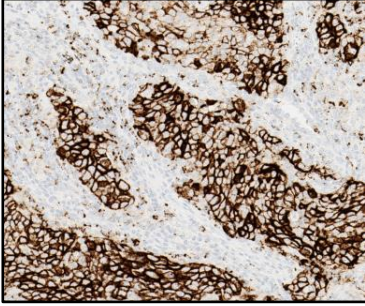


VENTANA PD-L1 (SP142) Assay

REF 741-4860

08008540001

IVD Σ 50



Şekil 1. Küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde PD-L1 ekspresyonu.

yoğunlukta PD-L1 ekspresyonu yapan tümör infiltrate edici immün hücrelerin işgal ettiği tümör alanının oranı (% IC) veya herhangi bir yoğunlukta PD-L1 ekspresyonu yapan tümör hücrelerinin yüzdesine (% TC) dayanır.

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, onaylı tedavi amaçlı ürün etiketine uygun olarak ilgili endikasyonlar ve kesme noktaları için Tablo 1'de belirtilen tedaviler için hastaların belirlenmesine yardımcı olarak endikedir.

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, onaylı tedavi amaçlı ürün etiketine uygun olarak ilgili endikasyon ve kesme noktaları için Tablo 2'de belirtilen tedavilerle geliştirilmiş hasta faydasıyla ilişkilendirilebilir.

Tablo 1. VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ek tanı endikasyonları.

Kullanım endikasyonu	Tedavi	Kesme Noktası
Ürotelyal Karsinom	TECENTRIQ	≥ %5 IC
Üçlü Negatif Meme Karsinomu (TNBC)	TECENTRIQ	≥ %1 IC

Tablo 2. VENTANA PD-L1 (SP142) Assay tamamlayıcı tanı endikasyonu.

Kullanım endikasyonu	Tedavi	Kesme Noktası
Küçük Hücreli Olmayan Akciğer Kanseri (NSCLC)	TECENTRIQ	≥ %50 TC veya ≥ %10 IC ≥ %1 TC veya ≥ %1 IC

Bu ürünün test sonuçları, uzman bir patolog tarafından histolojik inceleme, ilgili klinik bilgiler ve doğru kontrollere birlikte yorumlanmalıdır.

Bu ürün, *in vitro* tanı (IVD) amaçlı kullanıma yöneliktir.

ÖZET VE AÇIKLAMA

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, PD-L1 proteinini belirlemek için anti-PD-L1 tavşan monoklonal birincil antikor kullanılarak bir immünohistokimyasal tayindir. Bu tayin, TECENTRIQ® ile yapılacak tedaviye yanıt vermesi en muhtemel hastaları belirlemek amacıyla Roche/Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana) ve Roche/Genentech tarafından birlikte geliştirilmiştir.

PD-L1, bir transmembran protein olup iki reseptör programlı ölüm-1 (PD-1) ve B7.1 bağlanması ile bağışıklık tepkisinin down regülasyonunu sağlar. PD-1, T-hücre aktivasyonunu takiben T hücrede bulunan bir inhibitör reseptörü olup kronik enfeksiyon veya kanser gibi kronik stimülasyon durumunda görülür.¹ PD-L1'in PD-1 ile bağlanmasıyla, fonksiyonel inaktivasyon veya T hücrelerinin tükenmesine neden olacak T hücre profilyasyonu, sitokin üretimi ve sitolitik aktivite engellenir. B7.1, antijen sunan hücreler ve aktive edilmiş T hücrelerde eksprese edilen bir moleküldür. PD-L1'in T hücrelerinde ve antijen veren hücrelerde B7.1 ile bağlanması, T-hücresi aktivasyonu ve sitokin üretiminin engellenmesi de dahil olmak üzere, immün yanıtların down regülasyonuna aracılık edebilir.² PD-L1 ekspresyonu, immün hücreler ile malign hücrelerde gözlemlenmiştir ve tümör hücreleri (TC) üzerinde PD-L1'in anormal ekspresyonunun anti-tümör bağışıklığı engelleyerek immün kaçışa neden olduğu rapor edilmiştir.^{1,3} Bu nedenle PD-L1/PD-1 yolunun kesintiye uğraması tümör mikro ortamında PD-L1 ekspresyonu ile baskılanan tümör-spesifik T hücre bağışıklığını harekete geçirmek için cazip bir strateji ortaya koymaktadır. TC içinde veya tümör infiltrate edici immün hücrelerde (IC) PD-L1 ekspresyonu ve PD-L1/PD-1 yolu inhibitörleriyle elde edilen klinik fayda arasındaki ilişki, birden çok kanserde rapor edilmiştir.³⁻¹⁰

