определенного времени и с заданной температурой. В конце каждого этапа инкубации прибор BenchMark IHC/ISH ополаскивает срезы, чтобы остановить реакцию и удалить несвязанный материал, который будет препятствовать желаемой реакции на последующих этапах. Это также применяется к ULTRA LCS (Predilute) или LCS (Predilute), который минимизирует испарение реагентов на водной основе с предметного стекла с образцом.

Помимо окрашивания антителами VENTANA anti-MSH6 (SP93), следует окрасить еще одно предметное стекло реагентом кроличьих моноклональных антител отрицательного контроля Rabbit Monoclonal Negative Control Ig. Реагент отрицательного контроля используют для оценки фонового окрашивания.

## МАТЕРИАЛЫ, ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

В комплект поставки антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) входит реагент в количестве, достаточном для проведения 50 тестов.

Один диспенсер объемом 5 мл с антителами VENTANA anti-MSH6 (SP93) содержит приблизительно 5 мкг кроличьих моноклональных антител.

Антитела разведены в Tris-HCl с белком-носителем и 0.10 % ProClin 300 в качестве консерванта.

Концентрация специфических антител составляет приблизительно 1 µg/mL. Неспецифической реактивности антител у данного продукта не обнаружено.

Антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) это рекомбинантные кроличьи моноклональные антитела, полученные в форме очищенного супернатанта, выделенного из клеточной культуры.

Для получения подробных инструкций по интерпретации окрашивания панели VENTANA MMR RxDx Panel или VENTANA MMR IHC Panel при определенных показаниях обратитесь к соответствующему руководству по интерпретации:

- Руководство по интерпретации результатов панели VENTANA MMR RxDx Panel для выявления карциномы EC (№ по каталогу 1020315EN)

- Руководство по интерпретации результатов окрашивания ткани толстой и прямой кишки для панели VENTANA MMR IHC Panel (№ по каталогу 1016703EN)

В соответствующей инструкции по применению, прилагаемой к набору для детекции VENTANA, приведена подробная информация о следующем: принцип использования; материал и методы; отбор образцов и подготовка к анализу; процедуры контроля качества; поиск и устранение неисправностей; интерпретация результатов; ограничения.

## НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ

В комплект поставки не входят реагенты для окрашивания, в частности наборы для детекции VENTANA и вспомогательные компоненты, включая предметные стекла с отрицательным и положительным тканевыми контролями.

Продукты, перечисленные в технологической карте процесса, могут быть недоступны в некоторых странах. Проконсультируйтесь с представителем региональной службы поддержки.

Для окрашивания могут потребоваться следующие реагенты и материалы, не входящие в комплект поставки:

1. рекомендованная контрольная ткань;
2. мышинное моноклональное антитело VENTANA anti-MLH1 (M1) Mouse Monoclonal Primary Antibody (№ по каталогу 760-5091 / 08033668001);
3. мышинное моноклональное антитело VENTANA anti-PMS2 (A16-4) Mouse Monoclonal Primary Antibody (№ по каталогу 760-5094 / 08033692001);
4. VENTANA anti-MSH2 (G219-1129) Mouse Monoclonal Primary Antibody (№ по каталогу 760-5093 / 08033684001);
5. Только для панели VENTANA MMR IHC Panel, VENTANA anti-BRAF V600E (VE1) Mouse Monoclonal Primary Antibody (№ по каталогу 760-5095 / 08033706001);
6. Negative Control (Monoclonal) (№ по каталогу 760-2014 / 05266670001);
7. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (№ по каталогу 790-4795 / 06683380001);
8. предметные стекла для микроскопа с положительным зарядом;
9. OptiView DAB IHC Detection Kit (№ по каталогу 760-700 / 06396500001);
10. Только для мышинного моноклонального антитела VENTANA anti-PMS2 (A16-4) Mouse Monoclonal Primary Antibody, набор для амплификации OptiView Amplification Kit (№ по каталогу 760-099 / 06396518001 или № по каталогу 860-099 / 06718663001);
11. EZ Prep Concentrate (10X) (№ по каталогу 950-102 / 05279771001);
12. Reaction Buffer Concentrate (10X) (№ по каталогу 950-300 / 05353955001);
13. ULTRA LCS (Predilute) (№ по каталогу 650-210 / 05424534001);
14. LCS (Predilute) (№ по каталогу 650-010 / 05264839001);
15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (№ по каталогу 950-224 / 05424569001);
16. Cell Conditioning Solution (CC1) (№ по каталогу 950-124 / 05279801001);
17. Hematoxylin II (№ по каталогу 790-2208 / 05277965001);
18. Bluing Reagent (№ по каталогу 760-2037 / 05266769001);
19. постоянная заливочная среда;
20. покровное стекло;
21. автоматическое приспособление для накрывания предметных стекол покровным стеклом;
22. лабораторное оборудование общего назначения;
23. прибор BenchMark IHC/ISH.

## ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

После получения продукта и пока он не используется, его следует хранить при температуре 2–8 °C. Не замораживать.

Чтобы обеспечить надлежащую доставку реагента и стабильность антитела, после каждого использования необходимо заменять колпачок диспенсера. Диспенсер следует немедленно ставить в холодильник в вертикальном положении.

На каждом диспенсере антител указан срок годности. При соблюдении условий хранения реагент остается стабильным до даты, указанной на этикетке. Не использовать реагент после истечения срока годности.

## ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

При использовании наборов для детекции VENTANA и приборов BenchMark IHC/ISH данное первичное антитело можно использовать со стандартно обработанными, фиксированными формалином и залитыми в парафин (FFPE) тканями. Ткань следует зафиксировать сразу после иссечения для использования с антителами VENTANA MMR RxDx Panel или VENTANA MMR IHC Panel. Было показано, что задержка в фиксации более 6 часов отрицательно влияет на интенсивность окрашивания ткани. Рекомендуется фиксация ткани в нейтральном забуференном формалине 10 % (NBF) в течение не менее 6 часов и не более 72 часов. Продолжительность фиксации менее 6 часов и более 72 часов может привести к потере окрашивания на MSH6. Фиксатор NBF следует использовать в количестве, в 15–20 раз превышающем объем ткани. За 24-часовой период фиксатор способен проникнуть на глубину не более 2–3 мм плотной ткани или 5 мм пористой ткани. Фиксацию можно проводить при комнатной температуре (15–25 °C).<sup>40,41</sup>

Такие фиксаторы, как цинк-формалин, Z-5, 95 % спирт, смесь этилового спирта, формалина, уксусной кислоты (AFA) и фиксатор PREFER, продемонстрировали слабое или непостоянное окрашивание; их не рекомендуется использовать для данного анализа. Пользователи, допускающие отклонения от указанной процедуры подготовки образцов, должны принимать на себя всю ответственность за интерпретацию результатов пациента.

Следует делать срезы толщиной 4 мкм и помещать их на положительно заряженные предметные стекла. Валидация применения срезов другой толщины не проводилась. Микропрепараты на предметных стеклах следует окрашивать немедленно после их приготовления, поскольку антигенность срезов может снижаться со временем, а по прошествии 45 дней после получения среза с блока FFPE ткани могут исчезать совсем. Для получения дополнительной информации обратитесь к представителю компании Roche за копией документа «Recommended Slide Storage and Handling».

Одновременно с исследованием неизвестных образцов рекомендуется провести исследование на положительном и отрицательном контролях.

## ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Для диагностики in vitro (IVD).
2. Только для профессионального использования.
3. Не использовать для проведения количества тестов, превышающего указанное.
4. В данном реагенте в качестве консерванта используется раствор ProClin 300. Он относится к веществам раздражающего действия и при контакте с кожей может стать причиной раздражения. При обращении соблюдать разумные меры предосторожности. Избегайте попадания реагентов в глаза, на кожу и слизистые оболочки. Используйте защитную одежду и перчатки.
5. Предметные стекла с положительным зарядом могут быть чувствительными к воздействию факторов окружающей среды, что ведет к некорректному окрашиванию. Обратитесь в представительство компании Roche для получения более подробной информации об использовании предметных стекол данного типа.
6. Материалы животного или человеческого происхождения должны рассматриваться как биологически опасные и утилизироваться с соблюдением надлежащих мер предосторожности. В случае контакта с ними необходимо следовать руководящим указаниям ответственных здравоохранительных органов.<sup>42,43</sup>
7. Избегайте контакта реагентов с глазами и слизистыми оболочками. При попадании реагентов на чувствительные участки промойте пораженные участки достаточным количеством воды.
8. Не допускайте микробного загрязнения реагентов, поскольку это может привести к получению ошибочных результатов.
9. Более подробную информацию по использованию изделия см. в руководстве пользователя прибора BenchMark IHC/ISH и инструкциях по применению всех необходимых компонентов на веб-сайт [navifyportal.roche.com](http://navifyportal.roche.com).
10. Проконсультируйтесь с местными и (или) государственными компетентными органами в отношении рекомендуемого способа утилизации.
11. Маркировка безопасности продукции в первую очередь соответствует директивам EU GHS. Паспорт безопасности предоставляется профессиональному пользователю по запросу.
12. Чтобы сообщить о подозрениях на серьезные происшествя, связанные с данным изделием, обращайтесь в местное представительство компании

Roche и в уполномоченный орган государства-участника или страны местонахождения пользователя.

Данный продукт содержит компоненты, классифицированные согласно регламенту (ЕС) № 1272/2008 следующим образом.

Табл. 2. Информация об опасности.

| Опасность | Код         | Заявление  |
|-----------|-------------|--|
|           | H317        | Может вызывать аллергическую кожную реакцию.   |
|           | H412        | Вредно для водной флоры и фауны с долговременными эффектами.                           |
|           | P261        | Избегать вдыхания взвеси или паров.  |
|           | P273        | Избегать попадания в окружающую среду.   |
|           | P280        | Надевать защитные перчатки.  |
|           | P333 + P313 | Если происходит раздражение кожи или появление сыпи: обратиться к врачу.               |
|           | P362 + P364 | Снять загрязненную одежду и промыть ее перед повторным использованием.                 |
|           | P501        | Утилизировать содержимое/контейнер на утвержденных предприятиях по утилизации отходов. |

Данный продукт содержит реакционную массу 5-хлор-2-метил-2Н-изотиазол-3-она и 2-метил-2Н-изотиазол-3-она (3 : 1), внесенную в реестр CAS под № 55965-84-9.

**ПРОЦЕДУРА ОКРАШИВАНИЯ**

Антитело VENTANA anti-MSH6 (SP93) разработано как продукт, готовый к применению на приборе BenchMark IHC/ISH в сочетании с набором для детекции OptiView DAB IHC Detection Kit и дополнительными реагентами. Рекомендуемый протокол окрашивания для панели VENTANA MMR RxDx Panel см. в Табл. 3, а рекомендуемый протокол окрашивания для панели VENTANA MMR IHC Panel — в Табл. 4.

Данное антитело оптимизировано для инкубации в течение конкретных периодов времени, однако пользователю необходимо провести валидацию результатов, полученных с использованием данного реагента. Изменение продолжительности и температуры извлечения антигена (кондиционирование клеток) и инкубации антител относительно значений, рекомендованных в протоколе окрашивания в Табл. 3 или Табл. 4, может привести к неоптимальному окрашиванию и ложному заключению о дефицитности или полносоставности системы. Настоятельно рекомендуется не отклоняться от рекомендуемого протокола окрашивания, приведенного в Табл. 3 или Табл. 4. Следует использовать надлежащие контрольные образцы и документировать их использование. Пользователи, допускающие отклонения от приведенного протокола, должны принимать на себя всю ответственность за интерпретацию результатов пациента.

Параметры автоматических процедур могут быть отображены на экране, напечатаны и отредактированы согласно процедуре, описанной в руководстве пользователя, прилагаемом к соответствующему прибору. См. в технологической карте процесса, прилагаемой к набору для детекции VENTANA, подробную информацию о процедурах окрашивания при использовании методики IHC.

Подробная информация по надлежащему использованию данного изделия представлена в инструкции по применению для поточного диспенсера с номером по каталогу 760-5092.

Табл. 3. Рекомендуемый протокол окрашивания с использованием антител VENTANA anti-MSH6 (SP93) и Rabbit Monoclonal Negative Control Ig with OptiView DAB IHC Detection Kit с набором для детекции на приборах BenchMark IHC/ISH для панели VENTANA MMR RxDx Panel.

| Тип процедуры  | Метод  |  |  |
|--|--|--|--|
|  | GX   | XT   | ULTRA или ULTRA PLUS <sup>[a]</sup>  |
| Окрашивание Процедура                                    | GX MMR Panel   | XT MMR Panel   | ULTRA MMR Panel  |
| Антитело (первичное)                                     | Выбран кроличье моноклональное антитело anti-MSH6 Rabbit Mono Ab или Выбран отрицательный контроль | Выбран кроличье моноклональное антитело anti-MSH6 Rabbit Mono Ab или Выбран отрицательный контроль | Выбран кроличье моноклональное антитело anti-MSH6 Rabbit Mono Ab или Выбран отрицательный контроль |
| Депарафинизация  | Выбрано  | Выбрано  | Выбрано  |
| Кондиционирование клеток (демаскирование антигена)       | CC1, 64 мин, 100 °C  | CC1, 64 мин, 100 °C  | ULTRA CC1, 64 мин, 100 °C  |
| Ингибитор пероксидазы, используемый до первичных антител | Выбрано  | Выбрано  | Выбрано  |
| Антитело (первичное)                                     | 12 мин, 37 °C  | 12 мин, 37 °C  | 12 мин, 36 °C  |
| OptiView HQ Linker                                       | 8 мин (по умолчанию)   |  |  |
| OptiView HRP Multimer                                    | 8 мин (по умолчанию)   |  |  |
| Контрастное окрашивание                                  | Hematoxylin II, 4 мин  |  |  |
| Обработка после контрастного окрашивания                 | Bluing, 4 мин  |  |  |

<sup>[a]</sup> Была продемонстрирована конкордантность между приборами BenchMark ULTRA и BenchMark ULTRA PLUS методом репрезентативного анализа.

Примечание. Любое отклонение от рекомендованных методик проведения теста может привести к получению недостоверных результатов. Необходимо использовать надлежащие контрольные образцы и документировать их использование. Пользователи, не соблюдающие рекомендованные методики выполнения теста, обязаны принимать на себя ответственность за интерпретацию результатов, полученных у пациента.