Atezolizumab, PD-L1'e bağlanan ve PD-1 ile B7.1 reseptörleri arasındaki etkileşimleri bloke eden bir Fc-işlenmiş, insanlaştırılmış, monoklonal antikordur. Atezolizumab, 145kDa'lık hesaplanmış moleküler kütleye sahip bir glikozile olmayan IgG1 kappa immünooglobulindir.

PROSEDÜRÜN PRENSİBİ

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, parafine gömülü doku kesitlerinde PD-L1'e bağlanan bir tavşan monoklonal primer antikor kullanır. Spesifik antikor şunlar kullanılarak görselleştirilebilir: OptiView DAB IHC Detection Kit (Kat. No. 760-700 / 06396500001) ve OptiView Amplification Kit (Kat. No. 760-099 / 06396518001 (50 test) veya 860-099 / 06718663001 (250 test)) kullanılarak görselleştirilebilir. Daha fazla bilgi için ilgili OptiView DAB IHC Detection Kit ve OptiView Amplification Kit prospektüslerine bakın.

ÜRÜNLE BİRLİKTE VERİLEN REAKTİF

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay 50 test için yeterli reaktif içerir.

Bir adet 5 mL VENTANA PD-L1 (SP142) Assay dağıtıcısı, yaklaşık 36 µg tavşan monoklonal antikor içerir.

Antikor, %0,3 taşıyıcı protein ve koruyucu olarak %0,05 sodyum azid içeren 0,05 M Tris tamponlu salin, 0,01 M EDTA ve %0,05 Brij-35 içinde seyreltilmiştir.

Reaktifin toplam protein konsantrasyonu yaklaşık 3 mg/mL'dir. Spesifik antikor konsantrasyonu yaklaşık 7 µg/mL'dir.

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, saflaştırılmış hücre kültürü süpematantı olarak üretilen bir rekombinant tavşan monoklonal antikor içerir.

Spesifik endikasyonlarda VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasının ayrıntılı yorumlama talimatları için ilgili yorumlama kılavuzuna başvurun:

- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for Urothelial Carcinoma (P/N 1015704EN)
- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for NSCLC ≥ %50 TC veya ≥ %10 IC Aşamalı Puanlama Algoritması (P/N 1015703EN)
- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for NSCLC ≥ %1 TC veya ≥ %1 IC Aşamalı Puanlama Algoritması (P/N 1015654EN)
- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for TNBC (P/N 1018231EN)

Aşağıdaki konular hakkında ayrıntılı bilgi için ilgili VENTANA saptama kitinin prospektüsüne bakın: Prosedür Prensipleri, Malzeme ve Yöntemler, Analiz İçin Numune Toplama ve Hazırlama, Kalite Kontrol Prosedürleri, Sorun Giderme, Sonuçların Yorumlanması ve Genel Kısıtlamalar.

GEREKLİ OLAN FAKAT ÜRÜNLE BİRLİKTE VERİLMİYEN MALZEMELER

VENTANA saptama kitleri gibi boyama reaktifleri ile negatif ve pozitif doku kontrol slaytlarını da içeren yardımcı bileşenler ürünle birlikte verilmemektedir.

Prospektüste listelenen ürünlerin hepsi tüm bölgelerde mevcut olmayabilir. Yerel destek temsilcimiz ile iletişime geçin.

Aşağıda yer alan reaktifler ve malzemeler, boyama için gerekli olabilir:

- Kontrol doku olarak kullanım için iyi huylu insan bademcik dokuları
- Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (Kat. No. 790-4795 / 06683380001)
- Mikroskop slaytları, pozitif yüklü

4. Barkod etiketleri
5. Ksilen (Histolojik kalitede)
6. Etanol veya reaktif alkol (Histolojik kalitede)
 - %100 çözelti: Seyreltilmemiş etanol veya reaktif alkol
 - %95 çözelti: 95 birim etanol veya reaktif alkolü 5 birim deiyonize suyla karıştırın
 - %80 çözelti: 80 birim etanol veya reaktif alkolü 20 birim deiyonize suyla karıştırın
7. Deiyonize veya distile su
8. OptiView DAB IHC Detection Kit (Kat. No. 760-700 / 06396500001)
9. OptiView Amplification Kit (Kat. No. 760-099 / 06396518001 (50 test) veya 860-099 / 06718663001 (250 test))
10. EZ Prep Concentrate (10X) (Kat. No. 950-102 / 05279771001)
11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (Kat. No. 950-300 / 05353955001)
12. LCS (Predilute) (Kat. No. 650-010 / 05264839001), BenchMark XT ve GX cihazları için
13. ULTRA LCS (Predilute) (Kat. No. 650-210 / 05424534001), BenchMark ULTRA cihazı için
14. Cell Conditioning Solution (CC1) (Kat. No. 950-124 / 05279801001), BenchMark XT ve GX cihazları için
15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (Kat. No. 950-224 / 05424569001), BenchMark ULTRA cihazı için
16. Hematoxylin II Karşıt boy (Kat. No. 790-2208 / 05277965001)
17. Bluing Reagent (Kat. No. 760-2037 / 05266769001)
18. Kalıcı sabitleme ortamı (Permunt Fisher Kat. No. SP15-500 veya eşdeğeri)
19. Lamel (dokuyu kaplayacak kadar, ör. VWR Kat. No. 48393-060)
20. Otomatik lamel yerleştirici (ör. Tissue-Tek SCA Automated Coverslip)
21. Işık mikroskopu
22. Emici bezler

SAKLAMA

Alındıktan sonra ve kullanmadığınız zamanlarda 2-8°C'de saklayın. Dondurmayın. Reaktifin düzgün bir şekilde uygulandığından ve antikor stabilitesinden emin olmak için dağıtıcı kapağını her kullanımdan sonra yerine takın ve dağıtıcıyı derhal soğutucuya dikey konumda yerleştirin.

Her antikor dağıtıcısının bir son kullanma tarihi vardır. Düzgün bir şekilde saklanması halinde, reaktif etikette belirtilen tarihe kadar stabil kalır. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

ÖRNEK HAZIRLAMA

Rutin olarak işlenmiş, FFPE dokular, VENTANA saptama kiti ve BenchMark IHC/ISH cihazlarıyla birlikte kullanıldığında bu primer antikorla kullanım için uygundur. En az 6 saat ve maksimum 72 saat boyunca %10 nötr tamponlu formalinde (NBF) doku fiksasyonu önerir. 6 saatten az fiksasyon süreleri, PD-L1 için boyama kaybına neden olabilir. Kullanılan NBF miktarı, doku hacminin 15 ila 20 katı olmalıdır. 24 saatlik süreçte hiçbir fiksatif katı dokuya 2 ila 3 mm'den veya gözenekli dokuya 5 mm'den fazla penetre olmayacaktır. Fiksasyon oda sıcaklığında gerçekleştirilebilir (15-25°C).^{11,12}

Alkol-formalin-asetik asit (AFA) gibi sabitleyiciler, PREFER sabitleyici ve diğer alkol içeren sabitleyiciler, test edilen tüm sabitleme sürelerinde (1-72 saat) PD-L1 için spesifik boyama kaybı göstermiştir ve bu nedenle birlikte kullanım için önerilmez. Örnek hazırlamanın PD-L1 boyama yoğunluğu üzerindeki etkisine ilişkin ayrıntılı tartışma için yorumlama kılavuzlarına bakın.