**Табл. 4.** Рекомендуемый протокол окрашивания с использованием антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) и Rabbit Monoclonal Negative Control Ig с набором для детекции OptiView DAB IHC Detection Kit на приборе BenchMark IHC/ISH для панели VENTANA MMR IHC Panel.

| Тип процедуры   | Метод  |  |  |
|---|--|--|--|
|   | GX   | XT   | ULTRA или ULTRA PLUS <sup>[a]</sup>  |
| <b>Окрашивание Процедура</b>                                    | BMK OptiView DAB IHC Par <sup>[b]</sup>  | XT OptiView DAB IHC <sup>[c]</sup>   | U OptiView DAB IHC <sup>[d]</sup>  |
| <b>Антитело (первичное)</b>                                     | Выбрано кроличье моноклонально е антитело anti-MSH6 Rabbit Mono Ab или Выбран отрицательный контроль | Выбрано кроличье моноклонально е антитело anti-MSH6 Rabbit Mono Ab или Выбран отрицательный контроль | Выбрано кроличье моноклонально е антитело anti-MSH6 Rabbit Mono Ab или Выбран отрицательный контроль |
| <b>Депарафинизация</b>  | Выбрано  | Выбрано  | Выбрано  |
| <b>Кондиционировани е клеток (демаскирование антигена)</b>      | CC1, 64 мин, 100 °C  | CC1, 64 мин, 100 °C  | ULTRA CC1, 64 мин, 100 °C  |
| <b>Ингибитор пероксидазы, используемый до первичных антител</b> | Выбрано  | Выбрано  | Выбрано  |
| <b>Антитело (первичное)</b>                                     | 12 мин, 37 °C  | 12 мин, 37 °C  | 12 мин, 36 °C  |
| <b>OptiView HQ Linker</b>                                       | 8 мин (по умолчанию)   |  |  |
| <b>OptiView HRP Multimer</b>                                    | 8 мин (по умолчанию)   |  |  |
| <b>Контрастное окрашивание</b>                                  | Hematoxylin II, 4 мин  |  |  |
| <b>Обработка после контрастного окрашивания</b>                 | Bluing, 4 мин  |  |  |

<sup>[a]</sup> Была продемонстрирована конкордантность между приборами BenchMark ULTRA и BenchMark ULTRA PLUS методом репрезентативного анализа.

<sup>[b]</sup> Пользователи имеют возможность использовать процедуру окрашивания GX MMR Panel.

<sup>[c]</sup> Пользователи имеют возможность использовать процедуру окрашивания XT MMR Panel.

<sup>[d]</sup> Пользователи имеют возможность использовать процедуру окрашивания ULTRA MMR Panel.

Примечание. Любое отклонение от рекомендованных методик проведения теста может привести к получению недостоверных результатов. Необходимо использовать надлежащие контрольные образцы и документировать их использование. Пользователи, не соблюдающие рекомендованные методики выполнения теста, обязаны принимать на себя ответственность за интерпретацию результатов, полученных у пациента.

### ВНУТРЕННИЕ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ КОНТРОЛИ

Элементы нормальной ткани (например, лимфоциты, фибробласты или нормальный эпителий) в непосредственной близости от опухоли будут служить в

качестве внутреннего положительного контроля. Однозначное ядерное окрашивание этих клеток валидирует цикл окрашивания. Если не наблюдается надлежащего окрашивания внутренних положительных контролей, результаты окрашивания исследуемых образцов теста следует считать недействительными.

### РЕАГЕНТ ОТРИЦАТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЯ

Реагент отрицательного контроля необходимо использовать для окрашивания одного из соседних срезов образца ткани пациента на отдельном предметном стекле, отличном от предметного стекла с микропрепаратом, окрашенным антителами VENTANA anti-MSH6 (SP93). Реагент отрицательного контроля кроличьего моноклонального антитела (Rabbit Monoclonal Negative Control Ig) рекомендован для использования в качестве первичного антитела для оценки неспецифического окрашивания. Параметры окрашивания с реагентом антител отрицательного контроля должны быть идентичны параметрам окрашивания первичным антителом.

### ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ ТКАНЕВЫЙ КОНТРОЛЬ

При выполнении каждой процедуры окрашивания необходимо проводить анализ положительного тканевого контроля. Оптимальная лабораторная практика — помещение среза для положительного контроля на одно предметное стекло с образцом ткани пациента. Это позволяет распознать случаи, когда реагенты нанесены на предметное стекло неправильно. Для контроля качества лучше всего подойдет образец ткани, в норме показывающий слабое положительное окрашивание. Компоненты положительного окрашивания тканей используются для подтверждения того, что антитело было нанесено и что прибор работает надлежащим образом. Контрольный образец ткани может содержать элементы как положительного, так и отрицательного окрашивания и использоваться как положительная или отрицательная контрольная проба. В качестве контролей следует использовать свежий образец тканей, полученный при вскрытии, биопсии или в ходе хирургических операций. Образец следует как можно скорее подготовить или зафиксировать точно таким же способом как и исследуемые образцы. С помощью таких тканевых контролей можно осуществлять мониторинг всех этапов процедуры от приготовления образцов тканей до окрашивания. Использование срезов тканей, фиксированных или обработанных иначе, чем исследуемый образец, позволяет осуществлять контроль для всех реагентов и этапов методики, за исключением фиксации и обработки тканей.

Заведомо положительные тканевые контроли следует использовать только для контроля правильности работы с обработанными тканями и аналитическими реагентами теста, а не в качестве вспомогательного средства при постановке конкретного диагноза на основании образцов пациента. Если не наблюдается положительного окрашивания положительных тканевых контролей, результаты окрашивания исследуемых образцов в тесте следует считать недействительными.

В качестве положительного тканевого контроля можно использовать ткани CRC или EC с клиническим статусом Сохраненного MSH6 или ткани нормальной толстой кишки или нормальной эндометрия, предварительно аттестованные с помощью антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93). При окрашивании ткани нормальной толстой кишки или нормальной эндометрия антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) она будет иметь статус сохранения экспрессии MSH6. Положительный тканевый контроль должен проявлять явное ядерное окрашивание жизнеспособных опухолевых клеток, в присутствии внутреннего положительного контроля (ядерное окрашивание лимфоцитов, фибробластов или нормального эпителия вблизи клеток опухоли).

### ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ ТКАНЕВЫЙ КОНТРОЛЬ

Поскольку белки MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6 экспрессируются во всех тканях, нормальный отрицательный тканевой контроль для этих биомаркеров не существует. Однако в качестве отрицательного тканевого контроля можно использовать ткани CRC или EC с клиническим статусом потери экспрессии MSH6, предварительно аттестованные с помощью антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93). Отрицательный тканевый контроль следует использовать только для контроля правильности рабочих характеристик обрабатываемых тканей, реагентов для теста и приборов, а не в качестве вспомогательного средства при постановке конкретного диагноза по исследуемым образцам пациентов.

### ВЕРИФИКАЦИЯ АНАЛИЗА

Перед первым использованием антитела или системы окрашивания в диагностических целях, специфичность антител должна быть подтверждена испытанием на серии образцов тканей с известными рабочими характеристиками

IHC, имеющими клинический статус сохраненной экспрессии белка MSH6. (См. «Процедуры контроля качества», описанные выше в этом разделе вкладыша продукта, и рекомендации по контролю качества College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist<sup>44</sup> или CLSI Approved Guideline<sup>45</sup>).

**ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ОКРАШИВАНИЯ/ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ**

Характер окрашивания активно пролиферирующих клеток антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) — ядерный. Клинический статус образцов ткани опухоли, окрашенных антителами VENTANA anti-MSH6 (SP93), должен определять обученный врач-патологоанатом, опираясь на собственную оценку присутствия или отсутствия специфического ядерного окрашивания в опухоли. Клинический статус сохранения присваивается случаям с однозначным ядерным окрашиванием в жизнеспособных опухолевых клетках при наличии приемлемых внутренних положительных контролей (ядерное окрашивание в лимфоцитах, фибробластах или нормальном эпителии вблизи опухоли). Клинический статус потери экспрессии присваивается случаям с однозначной потерей ядерного окрашивания или очаговым слабым неоднозначным ядерным окрашиванием в жизнеспособных опухолевых клетках при наличии внутренних положительных контролей, как показано в Табл. 5.

Если во внутренних положительных контролях отсутствует однозначное ядерное окрашивание и (или) фоновое окрашивание мешает интерпретации, то результаты следует считать неприемлемыми, а анализ — повторить. Точечное ядерное окрашивание клеток опухоли должно рассматриваться как отрицательный результат (Потеря). В случаях очагового окрашивания опухолевых клеток, некоторые образцы могут иметь очаговое окрашивание клеток опухоли, различающееся по интенсивности от слабого до сильного. В соответствии с алгоритмом оценки панели VENTANA MMR RxDx Panel, слабое неоднозначное очаговое ядерное окрашивание жизнеспособных опухолевых клеток в присутствии внутренних положительных контролей оценивается как клинический статус потери экспрессии. С другой стороны, очаговое сильное однозначное ядерное окрашивание в жизнеспособных опухолевых клетках в присутствии внутренних положительных контролей должно получить клинический статус сохранения экспрессии.

Табл. 5. Интерпретация окрашивания антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93).

| Клинический статус          | Описание  |
|-----------------------------|---|
| Сохранность экспрессии MSH6 | Однозначное ядерное окрашивание жизнеспособных опухолевых клеток в присутствии приемлемых внутренних положительных контролей (т. е., ядерное окрашивание лимфоцитов, фибробластов или нормального эпителия вблизи опухоли).   |
| Потеря экспрессии MSH6      | Однозначное отсутствие ядерного окрашивания или слабое очаговое сомнительное ядерное окрашивание жизнеспособных опухолевых клеток в присутствии приемлемых внутренних положительных контролей. Точечное ядерное окрашивание клеток опухоли будет рассматриваться как отрицательный результат. |

На основании присутствия или отсутствия специфического окрашивания опухоли антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) отдельные случаи относят к категориям Сохранности или Потери экспрессии.

Интерпретация общего статуса MMR на уровне панели представлена ниже в Табл. 6.

Табл. 6. Интерпретация окрашивания для VENTANA MMR RxDx Panel и VENTANA MMR IHC Panel.

| Полносоставный (Отрицательный)  | Дефицитный (Положительный)  |
|---|---|
| Показано сохранение экспрессии всех 4 маркеров в панели (белки MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6) | Показана потеря экспрессии хотя бы 1 маркера в панели (белки MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6) |

**ОСОБЫЕ ОГРАНИЧЕНИЯ**

Отклонение от рекомендованных условий на этапе демаскирования антигена, указанных в приведенном протоколе, может стать причиной недействительности

ожидаемых результатов. Следует применять надлежащие контрольные образцы и документировать их использование. Пользователи, допускающие отклонения от приведенного протокола, должны принимать на себя всю ответственность за интерпретацию результатов пациента.

Антитело VENTANA anti-MSH6 (SP93) разрешено исключительно для использования на приборах BenchMark IHC/ISH с набором для детекции OptiView DAB IHC Detection Kit; его использование с любыми другими методами детекции или автоматическими приборами для окрашивания тканей не разрешается.

Некоторые случаи могут быть особенно сложными ввиду перечисленных ниже проблем.

- **Неспецифическое фоновое окрашивание:** некоторые образцы могут демонстрировать неспецифическое фоновое окрашивание, причины которого не вполне понятны. В связи с этим, оценка предметного стекла, окрашенного антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93), должна включать в себя сравнение с предметным стеклом, окрашенным реагентом отрицательного контроля, с целью оценки уровня неспецифического фонового окрашивания. При интерпретации результатов IHC с использованием антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) следует игнорировать цитоплазматическое окрашивание, если оно присутствует.
- **Очаговое окрашивание:** Некоторые образцы могут демонстрировать очаговое окрашивание опухолевых клеток, различающееся по интенсивности окрашивания от слабого до сильного. На основании алгоритма оценки окрашивания антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) методом IHC, очаговое слабое сомнительное ядерное окрашивание жизнеспособных клеток опухоли в присутствии внутреннего положительного контроля с приемлемым окрашиванием должно расцениваться как потеря экспрессии.
- **Точечное окрашивание:** в некоторых образцах может наблюдаться дискретное точечное окрашивание в пределах нескольких ядер опухоли, различающееся по интенсивности окрашивания от слабого до сильного. Данный характер окрашивания необходимо игнорировать. Если присутствует только этот характер окрашивания, присваивается клинический статус потери экспрессии.
- **Зернистость:** в отличие от точечного окрашивания, зернистость имеет более мелкий, более детальный вид и может быть очаговой или возникать во многих опухолевых клетках. Этот характер окрашивания, если он наблюдается в ядрах опухолевых клеток, следует игнорировать, а предметному стеклу присвоить клинический статус потери экспрессии.
- **Артефакты ткани или окрашивания:** Гистологические артефакты, являющиеся результатом обработки и микротомирования, также могут затруднять определение клинического статуса с помощью антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) методом IHC. К таким артефактам могут относиться, помимо прочего, градиенты фиксации и краевые эффекты, захват DAB, пузырьки в ядрах, недостаточное окрашивание в некоторых областях ткани, наличие разрывов или складок на ткани и утрата среза ткани. В некоторых случаях может потребоваться повторение окрашивания на новых срезах тканей или получение нового образца.

Анализы могут регистрироваться не на каждом приборе. Для получения дополнительной информации обратитесь в местное представительство компании Roche.

**РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ VENTANA MMR RxDX PANEL**

**АНАЛИТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ**

Были проведены тесты окрашивания на чувствительность, специфичность, повторяемость и промежуточную прецизионность, а также тесты на точность эксперта, межлабораторную воспроизводимость и клинические исходы, результаты которых перечислены в следующем разделе.

**Чувствительность и специфичность**

Аналитическая чувствительность при использовании по назначению оценивалась путем определения распространенности dMMR в образцах ткани карциномы эндометрия. Общая распространенность дефицита MMR в образцах ткани карциномы эндометрия составила 22.5 %, что коррелирует с распространенностью dMMR, указанной для карциномы эндометрия в литературных источниках.<sup>46</sup>

Аналитическая специфичность определялась путем окрашивания ряда нормальных и опухолевых тканей человека антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93). Результаты представлены в Табл. 7 и Табл. 8. Положительным окрашиванием является

окрашивание ядер, если не указано иное. При использовании антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) для окрашивания здоровых и опухолевых тканей неожиданного окрашивания не наблюдали. В соответствии с ожиданием, поскольку MMR присутствует во всех активно пролиферирующих клетках, все здоровые и опухолевые ткани демонстрируют положительное окрашивание.