Kesitler yaklaşık 4 µm kalınlığında kesilmeli ve pozitif yüklenmiş cam slaytlara yerleştirilmelidir. Kesilmiş doku kesitlerinin antijenisitesi zaman geçtikçe azalacağı ve üroteliyal karsinom örnekleri için parafin bloğundan kesimden 3 ay sonra ve NSCLC, TNBC ve bademcik örnekleri için 2 ay sonra bozulabileceği için slaytlar hemen boyanmalıdır (aşağıdaki yorumlama kılavuzlarına ve Performans Özellikleri bölümüne bakın).

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. *In vitro* tanı (IVD) amaçlı kullanıma yöneliktir.
2. Sadece profesyonel kullanım içindir.
3. Pozitif olarak yüklenmiş slaytlar çevredeki streslerden etkilenecek IHC tayarlarının yanlış boyanmasına (örneğin dokuda primer antikor veya karşıt boy yokluğu)

neden olabilir. Bu tip slaytların nasıl kullanılacağını daha iyi anlamak için Roche temsilcilerinden bir "Impacts of Environmental Stresses on IHC Positively Charged Slides" kopyası isteyin.

4. İnsan veya hayvan kaynaklı materyaller, biyolojik olarak zararlı materyaller oldukları varsayılarak kullanılmalı ve uygun önlemler alınarak atılmalıdır.
5. Reaktiflerin göz ve mukozayla temas etmesini önleyin. Reaktifler hassas bölgelerle temas ederse bu bölgeleri bol suyla yıkayın.
6. Yanlış sonuçlar alınmasına neden olabileceği için reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyona maruz kalmasını önleyin.
7. Önerilen atma yöntemleri hakkında bilgi almak için yerel ve/veya resmi kurumlara danışın.
8. Ek güvenlik bilgileri için, www.ventana.com adresinde bulunan Güvenlik Veri Formu'na ve Simgeler ve Risk Deyimleri Kılavuzu'na bakın.

BOYAMA PROSEDÜRÜ

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, BenchMark IHC/ISH cihazlarında Rabbit Monoclonal Negative Control Ig, OptiView DAB IHC Detection Kit, OptiView Amplification Kit ve yardımcı reaktiflerle birlikte kullanılmak üzere geliştirilmiştir. VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile tayine özgü bir boyama prosedürü kullanılmaktadır. Önerilen boyama protokolü ve gerekli boyama prosedürü için Tablo 3'e bakınız. Önerilen test prosedürlerinden sapmak, beklenen sonuçları geçersiz kılabilir. Uygun kontroller uygulanmalı ve belgelenmelidir. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar, hasta sonuçlarının yorumlanması konusunda sorumluluğu kabul etmelidir.

Bu antikor spesifik inkübasyon zamanları için optimize edilmiştir, ancak kullanıcı reaktifte elde edilen sonuçları valide etmelidir.

Otomatik işlemlere ait parametreler, cihazın Kullanım Kılavuzundaki prosedüre göre görüntülenebilir, yazdırılabilir ve düzenlenebilir. İmmünohistokimyasal boyama prosedürleriyle ilgili ayrıntılı bilgi için ilgili VENTANA saptama kiti prospektüsüne bakın.

Tablo 3. BenchMark ULTRA, BenchMark XT veya BenchMark GX cihazında OptiView DAB IHC Detection Kit ve OptiView Amplification Kit ile VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ve Rabbit Monoclonal Negative Control Ig için önerilen boyama protokolü ve gerekli boyama prosedürleri.

Boyama Prosedürü:		ULTRA VENTANA PDL1 (SP142) XT VENTANA PDL1 (SP142) GX VENTANA PDL1 (SP142)
Protokol Basamağı	Parametre Girişi	
Fırınlama	İsteğe bağlı	
Antikor (Primer)	VENTANA PD-L1 (SP142) Seçilen veya Negative Control Seçilen	
Karşıt Boya	Hematoxylin II, 4 Dakika	
Karşıt Boyama Sonrası	Bluing, 4 Dakika	

KALİTE KONTROL PROSEDÜRLERİ

Rabbit Monoclonal Negative Control Ig

Her numune için sonuçların yorumlanmasına yardımcı olacak eşleştirilmiş negatif reaktif kontrol slayt çalışılmalıdır. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig, bu tayin için özellikle uyumlu bir negatif reaktif kontrol antikorudur olup spesifik dışı boyamayı değerlendirmek için primer antikor yerine kullanılır. Negatif reaktif kontrolü için boyama prosedürü, primer antikor inkübasyon dönemine eşit olmalıdır. Farklı bir negatif kontrol reaktifinin kullanılması veya önerilen negatif kontrol reaktifinin kullanılmaması, hatalı pozitif sonuçlara yol açabilir.

Bademcik Doku Kontrolü

Her boyama işlemine bir doku kontrolü dahil edilmelidir. Nitelikli iyi huylu insan bademcik dokusu, kontrol olarak kullanılmalıdır. Kontrol dokusu olabildiğince çabuk sabitlenmeli ve hasta dokularıyla aynı şekilde işlem görmelidir. Böyle bir doku, doku hazırlamadan boyama aşamasına kadar analizin tüm adımlarını izleyebilir. Bademcik dokusu, PD-L1 proteini için pozitif ve negatif boyama elemanlarını içinde barındırır ve bu nedenle doku kontrol amacı ile kullanılması uygundur. Pozitif ve negatif boyama doku bileşenleri, tayinin doğru şekilde çalıştığını doğrulamak için kullanılır.

Bademcik doku bileşenlerinin uygun boyaması, Tablo 4'de ve yorumlama kılavuzlarında açıklanmıştır.

Tayin Doğrulaması

Bir antikor veya boyama sisteminin tanı prosedüründe kullanılmasından önce antikorun spesifikliğini, pozitif ve negatif PD-L1 dokularını temsil eden bilinen IHC performans özelliklerine sahip bir dizi doku üzerinde test edilerek doğrulanmalıdır (prospektüsün bu bölümünde daha önce özetlenen Kalite Kontrol Prosedürlerine ve College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist¹³ veya CLSI Approved Guideline¹⁴ belgesinin Kalite Kontrol önerilerine başvurun). Bu kalite kontrol prosedürleri her yeni antikor lotu için veya tayin parametrelerinde yapılan her değişiklikte tekrarlanmalıdır. PD-L1 durumu bilinen üroteliyal karsinom, NSCLC ve TNBC dokuları ve iyi huylu insan bademcik numuneleri, tayin doğrulaması için uygundur.

SONUÇLARIN YORUMLANMASI

VENTANA otomatik immünoboyama prosedürü, VENTANA PD-L1 (SP142) Assay antikorunu ile lokalize antijen bölgelerinde kahverengi DAB bir reaksiyon ürününün çökmesine neden olur. Boyanmış slaytlar, uzman bir patolog tarafından ışık mikroskopisi kullanılarak yorumlanır. IHC prosedürlerinde deneyimli bir uzman patolog, sonuçların yorumlanmasından önce doku kontrollerine ve boyanmış ürünü değerlendirmelidir.