**Табл. 7.** Специфичность окрашивания антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) определялась путем окрашивания нормальных фиксированных формалином и залитых в парафин (FFPE) тканей.

| Ткань           | Количество положительных случаев / общее кол-во случаев | Ткань                 | Количество положительных случаев / общее кол-во случаев |
|-----------------|---|-----------------------|---|
| Надпочечник     | 3/3   | Легкое                | 4/4   |
| Мочевой пузырь  | 3/3   | Лимфоузел             | 3/3   |
| Костный мозг    | 3/3   | Мезотелий             | 3/3   |
| Яичник          | 5/5   | Поджелудочная железа  | 3/3   |
| Молочная железа | 3/3   | Паращитовидная железа | 3/3   |
| Мозжечок        | 3/3   | Периферический нерв   | 5/5   |
| Конечный мозг   | 3/3   | Предстательная железа | 3/3   |
| Шейка матки     | 3/3   | Скелетная мускулатура | 3/3   |
| Толстая кишка   | 3/3   | Кожа                  | 3/3   |
| Эндо метрий     | 2/3   | Селезенка             | 3/3   |
| Пищевод         | 3/3   | Желудок               | 3/3   |
| Сердце          | 3/3   | Яичко                 | 3/3   |
| Гипофиз         | 3/3   | Тимус                 | 3/3   |
| Кишечник        | 3/3   | Щитовидная железа     | 4/4   |
| Почка           | 3/3   | Язык/слюнная железа   | 3/3   |
| Печень          | 3/3   | Миндалины             | 3/3   |

Примечание. Белки MMR, в том числе MSH6, присутствуют во всех активно пролиферирующих клетках. Для всех тканей положительное или отрицательное окрашивание определяли для тканеспецифичных элементов в присутствии положительного окрашивания здоровых контрольных клеток (лимфоциты, фибробласты и эпителиальные клетки).

**Табл. 8.** Специфичность окрашивания антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) определялась путем окрашивания набора FFPE опухолевых тканей.

| Патология                         | Количество положительных случаев / общее кол-во случаев |
|-----------------------------------|---|
| Глиобластома (головной мозг)      | 1/1   |
| Менингиома (головной мозг)        | 1/1   |
| Эпендимомы (головной мозг)        | 1/1   |
| Олигодендроглиома (головной мозг) | 1/1   |
| Серозная аденокарцинома (яичники) | 1/1   |

| Патология  | Количество положительных случаев / общее кол-во случаев |
|--|---|
| Аденокарцинома (яичники)   | 1/1   |
| Аденокарцинома (поджелудочная железа)  | 1/1   |
| Нейроэндокринное новообразование поджелудочной железы (поджелудочная железа) | 1/1   |
| Семинома (яички)   | 2/2   |
| Медуллярная карцинома (щитовидная железа)                                    | 1/1   |
| Папиллярная карцинома (щитовидная железа)                                    | 1/1   |
| Протоковая карцинома in situ (молочная железа)                               | 1/1   |
| Микроинвазивная протоковая карцинома (молочная железа)                       | 1/1   |
| Инвазивная протоковая карцинома (молочная железа)                            | 1/1   |
| В-клеточная лимфома; NOS (селезенка)   | 1/1   |
| Мелкоклеточная карцинома (легкое)  | 1/1   |
| Плоскоклеточная карцинома (легкое)   | 1/1   |
| Аденокарцинома (легкое)  | 1/1   |
| Нейроэндокринная карцинома (пищевод)   | 1/1   |
| Аденокарцинома (пищевод)   | 1/1   |
| Перстневидноклеточная карцинома (желудок)                                    | 1/1   |
| Аденокарцинома (тонкая кишка)  | 1/1   |
| Стромальная саркома (тонкий кишечник)  | 1/1   |
| Аденокарцинома (толстая кишка)   | 1/1   |
| Аденокарцинома (прямая кишка)  | 1/1   |
| Стромальная опухоль желудочно-кишечного тракта (GIST) (прямая кишка)         | 1/1   |
| Гепатоцеллюлярная карцинома (печень)   | 1/1   |
| Гепатобластома (печень)  | 1/1   |
| Светлоклеточная карцинома (почки)  | 1/1   |
| Аденокарцинома (предстательная железа)                                       | 2/2   |
| Аденокарцинома (матка)   | 1/1   |
| Светлоклеточная карцинома (эндометрий)                                       | 1/1   |
| Плоскоклеточная карцинома (шейка матки)                                      | 2/2   |
| Эмбриональная рабдомиосаркома (поперечно-полосатая мускулатура)              | 1/1   |
| Плоскоклеточная карцинома (кожа)   | 1/1   |
| Нейробластома (забрюшинное пространство)                                     | 1/1   |
| Мезотелиома (брюшина)  | 1/1   |
| В-клеточная лимфома; NOS (лимфоузел)   | 2/2   |
| Лимфома Ходжкина (лимфоузел)   | 1/1   |
| Диффузная анапластическая крупноклеточная лимфома                            | 1/1   |
| Лейомиосаркома (мочевой пузырь)  | 1/1   |
| Остеосаркома   | 1/1   |

| Патология                                    | Количество положительных случаев / общее кол-во случаев |
|--|---|
| Веретеночклеточная рабдомиосаркома (брюшина) | 1/1   |
| Лейомиосаркома (гладкая мускулатура)         | 1/1   |

Примечание. Белки MMR, в том числе MSH6, присутствуют во всех активно пролиферирующих клетках. Для всех тканей положительное или отрицательное окрашивание опухолевых клеток определяли в присутствии положительного окрашивания здоровых контрольных клеток (лимфоциты, фибробласты и эпителиальные клетки).

**Прецизионность – VENTANA MMR RxDx Panel**

**Исследования повторяемости и промежуточной прецизионности — исследование на уровне маркера**

В настоящем исследовании проводилась оценка двадцати восьми случаев (15 случаев сохранения экспрессии и 13 случаев потери экспрессии) из различных тканей солидных опухолей FFPE, включая 6 случаев (3 случая сохранения экспрессии и 3 случая потери экспрессии) карциномы эндометрия. План исследования позволял верифицировать прецизионность окрашивания опухолевых тканей, окрашенных антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93).

- Три партии anti-MSH6 (SP93) (между партиями антител)
- Три партии наборов для детекции OptiView DAB IHC Detection Kit (между наборами для детекции)
- Три прибора BenchMark ULTRA (между приборами)
- За 3 дня (между днями)
- Во всех условиях анализа промежуточной прецизионности (в рамках одного цикла)

Каждому случаю был назначен один режим, основанный на образцах, агрегированных для каждого условия теста между партиями антител, между партиями наборов для детекции, между приборами и между испытаниями в разные дни. Для условия в рамках одного цикла каждый случай сравнивали с его дубликатами образцов, исследованными в этом цикле теста. Все предметные стекла были маскированы и рандомизированы, а затем оценены с использованием алгоритма интерпретации окрашивания для антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) (Табл. 5). Результаты представлены в Табл. 9 для тканей карциномы эндометрия и в Табл. 10 для ряда случаев с разными солидными опухолями, включая карциному эндометрия.

**Табл. 9.** Повторяемость и промежуточная прецизионность при использовании антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93), измеренные по результатам оценки клинического статуса MSH6 (сохранение/потеря экспрессии) ткани карциномы эндометрия.

| Повторяемость/ Прецизионность     | Процент совпадения |       |       |               |
|-----------------------------------|--------------------|-------|-------|---------------|
|                                   | Тип                | n/N   | %     | 95 % CI       |
| Между партиями антитела           | PPA                | 18/18 | 100.0 | (82.4, 100.0) |
|                                   | NPA                | 18/18 | 100.0 | (82.4, 100.0) |
|                                   | OPA                | 36/36 | 100.0 | (90.4, 100.0) |
| Между наборами для детекции       | PPA                | 18/18 | 100.0 | (82.4, 100.0) |
|                                   | NPA                | 18/18 | 100.0 | (82.4, 100.0) |
|                                   | OPA                | 36/36 | 100.0 | (90.4, 100.0) |
| Между приборами (BenchMark ULTRA) | PPA                | 18/18 | 100.0 | (82.4, 100.0) |
|                                   | NPA                | 18/18 | 100.0 | (82.4, 100.0) |
|                                   | OPA                | 36/36 | 100.0 | (90.4, 100.0) |

| Повторяемость/ Прецизионность | Процент совпадения |       |       |               |
|-------------------------------|--------------------|-------|-------|---------------|
|                               | Тип                | n/N   | %     | 95 % CI       |
| Между днями                   | PPA                | 18/18 | 100.0 | (82.4, 100.0) |
|                               | NPA                | 18/18 | 100.0 | (82.4, 100.0) |
|                               | OPA                | 36/36 | 100.0 | (90.4, 100.0) |
| В рамках одного цикла         | PPA                | 27/27 | 100.0 | (87.5, 100.0) |
|                               | NPA                | 27/27 | 100.0 | (87.5, 100.0) |
|                               | OPA                | 54/54 | 100.0 | (93.4, 100.0) |

Примечание. Процент совпадения положительных результатов (PPA), процент совпадения отрицательных результатов (NPA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Значение двухсторонних 95 % доверительных интервалов (CI) было рассчитано с использованием метода многократной генерации процентилей на основе 2000 бутстреп-выборок. Доверительные интервалы для 100 % PPA, NPA и OPA были рассчитаны при помощи метода оценки Уилсона.

Примечание. Для целей настоящего анализа соответствия статус маркера «Сохранение экспрессии» считается отрицательным, а статус маркера «Потеря экспрессии» — положительным.

**Табл. 10.** Повторяемость и промежуточная прецизионность при использовании антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93), измеренные по результатам оценки клинического статуса MSH6 (сохранение/потеря экспрессии) различных тканей солидных опухолей, включая карциному эндометрия.

| Повторяемость/ Прецизионность     | Процент совпадения |         |       |               |
|-----------------------------------|--------------------|---------|-------|---------------|
|                                   | Тип                | n/N     | %     | 95 % CI       |
| Между партиями антитела           | PPA                | 78/78   | 100.0 | (95.3, 100.0) |
|                                   | NPA                | 90/90   | 100.0 | (95.9, 100.0) |
|                                   | OPA                | 168/168 | 100.0 | (97.8, 100.0) |
| Между наборами для детекции       | PPA                | 78/78   | 100.0 | (95.3, 100.0) |
|                                   | NPA                | 90/90   | 100.0 | (95.9, 100.0) |
|                                   | OPA                | 168/168 | 100.0 | (97.8, 100.0) |
| Между приборами (BenchMark ULTRA) | PPA                | 78/78   | 100.0 | (95.3, 100.0) |
|                                   | NPA                | 90/90   | 100.0 | (95.9, 100.0) |
|                                   | OPA                | 168/168 | 100.0 | (97.8, 100.0) |
| Между днями                       | PPA                | 78/78   | 100.0 | (95.3, 100.0) |
|                                   | NPA                | 90/90   | 100.0 | (95.9, 100.0) |
|                                   | OPA                | 168/168 | 100.0 | (97.8, 100.0) |
| В рамках одного цикла             | PPA                | 117/117 | 100.0 | (96.8, 100.0) |
|                                   | NPA                | 135/135 | 100.0 | (97.2, 100.0) |
|                                   | OPA                | 252/252 | 100.0 | (98.5, 100.0) |

Примечание. Процент совпадения положительных результатов (PPA), процент совпадения отрицательных результатов (NPA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Значения двухсторонних 95 % доверительных интервалов (CI) были рассчитаны с использованием метода оценки Уилсона.

Примечание. Для целей настоящего анализа соответствия статус маркера «Сохранение экспрессии» считается отрицательным, а статус маркера «Потеря экспрессии» — положительным.

**Промежуточная прецизионность между испытаниями в разные дни — исследование на уровне маркера**

В настоящее исследование включена оценка двадцати четырех случаев (12 случаев сохранения экспрессии и 12 случаев потери экспрессии) из различных тканей солидных опухолей FFPE, включая 8 случаев (4 случая сохранения экспрессии и 4 случая потери экспрессии) карциномы эндометрия. План исследования позволял верифицировать прецизионность окрашивания опухолевых тканей, окрашенных антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) в течение 5 непоследовательных дней.

Для каждого образца типичный результат окрашивания определялся как наиболее часто наблюдаемый результат окрашивания среди 10 тестируемых образцов, окрашенных в течение 5 непоследовательных дней с использованием одной партии антител и одной партии набора для детекции на одном приборе. Результат каждого тестового образца затем сравнивался с соответствующим типичным результатом и определялось соответствие или несоответствие. Все предметные стекла были маскированы и рандомизированы, а затем оценены с использованием алгоритма интерпретации окрашивания для антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) (Табл. 5). Результаты представлены в Табл. 11 для тканей карциномы эндометрия и в Табл. 12 для ряда случаев с разными солидными опухолями, включая карциному эндометрия.

**Табл. 11.** Промежуточная прецизионность между испытаниями в разные дни при использовании антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93), измеренная по результатам оценки клинического статуса MSH6 (сохранение/потеря экспрессии) ткани карциномы эндометрия.

| Повторяемость/<br>Прецизионность | Процент совпадения |       |       |               |
|----------------------------------|--------------------|-------|-------|---------------|
|                                  | Тип                | n/N   | %     | 95 % CI       |
| Между днями                      | PPA                | 40/40 | 100.0 | (91.2, 100.0) |
|                                  | NPA                | 40/40 | 100.0 | (91.2, 100.0) |
|                                  | OPA                | 80/80 | 100.0 | (95.4, 100.0) |

Примечание. Процент совпадения положительных результатов (PPA), процент совпадения отрицательных результатов (NPA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Значения двухсторонних 95 % доверительных интервалов (CI) были рассчитаны с использованием метода оценки Уилсона.

Примечание. Для целей настоящего анализа соответствия статус маркера «Сохранение экспрессии» считается отрицательным, а статус маркера «Потеря экспрессии» — положительным.