Bademcik Doku Kontrolü Yorumu

Boyanmış bademcik doku kontrolü, uygun boyama bakımından incelenmelidir. Germinal merkezlerdeki makrofaj ve lenfositlerde ve bademciğin retiküle kript epitelyumunda PD-L1 boyama varlığı, pozitif doku elemanı olarak işlev görür. Yüzeysel skuamöz epitelde ve bademciğin interfoliküler bölgelerindeki negatif bağışık hücrelerde boyama yokluğu, negatif doku elemanları olarak işlev görür. Kabul edilebilirlik kriterleri Tablo 4'de listelenmiştir. (Ayrıntılı tartışma için yorumlama kılavuzlarına başvurun).

Doku kontrolü uygun boyamada başarısız olursa, hasta örnekleriyle elde edilen herhangi bir sonuç değerlendirilemez olarak yorumlanmalı ve boyama işlemi tekrarlanmalıdır.

Tablo 4. Bademcik doku kontrolü değerlendirme kriterleri.

Kabul Edilebilir	Kabul Edilemez
Pozitif doku elemanları: Retiküle kript epitelyal hücrelerde diffüz boyama ile birlikte germinal merkezlerdeki lenfositler ve makrofajlarda belirtilen orta derece ila güçlü PD-L1 boyaması.	PD-L1 pozitif hücrelerin tanınmasını önleyen aşırı spesifik olmayan arka plan boyaması.
Negatif doku elemanları: Negatif yüzeysel skuamöz epitelyum ile interfoliküler bölgelerde PD-L1 negatif immün hücreler.	Germinal merkezlerde ve retiküle kript epitelyal hücrelerde lenfositler ve makrofajlarda belirtilen zayıf veya hiç olmayan PD-L1 boyaması.

Negative Reagent Control

Mevcut ise, spesifik olmayan boyamanın dağınık bir görünümü olur ve Rabbit Monoclonal Negative Control Ig ile boyanmış negatif reaktif kontrol slaytı kullanılarak değerlendirilebilir. Nekrotik veya dejenere hücreler genellikle spesifik olmayan boyama sonuçları verdiği için boyama sonuçlarını yorumlarken intakt hücreler kullanılmalıdır. Arka plan boyaması çok fazla ise, test örneğine ait sonuçlar geçersiz sayılmalıdır. Bu tayin için arka plan boyama örnekleri, yorumlama kılavuzlarında bulunabilir.

Hasta Dokusu

Tümör hücreleri (TC) herhangi bir yoğunlukta, PD-L1 membran boyamasında mevcut fark edilebilir tümör yüzdesi olarak puanlanır. Tümör infiltrate edici immün hücreler (IC), herhangi bir yoğunlukta PD-L1 boyama IC'nin işgal ettiği ilişkili intratümöral ve bitişik peritümöral stroma dahil olmak üzere tümör alanının oranı olarak puanlanır. Hasta dokusu, endikasyona ait Performans Özellikleri kısmında sağlanan endikasyon spesifik VENTANA PD-L1 (SP142) Assay puanlama algoritmasına göre değerlendirilmelidir. Ek talimatlar ve ilgili görseller için, endikasyona özel yorumlama kılavuzuna başvurun.

GENEL KISITLAMALAR

1. IHC; uygun reaktiflerin seçilmesi, doku seçimleri, fiksasyon, işleme, immünohistokimya slaydının hazırlanması ve boyama sonuçlarının yorumlanması işlemlerinde uzman eğitimi gerektiren çok adımlı bir tanı sürecidir.