**Табл. 12.** Промежуточная прецизионность между испытаниями в разные дни при использовании антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93), измеренная по результатам оценки клинического статуса MSH6 (сохранение/потеря экспрессии) различных тканей солидных опухолей, включая карциному эндометрия.

| Повторяемость/<br>Прецизионность | Процент совпадения |         |       |               |
|----------------------------------|--------------------|---------|-------|---------------|
|                                  | Тип                | n/N     | %     | 95 % CI       |
| Между днями                      | PPA                | 120/120 | 100.0 | (96.9, 100.0) |
|                                  | NPA                | 120/120 | 100.0 | (96.9, 100.0) |
|                                  | OPA                | 240/240 | 100.0 | (98.4, 100.0) |

Примечание. Процент совпадения положительных результатов (PPA), процент совпадения отрицательных результатов (NPA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Значения двухсторонних 95 % доверительных интервалов (CI) были рассчитаны с использованием метода оценки Уилсона.

Примечание. Для целей настоящего анализа соответствия статус маркера «Сохранение экспрессии» считается отрицательным, а статус маркера «Потеря экспрессии» — положительным.

**Промежуточная прецизионность между платформами и между приборами — исследование на уровне маркера при EC**

В настоящее исследование было включено десять случаев (5 случаев сохранения экспрессии и 5 случаев потери экспрессии) FFPE EC. План исследования позволял верифицировать промежуточную прецизионность с использованием тканей EC, окрашенных антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) на платформах BenchMark ULTRA, BenchMark XT и BenchMark GX, а также между 3 приборами BenchMark ULTRA, 3 приборами BenchMark XT и 3 приборами BenchMark GX. Для каждого случая типичный результат окрашивания определялся как наиболее часто наблюдаемый результат окрашивания. Все предметные стекла были маскированы и рандомизированы, а затем оценены с использованием алгоритма интерпретации окрашивания для антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) (Табл. 5). Результат каждого тестового образца сравнивался с соответствующим типичным результатом и определялось соответствие или несоответствие. Результаты для промежуточной прецизионности между платформами и между приборами BenchMark ULTRA, BenchMark XT and BenchMark GX совокупно представлены в Табл. 13 для случаев EC.

**Табл. 13.** Промежуточная прецизионность между платформами и приборами при использовании антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) для анализа тканей EC, измеренная по результатам оценки клинического статуса MSH6 (сохранение/потеря экспрессии).

| Повторяемость/<br>Прецизионность  | Процент совпадения |         |       |               |
|-----------------------------------|--------------------|---------|-------|---------------|
|                                   | Тип                | n/N     | %     | 95 % CI       |
| Между платформами                 | PPA                | 90/90   | 100.0 | (95.9, 100.0) |
|                                   | NPA                | 90/90   | 100.0 | (95.9, 100.0) |
|                                   | OPA                | 180/180 | 100.0 | (97.9, 100.0) |
| Между приборами (BenchMark XT)    | PPA                | 30/30   | 100.0 | (88.6, 100.0) |
|                                   | NPA                | 30/30   | 100.0 | (88.6, 100.0) |
|                                   | OPA                | 60/60   | 100.0 | (94.0, 100.0) |
| Между приборами (BenchMark ULTRA) | PPA                | 30/30   | 100.0 | (88.6, 100.0) |
|                                   | NPA                | 30/30   | 100.0 | (88.6, 100.0) |
|                                   | OPA                | 60/60   | 100.0 | (94.0, 100.0) |
| Между приборами (BenchMark GX)    | PPA                | 30/30   | 100.0 | (88.6, 100.0) |
|                                   | NPA                | 30/30   | 100.0 | (88.6, 100.0) |
|                                   | OPA                | 60/60   | 100.0 | (94.0, 100.0) |

Примечание. Процент совпадения положительных результатов (PPA), процент совпадения отрицательных результатов (NPA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Значение двухсторонних 95 % доверительных интервалов (CI) было рассчитано с использованием метода многократной генерации перцентилей на основе 2000 бутстреп-выборок. Доверительные интервалы для 100 % PPA, NPA и OPA были рассчитаны при помощи метода оценки Уилсона.

Примечание. Для целей настоящего анализа соответствия статус маркера «Сохранение экспрессии» считается отрицательным, а статус маркера «Потеря экспрессии» — положительным.

**Согласованность для прибора BenchMark IHC/ISH — исследование на уровне маркера при EC**

В настоящее исследование было включено сорок четыре случая (23 случая сохранения экспрессии и 21 случая потери экспрессии) FFPE EC. План исследования позволял верифицировать соответствие оценок клинического статуса и интенсивностей окрашивания тканей карциномы эндометрия, окрашенных антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) на платформах BenchMark ULTRA, BenchMark XT и BenchMark GX. Все предметные стекла были маскированы и рандомизированы, а затем оценены с использованием алгоритма интерпретации окрашивания для антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) (Табл. 5). Проводили сравнение результатов каждого исследуемого образца с оценкой клинического

статуса, полученной на предметном стекле, окрашенном прибором BenchMark ULTRA, и определяли согласованность или несогласованность этих результатов теста. Результаты анализа миграции обобщены в Табл. 14 для случаев EC.

**Табл. 14.** Соответствие между платформами при использовании антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) для анализа тканей EC, измеренное по результатам оценки клинического статуса MSH6 (сохранение/потеря экспрессии).

| Соответствие                     | Процент совпадения |       |       |               |
|----------------------------------|--------------------|-------|-------|---------------|
|                                  | Тип                | n/N   | %     | 95 % CI       |
| BenchMark ULTRA:<br>BenchMark XT | PPA                | 21/21 | 100.0 | (84.5, 100.0) |
|                                  | NPA                | 23/23 | 100.0 | (85.7, 100.0) |
|                                  | OPA                | 44/44 | 100.0 | (92.0, 100.0) |
| BenchMark ULTRA:<br>Benchmark GX | PPA                | 21/21 | 100.0 | (84.5, 100.0) |
|                                  | NPA                | 22/23 | 95.7  | (79.0, 99.2)  |
|                                  | OPA                | 43/44 | 97.7  | (88.2, 99.6)  |

Примечание. Процент совпадения положительных результатов (PPA), процент совпадения отрицательных результатов (NPA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Значение двухсторонних 95 % доверительных интервалов (CI) было рассчитано с использованием метода многократной генерации процентилей на основе 2000 бутстреп-выборок. Доверительные интервалы для 100 % PPA, NPA и OPA были рассчитаны при помощи метода оценки Уилсона.

Примечание. Для целей анализа соответствия статус маркера «сохранение экспрессии» считается отрицательным, а статус маркера «потеря экспрессии» — положительным.

**Точность эксперта — исследование на уровне панели**

Точность эксперта и точность нескольких экспертов оценивали путем анализа соответствия статусов MMR RxDx, определенных тремя разными экспертами и в рамках анализа одним экспертом, с использованием 162 случаев (100 полносоставных случаев и 62 дефицитных случаев) различных типов опухолей, включая 34 случая (17 полносоставных случаев и 17 дефицитных случаев) карциномы эндометрия. В этом исследовании оценивались случаи FFPE в каждой из следующих систем органов: мочевыделительная, репродуктивная, желудочно-кишечная, эндокринная, гепатопанкреатобилиарная, мягких тканей/кожи, грудной клетки и других (голова и шея). Маскированные образцы были рандомизированы перед оценкой статуса MSH6 (сохранение или потеря экспрессии) и статуса на уровне панели (полносоставный или дефицитный) с использованием алгоритма оценки панели VENTANA MMR RxDx Panel (Табл. 6). Эксперты оценили все образцы по два раза с перерывом минимум в две недели между оценками. Показатели согласованности результатов между экспертами и одного эксперта представлены в Табл. 15 для случаев карциномы эндометрия и в Табл. 16 для ряда случаев с разными солидными опухолями, включая ткань карциномы эндометрия.

**Табл. 15.** Прецизионность результатов, полученных разными экспертами и одним экспертом, при использовании панели VENTANA MMR RxDx Panel на тканях карциномы эндометрия, определяется по клиническому статусу MMR (полносоставный/дефицитный).

| Прецизионность             | Процент совпадения |         |      |               |
|----------------------------|--------------------|---------|------|---------------|
|                            | Тип                | n/N     | %    | 95 % CI       |
| В пределах одного эксперта | APA                | 100/101 | 99.0 | (97.0, 100.0) |
|                            | ANA                | 102/103 | 99.0 | (97.1, 100.0) |
|                            | OPA                | 101/102 | 99.0 | (97.1, 100.0) |

| Прецизионность   | Процент совпадения |         |      |               |
|------------------|--------------------|---------|------|---------------|
|                  | Тип                | n/N     | %    | 95 % CI       |
| Между экспертами | APA                | 98/100  | 98.0 | (93.8, 100.0) |
|                  | ANA                | 102/104 | 98.1 | (94.4, 100.0) |
|                  | OPA                | 100/102 | 98.0 | (94.1, 100.0) |

Примечание. Среднее количество совпадений положительных результатов (APA), среднее количество совпадений отрицательных результатов (ANA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Значение двухсторонних 95 % доверительных интервалов (CI) было рассчитано с использованием метода многократной генерации процентилей на основе 2000 бутстреп-выборок.

Примечание. Для настоящего анализа статус MMR панели «дефицитный» (dMMR) считался положительным, а статус MMR панели «полносоставный» (pMMR) считался отрицательным.

**Табл. 16.** Точность эксперта и точность между несколькими экспертами при использовании панели VENTANA MMR RxDx Panel на тканях ряда солидных опухолей, включая карциному эндометрия, определяется по клиническому статусу MMR (полносоставный/дефицитный).

| Прецизионность             | Процент совпадения |           |      |               |
|----------------------------|--------------------|-----------|------|---------------|
|                            | Тип                | n/N       | %    | 95 % CI       |
| В пределах одного эксперта | APA                | (364/366) | 99.5 | (98.6, 100.0) |
|                            | ANA                | (598/600) | 99.7 | (99.2, 100.0) |
|                            | OPA                | (481/483) | 99.6 | (99.0, 100.0) |
| Между экспертами           | APA                | (364/366) | 99.5 | (98.3, 100.0) |
|                            | ANA                | (596/598) | 99.7 | (99.0, 100.0) |
|                            | OPA                | (480/482) | 99.6 | (98.8, 100.0) |

Примечание. Среднее количество совпадений положительных результатов (APA), среднее количество совпадений отрицательных результатов (ANA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Значение двухсторонних 95 % доверительных интервалов (CI) было рассчитано с использованием метода многократной генерации процентилей на основе 2000 бутстреп-выборок.

Примечание. Для настоящего анализа статус MMR панели «дефицитный» (dMMR) считался положительным, а статус MMR панели «полносоставный» (pMMR) считался отрицательным.

**Исследование межлабораторной воспроизводимости. Исследование на уровне панели**

Для демонстрации воспроизводимости анализа с панелью VENTANA MMR RxDx Panel для определения статуса MMR образцов EC было проведено исследование межлабораторной воспроизводимости результатов применения этой панели. Исследование включало 30 архивных, деидентифицированных образцов FFPE, которые были окрашены на приборе BenchMark ULTRA в каждой из 3 внешних лабораторий в каждый из 3 не последовательных дней (в общей сложности не менее 20 дней). В каждый день окрашивания в каждом исследовательском центре получали панель из 5 предметных стекол [4 предметных стекла, окрашенных антителами к биомаркеру, и 1 предметное стекло, окрашенное Negative Control (Monoclonal)] с использованием протокола окрашивания PMS2, которые независимо оценивались на предмет статуса каждого маркера (сохранение или потеря экспрессии) и статуса MMR (дефицитный или полносоставный) 2 врачами-патологоанатомами в исследовательском центре.

Исследование включало в себя 540 наблюдений для 30 образцов (включая 4 сложных образца), окрашенных в течение 3 дней в 3 центрах с участием 2 экспертов в каждом исследовательском центре. Результаты определения статуса MMR всеми экспертами, во всех исследовательских центрах, во все дни проведения исследования для всех случаев были объединены и проанализированы в сравнении с наиболее частой оценкой экспертов для тех же случаев, чтобы определить общую

воспроизводимость статуса MMR. Резюме показателей соответствия по всем поддающимся оценке наблюдениям с использованием режимов интерпретации экспертом на уровне случая для статуса на уровне панели MMR в качестве справочного материала представлено в Табл. 17.

**Табл. 17.** Межлабораторная воспроизводимость показателей соответствия для VENTANA MMR RxDx Panel при EC.

| Межлабораторная воспроизводимость          | Процент совпадения |         |       |               |
|--|--------------------|---------|-------|---------------|
|  | Тип                | n/N     | %     | 95 % CI       |
| Общий показатель                           | PPA                | 263/268 | 98.1  | (95.5, 100.0) |
|  | NPA                | 269/269 | 100.0 | (98.6, 100.0) |
|  | OPA                | 532/537 | 99.1  | (97.8, 100.0) |
| Стратификация по исследовательскому центру | PPA                | 263/268 | 98.1  | (95.5, 100.0) |
|  | NPA                | 269/269 | 100.0 | (98.6, 100.0) |
|  | OPA                | 532/537 | 99.1  | (97.8, 100.0) |
| Стратификация по эксперту                  | PPA                | 263/265 | 99.2  | (98.1, 100.0) |
|  | NPA                | 272/272 | 100.0 | (98.6, 100.0) |
|  | OPA                | 535/537 | 99.6  | (99.1, 100.0) |

Примечание. Процент совпадения положительных результатов (PPA), процент совпадения отрицательных результатов (NPA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Значение двухсторонних 95 % доверительных интервалов (CI) было рассчитано с использованием метода многократной генерации процентилей на основе 2000 повторностей. В случае 100 % соответствия использовался метод оценки по шкале Уилсона.

Примечание. Для настоящего анализа статус MMR панели «дефицитный» (dMMR) считался положительным, а статус MMR панели «полносоставный» (pMMR) считался отрицательным.

Кроме того, были проведены попарные сравнения статуса MMR между центрами, между экспертами и между днями. Как указано в Табл. 18, анализ был воспроизводим между 3 днями, 3 исследовательскими центрами и 6 экспертами.

**Табл. 18.** Показатели попарного соответствия межлабораторной воспроизводимости для VENTANA MMR RxDx Panel при EC.

| Межлабораторная воспроизводимость | Процент совпадения |           |      |               |
|-----------------------------------|--------------------|-----------|------|---------------|
|                                   | Тип                | n/N       | %    | 95 % CI       |
| Между исследовательскими центрами | APA                | 3072/3132 | 98.1 | (95.3, 100.0) |
|                                   | ANA                | 3216/3276 | 98.2 | (95.7, 100.0) |
|                                   | OPA                | 3144/3204 | 98.1 | (95.5, 100.0) |
| Между экспертами                  | APA                | 258/263   | 98.1 | (95.3, 100.0) |
|                                   | ANA                | 268/273   | 98.2 | (95.7, 100.0) |
|                                   | OPA                | 263/268   | 98.1 | (95.5, 100.0) |
| Между днями                       | APA                | 518/522   | 99.2 | (98.1, 100.0) |
|                                   | ANA                | 542/546   | 99.3 | (98.2, 100.0) |
|                                   | OPA                | 530/534   | 99.3 | (98.1, 100.0) |

Примечание. Среднее количество совпадений положительных результатов (APA), среднее количество совпадений отрицательных результатов (ANA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Значение двухсторонних 95 % доверительных интервалов (CI) было рассчитано с использованием метода многократной генерации процентилей на основе 2000 повторностей.

Примечание. Для настоящего анализа статус MMR панели «дефицитный» (dMMR) считался положительным, а статус MMR панели «полносоставный» (pMMR) считался отрицательным.

## КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

### Клиническая эффективность достарлимаба (JEMPERLI) в исследовании GARNET

Эффективность и безопасность JEMPERLI изучали в исследовании GARNET, многоцентровом неконтролируемом открытом исследовании с несколькими параллельными когортами. В исследование GARNET были включены дополнительные когорты пациентов с рецидивирующими или прогрессирующими солидными опухолями, которым были доступны ограниченные варианты лечения. В когорту A1 были включены пациенты с недостаточностью белка системы репарации неспаренных оснований (dMMR)/ высокой микросателлитной нестабильностью (MSI-H) EC, у которых наблюдалось прогрессирование заболевания во время или после применения схемы лечения препаратами платины.

Пациенты получали 500 мг достарлимаба каждые 3 недели в течение 4 циклов, а затем 1000 мг достарлимаба каждые 6 недель. Лечение продолжали до развития неприемлемой токсичности или прогрессирования заболевания вплоть до двух лет.

Основными критериями эффективности клинических исходов были частота объективного ответа (ORR) и продолжительность реакции (DOR), определенные путем независимой централизованной маскированной оценки рентгенологами в слепом режиме (BICR) в соответствии с Критериями оценки ответа солидных опухолей на лечение (RECIST) v 1.1. Популяция по оценке эффективности определялась как пациенты, у которых на исходном уровне имелось измеримое заболевание по шкале BICR и период последующего наблюдения составлял не менее 24 недель, или период последующего наблюдения составлял менее 24 недель и они прекратили участие в исследовании из-за побочных эффектов или прогрессирования заболевания.

Первый запланированный промежуточный анализ для GARNET включал пациентов dMMR EC, включенных в GARNET до даты окончания сбора клинических данных (CCOD) 08 июля 2019 года. Популяция для оценки эффективности для первого запланированного промежуточного анализа состояла из когорты, в которую входили 71 пациент с dMMR EC. Популяция для оценки эффективности для второго запланированного промежуточного анализа состояла из когорты, в которую входили 209 пациентов с солидными опухолями dMMR, в том числе EC, которые были включены в исследование до CCOD 01 марта 2020 года.

Эффективность панели VENTANA MMR RxDx Panel измерялась путем оценки ее способности выявлять пациентов с EC (первый промежуточный анализ), которые с большой вероятностью отреагируют на лечение препаратом JEMPERLI (т. е. результаты эффективности, наблюдаемые в исследовании GARNET). В частности, оценка диагностической эффективности была направлена на определение эффективности JEMPERLI у пациентов с рецидивирующей или прогрессирующей dMMR EC, которые могли бы быть включены в GARNET, если бы для скрининга при зачислении использовалась VENTANA MMR RxDx Panel (анализ CDx), а не CTA. Для этих анализов потребовался подход с использованием переходного теста, поскольку пациенты не проходили скрининг для включения в исследование GARNET с использованием анализа CDx. При оценке диагностической эффективности панели VENTANA MMR RxDx Panel использовалась только часть случаев из популяции для оценки безопасности из заявления на лицензирование биопрепарата (BLA); для включения в анализ диагностической эффективности пациенты должны были соответствовать критериям диагностического исследования при промежуточном анализе.

### Клинические результаты исследования GARNET — EC (dMMR)

Резюме результатов эффективности у пациентов с dMMR EC из выборки для анализа эффективности из исходного BLA представлено в Табл. 19.

**Табл. 19.** Результаты исследования эффективности GARNET у пациентов с dMMR/MSI-H EC

| Конечная точка                    | JEMPERLI<br>N = 108 |
|-----------------------------------|---------------------|
| Частота объективного ответа (ORR) |                     |
| ORR, n (%)                        | 47 (43.5 %) [a]     |
| (95 % CI)                         | (34.0, 53.4)        |
| Частота полного ответа n (%)      | 11 (10.2 %)         |
| Частота частичного ответа n (%)   | 36 (33.3 %)         |

| Конечная точка  | JEMPERLI<br>N = 108               |
|---|-----------------------------------|
| Частота контроля заболевания (DCR) (95 % CI)                              | 55.6 % (45.7, 65.1)               |
| Стабилизация заболевания, %<br>(95 % CI)                                  | 12 % (6.6, 19.7)                  |
| Продолжительность реакции (DOR)   |                                   |
| Медиана, месяцы (диапазон)  | Не достигнута [b]<br>(2.6, 28.1+) |
| Вероятность сохранения ответа через<br>6 месяцев с помощью К-М (95 % CI)  | 97.9 %<br>(85.8, 99.7)            |
| Вероятность сохранения ответа через<br>12 месяцев с помощью К-М (95 % CI) | 90.9 %<br>(73.7, 97.1)            |

[a] На момент даты прекращения сбора данных (1 марта 2020 г.)

[b] На момент даты прекращения сбора данных медиана DOR не была достигнута.

К-М: оценка кривой Каплана-Мейера.

CI: доверительный интервал.

MSI-H: высокая микросателлитная нестабильность.

**Клиническая эффективность панели VENTANA MMR RxDx Panel в популяции пациентов с карциномой эндометрия в исследовании GARNET dMMR**

Популяция для оценки диагностической эффективности панели VENTANA MMR RxDx Panel при EC включала пациентов, участвовавших в исследовании GARNET, которые получали исследуемое лечение до CCOD для первого запланированного промежуточного анализа и чье право на участие в этом исследовании было подтверждено с помощью СТА, определяемого как любой местный или централизованно проводимый тест MMR IHC, отличный от VENTANA MMR RxDx Panel.

В рамках переходного анализа было рассчитано соответствие статуса MMR результатов СТА и CDx с использованием результатов СТА в качестве референса. Для настоящего анализа «полносоставный» статус MMR был признан отрицательным, а «дефицитный» статус MMR — положительным. Для всех клинических образцов из популяции BLA для анализа исходного исследования безопасности GARNET как с поддающимся оценке результатом CDx, так и с поддающимся оценке результатами анализа клинического исследования (СТА), соответствие результатов, полученных при разных анализах, показаны в Табл. 20.

**Табл. 20.** Соответствие статуса MMR панели GARNET СТА и VENTANA MMR RxDx Panel для популяции EC.

| Анализируемая популяция [a]         | Процент совпадения |         |                     |
|-------------------------------------|--------------------|---------|---------------------|
|                                     | Показатель [b]     | n/N     | % (95 % CI)         |
| Популяция оценки согласованности IU | PPA                | 51/55   | 92.7 (82.7, 97.1)   |
|                                     | NPA                | 68/68   | 100.0 (94.7, 100.0) |
|                                     | OPA                | 119/123 | 96.7 (91.9, 98.7)   |

| Анализируемая популяция [a]          | Процент совпадения |         |                   |
|--------------------------------------|--------------------|---------|-------------------|
|                                      | Показатель [b]     | n/N     | % (95 % CI)       |
| Популяция оценки согласованности ITD | PPA                | 70/76   | 92.1 (83.8, 96.3) |
|                                      | NPA                | 90/91   | 98.9 (94.0, 99.8) |
|                                      | OPA                | 160/167 | 95.8 (91.6, 98.0) |

Примечание. Процент совпадения положительных результатов (PPA), процент совпадения отрицательных результатов (NPA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Значения двухсторонних 95 % доверительных интервалов (CI) были рассчитаны с использованием метода оценки Уилсона.

[a] Анализы проводились в популяции для определения соответствия (все пациенты в популяции безопасности с поддающимся оценке результатом окрашивания панели VENTANA MMR RxDx Panel (CDx)). В настоящем исследовании популяция пациентов согласно поставленному диагнозу (ITD) и популяция для оценки согласованности результатов эквивалентны. Популяция для оценки согласованности целевого назначения (IU) включает только подгруппу пациентов, которые также входят в популяцию IU (т. е. для которых была проведена попытка тестирования панели VENTANA MMR RxDx Panel в соответствии с требованиями диагностического протокола).

[b] Для настоящего анализа статус MMR панели «Дефицитный» (dMMR) считался положительным, а статус MMR панели «Полносоставный» (pMMR) считался отрицательным.

Были проведены дополнительные анализы для оценки эффективности препарата у пациентов с рецидивирующей или прогрессирующей EC, опухоли которых были или могли бы быть dMMR при тестировании с использованием VENTANA MMR RxDx Panel, включая первичный анализ с применением различных подходов множественного замещения (MI) и анализы чувствительности с использованием нижних границ наблюдаемых 95 % CI PPA и NPA в качестве предполагаемых PPA и NPA соответственно, а также с использованием скорректированного предположения о распространенности случаев, которые были бы dMMR при тестировании с использованием СТА. Эти анализы, в которых использовался вмененный статус CDx для оценки эффективности в популяции, выбранной с помощью CDx, дали результаты ORR и DOR, аналогичные тем, которые фактически наблюдались в популяции GARNET dMMR EC, выбранной с помощью СТА.

**РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ VENTANA MMR IHC PANEL**

**Прецизионность – VENTANA MMR IHC Panel**

**Повторяемость в пределах цикла и промежуточная прецизионность между испытаниями в разные дни**

Повторяемость и прецизионность для антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) оценивали с использованием прибора BenchMark ULTRA в сочетании с набором для детекции OptiView DAB IHC Detection Kit.

Повторяемость в пределах цикла оценивалась с использованием 10 образцов колоректального рака (5 со статусом сохранения и 5 со статусом потери экспрессии MSH6). Предметные стекла в пяти повторностях для каждого из образцов колоректального рака окрашивали антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) на одном приборе BenchMark ULTRA в один день. Каждое окрашенное антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) предметное стекло сопоставляли с предметным стеклом, окрашенным реагентом отрицательного контроля, из того же случая. Все наборы предметных стекол рандомизировали, после чего один врач-патологоанатом оценивал их, с соблюдением маскированности данных, диагностируя случаи как опухоли с Сохранением или с Потерей экспрессии.

Промежуточную прецизионность между испытаниями в разные дни также оценивали на серии из 10 образцов колоректального рака (5 с сохраненной экспрессией и 5 с потерянной экспрессией MSH6). Предметные стекла в повторностях для каждого из образцов колоректального рака окрашивали антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) на приборе BenchMark ULTRA в каждый из 5 непоследовательных дней. Каждое окрашенное антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) предметное стекло сопоставляли с предметным стеклом, окрашенным реагентом отрицательного контроля, из того же случая. Все наборы предметных стекол рандомизировали, после чего один врач-патологоанатом оценивал их, с соблюдением маскированности данных, диагностируя случаи как опухоли с Сохранением или с Потерей экспрессии.

Ни одно из предметных стекол, окрашенных реагентом отрицательного контроля, не продемонстрировало специфичное окрашивание, а окрашивание фона составляло  $\leq 0.5$ . При использовании объединенных данных по всем возможным парам, исследования повторяемости в пределах цикла и промежуточной прецизионности между испытаниями в разные дни продемонстрировали 100 % процент совпадения положительных результатов (PPA), 100 % процент совпадения отрицательных результатов (NPA) и 100 % общий процент совпадения (OPA). Сводную информацию о результатах см. в Табл. 21.

**Табл. 21.** Повторяемость в пределах цикла и промежуточная прецизионность между испытаниями в разные дни для антител VENTANA anti-MSH6 (SP93), измеренные по результатам оценки клинического статуса (сохранение или потеря экспрессии).

| Повторяемость/<br>Прецизионность              | Клинический статус | Процент совпадения |         |       |               |
|---|--------------------|--------------------|---------|-------|---------------|
|   |                    | Тип                | n/N     | %     | 95 % CI       |
| Повторяемость в пределах цикла                | Сохранение         | PPA                | 25/25   | 100.0 | (86.7, 100.0) |
|   | Потеря             | NPA                | 25/25   | 100.0 | (86.7, 100.0) |
|   | Всего              | OPA                | 50/50   | 100.0 | (92.9, 100.0) |
| Прецизионность между испытаниями в разные дни | Сохранение         | PPA                | 50/50   | 100.0 | (92.9, 100.0) |
|   | Потеря             | NPA                | 50/50   | 100.0 | (92.9, 100.0) |
|   | Всего              | OPA                | 100/100 | 100.0 | (96.3, 100.0) |

Примечание. Процент совпадения положительных результатов (PPA), процент совпадения отрицательных результатов (NPA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Значения двухсторонних 95 % доверительных интервалов (CI) были рассчитаны с использованием метода оценки Уилсона.

### Промежуточная прецизионность между несколькими приборами

Промежуточная прецизионность между несколькими приборами BenchMark ULTRA для антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) была определена окрашиванием предметных стекол 10 образцов колоректального рака в повторностях (5 с сохраненной и 5 с потерянной экспрессией MSH6) на 3 приборах BenchMark ULTRA с антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) и набором для детекции OptiView DAB IHC Detection Kit.

Каждое окрашенное антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) предметное стекло сопоставляли с предметным стеклом, окрашенным реагентом отрицательного контроля, из того же случая. Все наборы предметных стекол рандомизировали, после чего один врач-патологоанатом оценивал их, с соблюдением маскированности данных, диагностируя случаи по клиническому статусу (с Сохранением или с Потерей экспрессии). Ни одно из предметных стекол, окрашенных реагентом отрицательного контроля, не продемонстрировало специфичное окрашивание, а окрашивание фона составляло  $\leq 0.5$ .

Для приборов BenchMark ULTRA парные сравнения клинических статусов предметных стекол каждого образца, выполненные в целях оценки промежуточной прецизионности между несколькими приборами, продемонстрировали 100 % PPA, NPA и OPA. Результаты обобщенно представлены в Табл. 22.

**Табл. 22.** Промежуточная прецизионность между несколькими приборами BenchMark ULTRA для антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93), измеренная по результатам оценки клинического статуса (сохранение или потеря экспрессии).

| Прецизионность   | Клинический статус | Процент совпадения |       |       |               |
|--|--------------------|--------------------|-------|-------|---------------|
|  |                    | Тип                | n/N   | %     | 95 % CI       |
| Промежуточная прецизионность между несколькими приборами | Сохранение         | PPA                | 30/30 | 100.0 | (88.6, 100.0) |
|  | Потеря             | NPA                | 30/30 | 100.0 | (88.6, 100.0) |
|  | Всего              | OPA                | 60/60 | 100.0 | (94.0, 100.0) |

Примечание. Процент совпадения положительных результатов (PPA), процент совпадения отрицательных результатов (NPA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Значения двухсторонних 95 % доверительных интервалов (CI) были рассчитаны с использованием метода оценки Уилсона.

Кроме того, промежуточная прецизионность между несколькими приборами для антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) была определена окрашиванием предметных стекол с микропрепаратами 6 образцов колоректального рака в повторностях (4 с сохранением и 2 с потерей экспрессией MSH6) на 3 приборах BenchMark XT и 3 приборах BenchMark GX с антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) и набором для детекции OptiView DAB IHC Detection Kit.

При объединении результатов 3 приборов в каждом случае было получено 15 наблюдений; медиана для каждого случая определялась на основе этих 15 наблюдений. Отдельные наблюдения одного случая считали согласованными с медианной интенсивностью сигнала случая, если они укладывались в предел 0.5 интенсивности сигнала. Для приборов BenchMark XT и BenchMark GX парные сравнения оценок интенсивности окрашивания опухолевой ткани каждого образца, выполненные в целях оценки промежуточной прецизионности между несколькими приборами, продемонстрировали 100 % OPA между 3 приборами BenchMark XT и 100 % OPA между 3 приборами BenchMark GX. Для всех предметных стекол фоновое окрашивание было приемлемым ( $\leq 0.5$ ) как на приборах BenchMark XT, так и на приборах BenchMark GX.

### Соответствие для прибора BenchMark IHC/ISH

Согласованность между приборами BenchMark IHC/ISH при использовании антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) была определена окрашиванием образцов колоректального рака антителами VENTANA anti-MSH6 (SP93) и применением набора для детекции OptiView DAB IHC Detection Kit. Для всех предметных стекол была проведена оценка клинического статуса (сохранение/потеря экспрессии) одним и тем же врачом-патологоанатомом.

Были проведены парные сравнения клинических статусов образцов колоректального рака, изготовленных на разных платформах, в том числе, BenchMark GX с BenchMark ULTRA (134 случаев с сохранением и 20 с потерей), BenchMark GX с BenchMark XT (133 случаев с сохранением и 21 с потерей) и BenchMark ULTRA с BenchMark XT (136 случаев с сохранением и 20 с потерей). Все парные сравнения, проведенные между платформами, продемонстрировали 100 % среднее количество совпадений положительных результатов (APA), среднее количество совпадений отрицательных результатов (ANA) и OPA.

### Исследования точности экспертов

Прецизионность оценок одного эксперта и нескольких экспертов определили с использованием 20 образцов колоректального рака (11 случаев с сохраненной и 9 с потерянной экспрессией), окрашенных антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93), с применением набора для детекции OptiView DAB IHC Detection Kit. Каждое окрашенное антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) предметное стекло сопоставлялось с предметным стеклом, окрашенным гематоксилином и эозином (H&E), и предметным стеклом, окрашенным реагентом отрицательного контроля, из того же случая.

Все наборы предметных стекол рандомизировали, после чего 3 врача-патологоанатома оценивали их, диагностируя случаи по клиническому статусу (с сохранением или с потерей экспрессии MSH6). Данные о диагнозах случаев были маскированы для врачей-патологоанатомов. После двухнедельного периода забывания предметные стекла с микропрепаратами, окрашенными антителами VENTANA anti-MSH6 (SP93), повторно рандомизировали для второй оценки

клинического статуса MSH6 каждым из 3 врачей-патологоанатомов. Ни одно из предметных стекол, окрашенных реагентом отрицательного контроля, не продемонстрировало специфичное окрашивание, а окрашивание фона составляло  $\leq 0.5$ .

Прецизионность оценок одного эксперта определяли, сравнивая результаты первой и последней оценок предметного стекла одним врачом-патологоанатомом; для каждого эксперта было выполнено 20 сравнений оценок микропрепаратов колоректального рака. Для анализа прецизионности оценок одного эксперта результаты сравнения по 3 врачам-патологоанатомам были объединены. По совокупности были достигнуты значения 98.5 % APA, 98.1 % ANA и 98.3 % OPA. Результаты обобщенно представлены в Табл. 23.

Для анализа прецизионности оценок нескольких экспертов все оценки предметных стекол микропрепаратов (20 случаев колоректального рака x 2 оценки/случай x 3 врача-патологоанатома = 120 оценок микропрепаратов) сравнили с наиболее частой оценкой статуса случая для каждого случая колоректального рака. Установлено, что прецизионность оценок между экспертами достигает 100 % PPA, 98.1 % NPA и 99.2 % OPA. Результаты обобщенно представлены в Табл. 23.

**Табл. 23.** Точность эксперта и точность между несколькими экспертами при использовании антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) для анализа случаев колоректального рака по оценке клинического статуса экспрессии MSH6 (сохранение или потеря).

| Прецизионность             | Клинический статус | Процент совпадения |         |       |               |
|----------------------------|--------------------|--------------------|---------|-------|---------------|
|                            |                    | Тип                | n/N     | %     | 95 % CI       |
| В пределах одного эксперта | Сохранение         | APA                | 66/67   | 98.5  | (88.0, 100.0) |
|                            | Потеря             | ANA                | 52/53   | 98.1  | (83.3, 100.0) |
|                            | Всего              | OPA                | 59/60   | 98.3  | (85.0, 100.0) |
| Между Эксперт              | Сохранение         | PPA                | 66/66   | 100.0 | (94.5, 100.0) |
|                            | Потеря             | NPA                | 53/54   | 98.1  | (90.2, 99.7)  |
|                            | Всего              | OPA                | 119/120 | 99.2  | (95.4, 99.9)  |

Примечание. Среднее количество совпадений положительных результатов (APA), среднее количество совпадений отрицательных результатов (ANA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Прецизионность оценок одного эксперта характеризовалась параметрами APA и ANA с 95 % доверительными интервалами (CI), вычисленным на основе метода Clopper-Pearson; для параметра OPA 95 % CI вычислили методом многократной генерации процентилей. Для показателей между экспертами 95 % CI были рассчитаны по методу оценки Уилсона.

### Прецизионность между партиями

Прецизионность от партии к партии антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) была определена в эксперименте с использованием 3 производственных партий антител VENTANA anti-MSH6 (SP93), каждая из которых применялась в трех повторностях для окрашивания микропрепаратов 10 образцов колоректального рака (5 с сохраненной и 5 с потерянной экспрессией MSH6) на приборе BenchMark ULTRA с использованием набора для детекции OptiView DAB IHC Detection Kit.

Каждое окрашенное антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) предметное стекло сопоставляли с предметным стеклом, окрашенным реагентом отрицательного контроля, из того же случая. Наборы предметных стекол рандомизировали, после чего один врач-патологоанатом оценивал их, с соблюдением маскированности диагноза случая и номера партии антител VENTANA anti-MSH6 (SP93). Ни одно из предметных стекол, окрашенных реагентом отрицательного контроля, не продемонстрировало специфичное окрашивание, а окрашивание фона составляло  $\leq 0.5$ .

Для оценки прецизионности между партиями антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) все оценки предметных стекол были сравнены с наиболее частым статусом каждого соответствующего случая колоректального рака. Значение OPA между партиями антител VENTANA anti-MSH6 (SP93) составило 100 %; следовательно, воспроизводимость окрашивания антителами VENTANA anti-MSH6 (SP93) разных партий подтверждена.

Резюме результатов по прецизионности между партиями антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) представлена в Табл. 24.

**Табл. 24.** Прецизионность между партиями антител VENTANA anti-MSH6 (SP93), измеренная по оценкам клинического статуса (сохранение или потеря экспрессии).

| Прецизионность | Клинический статус | Процент совпадения |       |       |               |
|----------------|--------------------|--------------------|-------|-------|---------------|
|                |                    | Тип                | n/N   | %     | 95 % CI       |
| Между партиями | Сохранение         | PPA                | 45/45 | 100.0 | (92.1, 100.0) |
|                | Потеря             | NPA                | 45/45 | 100.0 | (92.1, 100.0) |
|                | Всего              | OPA                | 90/90 | 100.0 | (95.9, 100.0) |

Примечание. Процент совпадения положительных результатов (PPA), процент совпадения отрицательных результатов (NPA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Значения двухсторонних 95 % доверительных интервалов (CI) были рассчитаны с использованием метода оценки Уилсона.

### Исследование межлабораторной воспроизводимости

Для демонстрации воспроизводимости каждого анализа с панелью VENTANA MMR IHC Panel при определении клинического статуса было проведено исследование межлабораторной воспроизводимости результатов применения панели VENTANA MMR IHC Panel. В исследование было включено 6 образцов ткани колоректального рака (3 со всеми сохраненными белками и 3 с потерей) для каждого белка MMR и 16 образцов ткани колоректального рака (8 положительных и 8 отрицательных) для BRAF V600E, проанализированных на 3 приборах BenchMark ULTRA в каждый из 5 непоследовательных дней в течение 21 дня в трех внешних лабораториях. Каждое окрашенное антителом предметное стекло сопоставляли с предметным стеклом, окрашенным гематоксилином и эозином (H&E), и предметным стеклом, окрашенным реагентом отрицательного контроля из того же случая. Все наборы предметных стекол рандомизировали и оценивали с привлечением, в общей сложности, 6 экспертов (по 2 эксперта в каждой лаборатории), для которых поддерживалось маскирование данных о клиническом статусе MMR в экспериментальном наборе. Для каждого из 40 случаев в этом исследовании выполняли в общей сложности 30 наблюдений в разные дни, в разных лабораториях, разными экспертами. Для каждого из случаев определяли референсную оценку статуса, которая соответствовала наиболее часто выставляемой оценке статуса по 30 наблюдениям. Всего в рамках эксперимента выполнено 1200 наблюдений по оценке всех пяти белков. Для всех поддающихся оценке случаев рейтинг приемлемости морфологических данных и анамнеза в данном исследовании составлял 100 %. Резюме статистических показателей совпадений между референсным статусом случая и отдельными наблюдениями по объединенным данным (по всем пяти белкам) представлено в Табл. 25.

**Табл. 25.** Совпадения между результатом VENTANA MMR IHC Panel и референсной оценкой статуса случая.

| Межлабораторная воспроизводимость | Клинический статус        | Процент совпадения |           |      |               |
|-----------------------------------|---------------------------|--------------------|-----------|------|---------------|
|                                   |                           | Тип                | n/N       | %    | 95 % CI       |
| Все белки                         | Сохраненная/Положительный | PPA                | 598/600   | 99.8 | (98.7, 100.0) |
|                                   | Потеря/отрицательный      | NPA                | 593/600   | 98.9 | (97.4, 99.5)  |
|                                   | Всего                     | OPA                | 1191/1200 | 99.4 | (98.6, 99.7)  |

Примечание. Процент совпадения положительных результатов (PPA), процент совпадения отрицательных результатов (NPA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Клинический статус был определен как сохранение или потеря экспрессии для белка MMR и положительный или отрицательный для белка BRAF V600E.

Примечание. Значения 95 % доверительных интервалов (CI) вычислили с использованием обобщенной оценочной модели со смешанными эффектами (GLMM).

Кроме того, для антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) выполнены парные сравнения между исследовательскими центрами, между днями и между экспертами. Для MSH6 в этом исследовании было выполнено 180 наблюдений. Результаты обобщенно представлены в Табл. 26. Данные указывают на воспроизводимость анализа в эксперименте с 3 лабораториями, 6 экспертами и 5 днями.

**Табл. 26.** Коэффициенты совпадения парных результатов в исследовании межлабораторной воспроизводимости при использовании антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93), измеренные по результатам оценки клинического статуса (сохранение или потеря).

| Межлабораторная воспроизводимость  |                           | Процент совпадения |         |       |               |
|--|---------------------------|--------------------|---------|-------|---------------|
|  |                           | Тип                | n/N     | %     | 95 % CI       |
| Между исследовательскими центрами (3 исследовательских центра)           |                           | APA                | 360/364 | 98.9  | (96.8, 100.0) |
|  |                           | ANA                | 352/356 | 98.9  | (96.6, 100.0) |
|  |                           | OPA                | 356/360 | 98.9  | (96.7, 100.0) |
| Между днями (5 непоследовательных дней)                                  | Исследовательский центр А | APA                | 120/120 | 100.0 | (96.9, 100.0) |
|  |                           | ANA                | 120/120 | 100.0 | (96.9, 100.0) |
|  |                           | OPA                | 120/120 | 100.0 | (96.9, 100.0) |
|  | Исследовательский центр В | APA                | 120/120 | 100.0 | (96.9, 100.0) |
|  |                           | ANA                | 120/120 | 100.0 | (96.9, 100.0) |
|  |                           | OPA                | 120/120 | 100.0 | (96.9, 100.0) |
|  | Исследовательский центр С | APA                | 120/124 | 96.8  | (90.9, 100.0) |
|  |                           | ANA                | 112/116 | 96.6  | (88.9, 100.0) |
|  |                           | OPA                | 116/120 | 96.7  | (90.0, 100.0) |
| Между экспертами (по 2 врача-патологоанатома в исследовательском центре) |                           | APA                | 90/91   | 98.9  | (96.8, 100.0) |
|  |                           | ANA                | 88/89   | 98.9  | (96.6, 100.0) |
|  |                           | OPA                | 89/90   | 98.9  | (96.7, 100.0) |

Примечание. Среднее количество совпадений положительных результатов (APA), среднее количество совпадений отрицательных результатов (ANA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Двусторонние 95 % доверительные интервалы (CI) рассчитывали, используя метод многократной генерации процентилей. В случаях, когда результат точечной оценки составлял 100 %, использовали метод оценки Уилсона.

**Исследование правильности: сравнение результатов методов применения панели VENTANA MMR IHC Panel и молекулярного тестирования (секвенирование ДНК и гиперметилирование промотора MLH1)**

Для сравнения результатов методов применения панели VENTANA MMR IHC Panel и молекулярного тестирования, включающего комплексное секвенирование ДНК панели толстой кишки для идентификации случаев колоректального рака, (i) являющихся MMR-дефицитными (dMMR) и (ii) содержащими мутацию BRAF V600E, было выполнено исследование. Панель секвенирования ДНК толстой кишки включала геномный анализ вариантов, присутствующих в генах MMR (MLH1, PMS2, MSH2, MSH6, EPCAM), BRAF и других генах, важных для канцерогенеза (например, PIK3CA, KRAS, NRAS, ERBB2 и т.д.). Секвенирование включало все экзоны, интронные и фланкирующие последовательности, а также крупные делеции, дупликации и мозаицизм.

Для целей настоящего исследования микропрепараты секвенируемых случаев колоректального рака окрашивали гематооксилином и эозином и оценивали в них признаки правильной фиксации и морфологические характеристики, в том числе, наличие клеточных элементов (клетки опухоли и внутреннего контроля). Каждый случай анализировался на предмет содержания в образце, как минимум, 50 % опухолевых клеток для обеспечения достаточной представленности опухолевых клеток в образце в соответствии с рекомендациями по проведению молекулярного тестирования. После просмотра выявлены 105 секвенированных случаев, которые соответствовали этим критериям, они были включены в исследование. Кроме того, в исследование были включены 13 случаев колоректального рака, которые по результатам IHC исследования отнесены к клиническому статусу потери экспрессии, чтобы гарантировать, что будут рассмотрены случаи потери всех маркеров. Срезы всех исследуемых случаев были окрашены IHC средствами с применением панели VENTANA MMR IHC Panel и надлежащих реагентов отрицательного контроля. Дополнительные срезы ткани были направлены на секвенирование ДНК панели толстой кишки. Одним из механизмов, которые могут приводить к потере экспрессии белка MLH1, является гиперметилирование промотора MLH1, это состояние чаще связано с развитием спорадического колоректального рака, чем с диагнозом потенциального синдрома Lynch. По этой причине, все случаи потери MLH1, выявленные IHC средствами в этом исследовании, прошли испытание для выявления гиперметилирования промотора MLH1.

Для окончательной выборки исследования, включавшей 118 случаев, в анализе определяли показатели PPA и NPA для совокупности всех маркеров (то есть, с объединением всех наблюдений), при этом молекулярное тестирование было референсным методом для установления статуса, с которым сравнивались результаты IHC. Анализ включал сравнение статуса белка MMR (сохранение/потеря экспрессии) с молекулярным статусом, определенным как нормальный (отсутствие патогенных мутаций, отрицательно в отношении гиперметилирования промотора MLH1 и дикий тип BRAF (отсутствие мутации V600E)) или аномальный (наличие патогенных мутаций, положительно в отношении гиперметилирования промотора MLH1 и (или) положительно в отношении мутации BRAF V600E). В данном исследовании патогенная мутация в опухоли определяется как зародышевая или соматическая мутация, которая, как предполагается, приводит к потере экспрессии белка MMR. Точечные оценки составили 99.4 % PPA, 93.5 % NPA и 98.8 % OPA, как показано в Табл. 27.

Также был выполнен анализ со сравнением объединенных данных по четырем IHC-маркерам MMR (без антитела VENTANA anti-BRAF V600E (VE1)) с результатами молекулярного тестирования. Точечные оценки составили 99.3 % PPA, 89.7 % NPA и 98.5 % OPA, как показано в Табл. 28.

В дополнительном анализе проведено сравнение результатов по четырем IHC-маркерам MMR с результатами молекулярного тестирования генов MMR на уровне случая, чтобы включить статусы всех маркеров и определить исход dMMR/pMMR для двух методов. Этот анализ представлен в Табл. 29; он выявил величину OPA 97.4 % между двумя методами.

Сравнение IHC-статуса MMR и статуса MMR по данным молекулярного тестирования также проводили по отдельным маркерам MMR, рассмотренным в исследовании. Величины OPA для каждого маркера MMR, полученные при сравнении с объединенными результатами секвенирования ДНК панели толстой кишки и оценки гиперметилирования промотора MLH1, составили 100.0 % для антитела VENTANA anti-MLH1 (M1), 99.1 % для мышинового моноклонального антитела VENTANA anti-PMS2 (A16-4) Mouse Monoclonal Primary Antibody, 98.3 % для мышинового моноклонального антитела VENTANA anti-MSH2 (G219-1129) Mouse Monoclonal Primary Antibody и 96.6 % для кроличьего моноклонального антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) Rabbit Monoclonal Primary Antibody.

Клинический статус BRAF V600E при колоректальном раке, полученный с помощью IHC тестирования с использованием антитела VENTANA anti-BRAF V600E (VE1), также сравнивался с результатами статуса мутации BRAF, определенными с помощью секвенирования ДНК. PPA, NPA и OPA при тестировании IHC с использованием антитела VENTANA anti-BRAF V600E (VE1) и секвенирования ДНК в качестве референса составили 100 % (Табл. 30). Было проведено дополнительное тестирование для проверки способности антитела VENTANA anti-BRAF V600E (VE1) дополнительно стратифицировать случаи CRC, демонстрирующие потерю экспрессии белка MLH1. Из 23 положительных случаев BRAF V600E 20 случаев имели потерю белка MLH1, выявленную методом IHC, и были положительными в отношении гиперметилирования промотора MLH1. Эти данные сопоставимы с тесной связью положительного статуса мутации BRAF V600E и гиперметилирования промотора MLH1. Оставшиеся три случая были pMMR (со всеми сохраненными

белками MMR). Все положительные по BRAF V600E образцы были идентифицированы как спорадические случаи колоректального рака. Результаты подтверждают, что антитело VENTANA anti-BRAF V600E (VE1) позволяет правильно выявлять случаи колоректального рака, имеющие мутацию BRAF V600E. Данные также поддерживают использование антитела VENTANA anti-BRAF V600E (VE1) для дифференцирования спорадических случаев колоректального рака и случаев колоректального рака с вероятным синдромом Lynch в отсутствие экспрессии MLH1.

**Табл. 27.** Объединенный анализ для совпадения показателей VENTANA MMR IHC Panel между результатами IHC и молекулярного тестирования.

| Статус<br>(Молекулярный/IHC) | Процент совпадения |         |      |               |
|------------------------------|--------------------|---------|------|---------------|
|                              | Тип                | n/N     | %    | 95 % CI       |
| Нормальный/Сохраненная       | PPA                | 523/526 | 99.4 | (98.7, 100.0) |
| Аномальный/Потеря            | NPA                | 58/62   | 93.5 | (87.1, 98.6)  |
| Всего                        | OPA                | 581/588 | 98.8 | (98.0, 99.7)  |

Примечание. Процент совпадения положительных результатов (PPA), процент совпадения отрицательных результатов (NPA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Для IHC указан статус MMR как «Сохранение» или «Потеря» экспрессии белка. Для этого анализа отрицательные и положительные по BRAF V600E случаи были включены в категории Сохраненной или Потерянной экспрессии соответственно. Молекулярное тестирование указывало на отсутствие (нормальный) или присутствие (аномальный) потенциальных патогенных мутаций или гиперметилирования промотора MLH1.

Примечание. Значения 95 % доверительных интервалов (CI) были вычислены с использованием метода многократной генерации процентилей.

**Табл. 28.** Объединенный анализ на соответствие четырех IHC-маркеров MMR (без антитела VENTANA anti-BRAF V600E (VE1)) между IHC и молекулярным тестированием.

| Статус<br>(Молекулярный/IHC) | Процент совпадения |         |      |               |
|------------------------------|--------------------|---------|------|---------------|
|                              | Тип                | n/N     | %    | 95 % CI       |
| Нормальный/Сохраненная       | PPA                | 428/431 | 99.3 | (98.4, 100.0) |
| Аномальный/Потеря            | NPA                | 35/39   | 89.7 | (79.4, 97.7)  |
| Всего                        | OPA                | 463/470 | 98.5 | (97.3, 99.6)  |

Примечание. Процент совпадения положительных результатов (PPA), процент совпадения отрицательных результатов (NPA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Для IHC статус указан как «Сохранение» или «Потеря» экспрессии белка. Молекулярное тестирование указывало на отсутствие (нормальный) или присутствие (аномальный) потенциальных патогенных мутаций или гиперметилирования промотора MLH1.

Примечание. Значения 95 % доверительных интервалов (CI) были вычислены с использованием метода многократной генерации процентилей.

**Табл. 29.** Совпадения между результатами определения методом четырех IHC-маркеров MMR и молекулярного тестирования статуса MMR (dMMR/pMMR).

| Статус MMR | Процент совпадения |       |      |              |
|------------|--------------------|-------|------|--------------|
|            | Тип                | n/N   | %    | 95 % CI      |
| pMMR       | PPA                | 79/80 | 98.8 | (93.3, 99.8) |

| Статус MMR | Процент совпадения |         |      |              |
|------------|--------------------|---------|------|--------------|
|            | Тип                | n/N     | %    | 95 % CI      |
| dMMR       | NPA                | 35/37   | 94.6 | (82.3, 98.5) |
| Всего      | OPA                | 114/117 | 97.4 | (92.7, 99.1) |

Примечание. Процент совпадения положительных результатов (PPA), процент совпадения отрицательных результатов (NPA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Для IHC статус случая pMMR устанавливается при статусе сохранения всех белков MMR, а статус dMMR соответствует потере одного или нескольких белков MMR. Для молекулярного тестирования статусом pMMR обозначается отсутствие патогенных мутаций или гиперметилирования промотора MLH1, а статус dMMR обозначает присутствие патогенных мутаций или гиперметилирования промотора MLH1.

Примечание. Значения двухсторонних 95 % доверительных интервалов (CI) были рассчитаны с использованием метода оценки Уилсона.

**Табл. 30.** Совпадения между IHC с антителом VENTANA anti-BRAF V600E (VE1) и молекулярным тестированием.

| BRAF V600E<br>Статус<br>(Молекулярный/IHC) | Процент совпадения |         |       |               |
|--|--------------------|---------|-------|---------------|
|  | Тип                | n/N     | %     | 95 % CI       |
| Положительный/аномальный                   | PPA                | 23/23   | 100.0 | (85.7, 100.0) |
| Отрицательный/нормальный                   | NPA                | 95/95   | 100.0 | (96.1, 100.0) |
| Всего                                      | OPA                | 118/118 | 100.0 | (96.8, 100.0) |

Примечание. Процент совпадения положительных результатов (PPA), процент совпадения отрицательных результатов (NPA), общий процент совпадения (OPA).

Примечание. Статус BRAF V600E был определен как положительный или отрицательный результат для IHC и как аномальный (наличие мутации V600E) или нормальный (BRAF дикого типа) результат для молекулярного тестирования.

Примечание. Значения двухсторонних 95 % доверительных интервалов (CI) были рассчитаны с использованием метода оценки Уилсона.

**Аналитические характеристики при использовании антитела VENTANA anti-MSH6 (SP93) Antibody с прибором BenchMark ULTRA PLUS**

**Конкордантность между приборами BenchMark ULTRA PLUS и BenchMark ULTRA при использовании антитела MSH6 (SP93) Antibody**

Три лаборатории разных учреждений в Соединенных Штатах Америки участвовали в исследовании согласования между прибором BenchMark ULTRA PLUS и прибором BenchMark ULTRA. Рассмотрено 120 уникальных случаев колоректальной карциномы, карциномы эндометрия и «других» солидных опухолей систем органов, представляющих диапазон статусов по антителам VENTANA anti-MSH6 (SP93) Antibody с равным распределением статусов потери MSH6 и сохранения MSH6 по каждому показанию, как определено при совместном обсуждении RTD. Предметные стекла с образцами тканей из всех случаев были окрашены H&E, реагентом отрицательного контроля и анализом VENTANA anti-MSH6 (SP93) Assay на приборе BenchMark ULTRA с использованием рекомендуемого протокола окрашивания. Неокрашенные предметные стекла с образцами тканей для каждого случая были рандомизированы и распределены в равном количестве (40 образцов в каждый исследовательский центр, чтобы каждый центр получил репрезентативную выборку случаев исследования) для выполнения окрашивания на приборе BenchMark ULTRA PLUS с применением рекомендуемого протокола окрашивания для VENTANA MSH6 (SP93). Два врача-патологоанатома в каждом исследовательском центре, для которых статус случая был маскирован, оценивали предметные стекла, окрашенные на приборе BenchMark ULTRA PLUS, и определяли статус MSH6. После

двухнедельного периода забывания предметные стекла, относящиеся к соответствующим случаям, ранее окрашенные в компании Roche на приборе BenchMark ULTRA, распространяли в соответствующих исследовательских центрах для клинической оценки. Помимо этого, один врач-патологоанатом RTD проводил обзор всех предметных стекол, участвовавших в исследовании; он считался третьим врачом-патологоанатомом для каждого исследовательского центра. Результаты анализировались компанией Roche. Показатели OPA, LPA и IPA составили 96.1 % (342/356), 96.0 % (169/176) и 96.1 % (173/180) соответственно. Результаты представлены в Табл. 31.

**Табл. 31.** Объединенные показатели совпадений статуса MSH6 для образцов, окрашенных антителом VENTANA anti-MSH6 (SP93) на приборе BenchMark ULTRA PLUS в сравнении с прибором BenchMark ULTRA.

| Статус на BenchMark ULTRA PLUS MSH6 (SP93) | Статус на BenchMark ULTRA MSH6 (SP93) |                    | Всего |
|--|---------------------------------------|--------------------|-------|
|  | Потеря                                | Сохранение         |       |
| Потеря                                     | 169                                   | 7                  | 176   |
| Сохранение                                 | 7                                     | 173                | 180   |
| Всего                                      | 176                                   | 180                | 356   |
|  | <b>n/N</b>                            | <b>% (95 % CI)</b> |       |
| LPA  | 169/176                               | 96.0 (93.0, 98.9)  |       |
| IPA  | 173/180                               | 96.1 (92.8, 98.9)  |       |
| OPA  | 342/356                               | 96.1 (93.8, 98.0)  |       |

Примечание. Двухсторонние 95 % CI вычисляли с использованием метода многократной генерации процентилей на 2000 повторностях, со стратификацией по показанию и статусу биомаркера (сохранение, потеря, сложный случай), в общей сложности 9 категорий.

Примечание. Для получения объединенных показателей объединяли все случаи и всех экспертов по каждому маркеру.

Примечание. LPA = процент совпадения результатов «Потеря»; IPA = процент совпадения результатов «Сохранение»; OPA = общий процент совпадения.

### Исследование межлабораторной воспроизводимости на приборе BenchMark ULTRA PLUS

Для демонстрации воспроизводимости каждого анализа с панелью VENTANA MMR RxDx Panel для определения статуса MMR образцов различных солидных опухолей было проведено исследование межлабораторной воспроизводимости результатов применения этой панели. Исследование включало 42 архивных, деидентифицированных образца FFPE, которые были окрашены на приборе BenchMark ULTRA PLUS в каждой из 3 внешних лабораторий в каждый из 3 неопределенных дней (в общей сложности не менее 20 дней). В каждый день окрашивания в каждом центре получали панель из 5 предметных стекол [4 стекла, окрашенные антителами к биомаркерам, и 1 стекло, окрашенное Negative Control (Monoclonal) с использованием протокола окрашивания PMS2], которые независимо оценивались на предмет статуса каждого маркера (сохранение или потеря экспрессии) и статуса MMR (дефицитный или полносоставный) 2 врачами-патологоанатомами в исследовательском центре.

Исследование включало в себя 756 наблюдений для 42 образцов (включая 4 сложных образца), окрашенных в течение 3 дней в 3 центрах с участием 2 экспертов в каждом исследовательском центре. Результаты определения статуса MMR всеми экспертами, во всех исследовательских центрах, во все дни проведения исследования для всех случаев были объединены и проанализированы в сравнении с наиболее частой оценкой экспертов для тех же случаев, чтобы определить общую воспроизводимость статуса MMR. Резюме показателей соответствия по всем поддающимся оценке наблюдениям с использованием режимов интерпретации экспертом на уровне случая для статуса на уровне панели MMR в качестве справочного материала представлено в Табл. 32.

**Табл. 32.** Межлабораторная воспроизводимость по общим частотам совпадения для панели VENTANA MMR RxDx Panel при окрашивании различных солидных опухолей.

| Межлабораторная воспроизводимость          | Процент совпадения |         |       |               |
|--|--------------------|---------|-------|---------------|
|  | Тип                | n/N     | %     | 95 % CI       |
| Общий показатель                           | dMPA               | 373/375 | 99.5  | (98.7, 100.0) |
|  | pMPA               | 378/378 | 100.0 | (99.0, 100.0) |
|  | OPA                | 751/753 | 99.7  | (99.3, 100.0) |
| Стратификация по исследовательскому центру | dMPA               | 373/375 | 99.5  | (98.7, 100.0) |
|  | pMPA               | 378/378 | 100.0 | (99.0, 100.0) |
|  | OPA                | 751/753 | 99.7  | (99.3, 100.0) |
| Стратификация по эксперти                  | dMPA               | 373/375 | 99.5  | (98.7, 100.0) |
|  | pMPA               | 378/378 | 100.0 | (99.0, 100.0) |
|  | OPA                | 751/753 | 99.7  | (99.3, 100.0) |

Примечание. dMPA = процент совпадения результатов dMMR; pMPA = процент совпадения результатов pMMR. OPA = общий процент совпадения.

Примечание. Значения двухсторонних 95 % CI были рассчитаны с использованием метода многократной генерации процентилей на основе 2000 повторностей. Доверительные интервалы для 100 % dMPA, pMPA и OPA были рассчитаны при помощи метода оценки Уилсона.

Кроме того, были проведены попарные сравнения статуса MMR между центрами, между экспертами и между днями. Как указано в Табл. 33, анализ был воспроизводим между 3 днями, 3 исследовательскими центрами и 6 экспертами.

**Табл. 33.** Межлабораторная воспроизводимость по частотам попарного совпадения для панели VENTANA MMR RxDx Panel при окрашивании карциномы эндометрия.

| Межлабораторная воспроизводимость | Процент совпадения |           |      |               |
|-----------------------------------|--------------------|-----------|------|---------------|
|                                   | Тип                | n/N       | %    | 95 % CI       |
| Между исследовательскими центрами | ADPA               | 4416/4440 | 99.5 | (98.6, 100.0) |
|                                   | APPA               | 4536/4560 | 99.5 | (98.7, 100.0) |
|                                   | OPA                | 4476/4500 | 99.5 | (98.7, 100.0) |
| Между экспертами                  | ADPA               | 370/372   | 99.5 | (98.6, 100.0) |
|                                   | APPA               | 378/380   | 99.5 | (98.7, 100.0) |
|                                   | OPA                | 374/376   | 99.5 | (98.7, 100.0) |
| Между днями                       | ADPA               | 738/741   | 99.6 | (99.2, 100.0) |
|                                   | APPA               | 756/759   | 99.6 | (99.2, 100.0) |
|                                   | OPA                | 747/750   | 99.6 | (99.2, 100.0) |

Примечание. ADPA = средний процент совпадения результатов dMMR; APPA = средний процент совпадения результатов pMMR; OPA = общий процент совпадения.

Примечание. Значения двухсторонних 95 % CI были рассчитаны с использованием метода многократной генерации процентилей на основе 2000 повторностей.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Boyer JC, Umar A, Risinger JI, et al. Microsatellite instability, mismatch repair deficiency, and genetic defects in human cancer cell lines. *Cancer Res.* 1995;55(24):6063-6070.
2. Lawes DA, Pearson T, Sengupta S, et al. The role of MLH1, MSH2, and MSH6 in the development of multiple colorectal cancers. *Br J Cancer.* 2005;93(4):472-477.
3. Kheirelseid EA, Miller N, Chang KH, et al. Mismatch repair protein expression in colorectal cancer. *J. Gastrointest Oncol.* 2013;4(4):397-408.
4. Hsieh P, Yamane K. DNA mismatch repair: molecular mechanism, cancer, and ageing. *Mech Ageing Dev.* 2008;129(7-8):391-407.
5. Naboush A, Roman C, Shapira I. Immune checkpoint inhibitors in malignancies with mismatch repair deficiency: a review of the state of the current knowledge. *J Investig Med.* 2017;65(4):754-758.
6. Chang L, Chang M, Chang HM, et al. Microsatellite instability: a predictive biomarker for cancer immunotherapy. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2018;26(2):e15-e21.
7. Buza N, Ziai J, Hui P. Mismatch repair deficiency testing in clinical practice. *Expert Rev Mol Diagn.* 2016;16(5):591-604.
8. Silva FCC, Torrezan GT, Ferreira JRO, et al. Germline mutations in MLH1 leading to isolated loss of PMS2 expression in Lynch syndrome: implications for diagnostics in the clinic. *Am J Surg Pathol.* 2017;41(6):861-864.
9. Cunningham JM, Tester DJ, Thibodeau SN. Mutation detection in colorectal cancers: direct sequencing of DNA mismatch repair genes. *Methods Mol Med.* 2001;50:87-98.
10. Yamashita H, Nakayama K, Ishikawa M, et al. Microsatellite instability is a biomarker for immune checkpoint inhibitors in endometrial cancer. *Oncotarget.* 2017;9(5):5652-5664.
11. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin.* 2019;69(1):7-34.
12. Pisani P, Bray F, Parkin DM. Estimates of the world-wide prevalence of cancer for 25 sites in the adult population. *Int J Cancer.* 2002;97(1):72-81.
13. Kato M, Takano M, Miyamoto M, et al. DNA mismatch repair-related protein loss as a prognostic factor in endometrial cancers. *J Gynecol Oncol.* 2015;26(1):40-45.
14. Matthews KS, Estes JM, Conner MG, et al. Lynch syndrome in women less than 50 years of age with endometrial cancer. *Obstet Gynecol.* 2008;111(5):1161-6.
15. Kim SR, Pina A, Albert A, et al. Does MMR status in endometrial cancer influence response to adjuvant therapy? *Gynecol Oncol.* 2018;151(1):76-81.
16. Tran AQ and Gehrig P. Recent advances in endometrial cancer. *F1000 Research* 2017;6(F1000 Faculty Rev):81-90.
17. Blank C, Mackensen A. Contribution of the PD L1/PD-1 pathway to T-cell exhaustion: an update on implications for chronic infections and tumor evasion. *Cancer Immunol Immunother.* 2007;56(5):739-745.
18. Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature.* 2014;515(7528):563-567.
19. Xiao X, Dong D, He W, et al. Mismatch repair deficiency is associated with MSI phenotype, increased tumor-infiltrating lymphocytes and PD-L1 expression in immune cells in ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2018;149(1):146-154.
20. Le DT, Durham JN, Smith KN, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science.* 2017;357(6349):409-413.
21. Sloan EA, Ring KL, Willis BC, et al. PD-L1 expression in mismatch repair-deficient endometrial carcinomas, including Lynch syndrome-associated and MLH1 promoter hypermethylated tumors. *Am J Surg Pathol.* 2017;41(3):326-333.
22. Dudley JC, Lin MT, Le DT, et al. Microsatellite instability as a biomarker for PD-1 blockade. *Clin Cancer Res.* 2016;22(4):813-820.
23. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013.
24. Geiersbach KB, Samowitz WS. Microsatellite instability and colorectal cancer. *Arch Pathol Lab Med.* 2011;135(10):1269-1277.
25. Wright CL, Stewart ID. Histopathology and mismatch repair status of 458 consecutive colorectal carcinomas. *Am J Surg Pathol.* 2003;27(11):1393-1406.
26. Tiwari AK, Roy HK, Lynch HT. Lynch syndrome in the 21st century: clinical perspectives. *QJM.* 2016;109(3):151-158.
27. Giardiello FM, Allen JI, Axilbund JE, Boland CR, Burke CA, et al. Guidelines on Genetic Evaluation and Management of Lynch Syndrome: A Consensus Statement by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *Diseases of the Colon & Rectum.* 2014;57(8):1025-1048.
28. Egoavil C, Alenda C, Castillejo A, Paya A, Peiro G, et al. Prevalence of Lynch syndrome among patients with newly diagnosed endometrial cancers. *PLoS One.* 2013;8(11):e79737.
29. Connell LC, Mota JM, Braghiroli MI, Hoff PM. The Rising Incidence of Younger Patients With Colorectal Cancer: Questions About Screening, Biology, and Treatment. *Curr Treat Options Oncol.* 2017;18(4):23.
30. Provenzale D, Gupta S, Ahnen DJ, Bray T, Cannon JA, et al. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Colorectal Version 1.2016, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2016;14(8):1010-1030.
31. Balmana J, Balaguer F, Cervantes A, Arnold D, Group EGW. Familial risk-colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol.* 2013;24 Suppl 6:vi73-80.
32. Evaluation of Genomic Applications in P, Prevention Working G. Recommendations from the EGAPP Working Group: genetic testing strategies in newly diagnosed individuals with colorectal cancer aimed at reducing morbidity and mortality from Lynch syndrome in relatives. *Genet Med.* 2009;11(1):35-41.
33. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst.* 2004;96(4):261-268.
34. Parsons MT, Buchanan DD, Thompson B, Young JP, Spurdle AB. Correlation of tumour BRAF mutations and MLH1 methylation with germline mismatch repair (MMR) gene mutation status: a literature review assessing utility of tumour features for MMR variant classification. *J Med Genet.* 2012;49(3):151-157.
35. Shia J. Evolving approach and clinical significance of detecting DNA mismatch repair deficiency in colorectal carcinoma. *Semin Diagn Pathol.* 2015;32(5):352-361.
36. Thiel A, Heionen M, Kantonen J, Gylling A, Lahtinen L, et al. BRAF mutation in sporadic colorectal cancer and Lynch syndrome. *Virchows Arch.* 2013;463(5):613-621.
37. Deng G, Bell I, Crawley S, Gum J, Terdiman JP, et al. BRAF mutation is frequently present in sporadic colorectal cancer with methylated hMLH1, but not in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2004;10(1 Pt 1):191-195.
38. Toon CW, Chou A, DeSilva K, Chan J, Patterson J, et al. BRAFV600E immunohistochemistry in conjunction with mismatch repair status predicts survival in patients with colorectal cancer. *Mod Pathol.* 2014;27(5):644-650.
39. Koinuma K, Shitoh K, Miyakura Y, Furukawa T, Yamashita Y, et al. Mutations of BRAF are associated with extensive hMLH1 promoter methylation in sporadic colorectal carcinomas. *Int J Cancer.* 2004;108(2):237-242.
40. Carson FL, Cappellano C. *Histotechnology; A Self-Instructional Text*, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
41. Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances*. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
42. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
43. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
44. Rabinovitch A. The College of American Pathologists laboratory accreditation program. *Accreditation and Quality Assurance.* 2002;7(11):473-476.
45. CLSI. *Quality Assurance for Design Control and Implementation of Immunohistochemistry Assays: Approved Guideline-Second Edition*. CLSI document I/LA28-A2 (ISBN 1-56238-745-6). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2011.
46. Lorenzi M, Amonkar M, Zhang J, et al. Epidemiology of Microsatellite Instability High (MSI-H) and Deficient Mismatch Repair(dMMR)in Solid Tumors: A Structured Literature Review. *J. Oncology.* 2020; (22):1-17.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** В настоящем документе в дробных числах в качестве границы, отделяющей десятичные знаки от целого, всегда используется точка. Разделители для тысяч не используются.

Сводную информацию о безопасности и эксплуатационных характеристиках можно найти по адресу:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

## Символы

Компания Ventana использует следующие символы и знаки в дополнение к указанным в стандарте ISO 15223-1 (для USA: более подробную информацию см. на веб-сайте [elabdoc.roche.com/symbols](http://elabdoc.roche.com/symbols)).

**GTIN**

Глобальный номер товара

Rx only

Для USA: Внимание Федеральное законодательство разрешает продажу этой продукции только медицинским работникам или по их заказу.

## ИСТОРИЯ РЕДАКЦИЙ

| Ред. | Обновления  |
|------|---|
| E    | Добавление прибора BenchMark Ultra PLUS. Обновлены следующие разделы: «Процедура окрашивания», «Эксплуатационные характеристики для Ventana MMR RxDx Panel», «Аналитическая эффективность» и «Эксплуатационные характеристики для панели Ventana MMR IHC». Шаблон обновлен до последней версии. |

## ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

VENTANA, BENCHMARK и OPTIVIEW являются товарными знаками Roche. Все остальные наименования продуктов и товарные знаки являются собственностью их соответствующих владельцев.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim  
Germany  
+800 5505 6606

[www.roche.com](http://www.roche.com)