2. Doku boyama, dokunun boyamadan önceki kullanımına ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan sabitleme, dondurma, çözme, yıkama, ısıtma, kesit alma veya diğer doku ya da sıvılarla kontaminasyon, artefaktlara, antikor sıkışmasına veya yanlış negatif sonuçlara neden olabilir. Tutarsız sonuçlar, sabitleme ve gömme yöntemlerindeki farklılıklardan veya doku içindeki yapısal düzensizliklerden kaynaklanabilir.
3. Aşırı veya yetersiz karşıt boyama, sonuçların doğru yorumlanmasını engelleyebilir.
4. Pozitif boyamanın varlığı veya yokluğu ile ilgili klinik yorumlama, klinik öykü, morfoloji ve diğer histopatolojik kriterler bağlamında değerlendirilmelidir. Herhangi bir boyamanın bulunması veya bulunmamasıyla ilgili yapılan klinik yorumlar, morfolojik incelemeler ve sistem düzeyinde kontrollerin yanı sıra diğer tanı amaçlı testler de yapılarak tamamlanmalıdır. Boyanan preparatı yorumlamak için kullanılan antikorları, reaktifleri ve yöntemleri bilmek, uzman bir patoloğun sorumluluğundadır. Boyama işlemi, boyanan slaytları incelemekten ve pozitif ve negatif kontrollerin yeterliliğini sağlamaktan sorumlu bir patoloğun gözetimi altında onaylı ve lisanslı bir laboratuvarında gerçekleştirilmelidir.
5. Ventana Medical Systems, Inc., verilen talimatların izlenmesi halinde antikorları ve reaktifleri kullanım için en uygun düzeyde seyreltilmiş olarak sağlamaktadır. Önerilen test prosedürlerinden sapmak, beklenen sonuçları geçersiz kılabilir. Uygun kontroller uygulanmalı ve belgelenmelidir. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar, hasta sonuçlarının yorumlanması konusunda sorumluluğu kabul etmelidir.
6. Bu ürün akış sitometrisi için kullanıma yönelik değildir ve performans karakteristikleri saptanmamıştır.
7. Reaktifler, daha önce test edilmeyen dokularda beklenmeyen reaksiyonlar gösterebilir. Beklenmeyen reaksiyonlar olasılığı, neoplazmalarda veya diğer patolojik dokulardaki antijen ifadesinin biyolojik çeşitliliğinden ötürü, test edilmiş doku gruplarında bile tamamen giderilebilmiş değildir.^{15, 16}
8. Hepatit B virüsünün bulaştığı kişilerden alınan ve hepatit B yüzey antijenini (HBsAg) içeren dokular, yabancı turpu peroksidad ile non-spesifik boyama özellikleri gösterebilir.¹⁷
9. Proteinlerin veya substrat reaksiyonu ürünlerinin immünohistokimya olmayan şekilde bağlanması nedeniyle hatalı pozitif sonuçlar görülebilir. Bunlar ayrıca, kullanılan immünohistokimyasal boyanın türüne bağlı olarak psödoperoksidad aktivitesi (eritrositler), endojenöz peroksidad aktivitesi (sitokrom C) veya endojenöz biotinden de kaynaklanabilirler veya endojenöz biotinden (örneğin: karaciğer, beyin, göğüs, böbrek) de kaynaklanabilir.¹⁸
10. Herhangi bir immünohistokimya testinde olduğu gibi, negatif bir sonuç antijenin tayin yapılan hücrelerde veya dokuda olmadığı anlamına değil, antijenin saptanmadığı anlamına gelmektedir.

ÖZEL KISITLAMALAR

1. VENTANA PD-L1 (SP142) Assay yalnızca, OptiView DAB IHC Detection Kit ve OptiView Amplification Kit olan BenchMark IHC/ISH cihazlarında onaylanmıştır ve diğer saptama ya da cihazlarla onaylanmamıştır.
2. Bir hasta örneği slaytı, Rabbit Monoclonal Negative Control Ig ile boyanmalıdır. Başka negatif kontrol reaktifleri bu tayin için uygun değildir.
3. Bu tayin, sitoloji numuneleri veya dekalsifiye kemik örnekleri ile kullanım için valide edilmemiştir.
4. Hasta dokusu, NSCLC, TNBC ve bademcik dokuları için doku bloğundan kesildikten sonra 2 ay içinde ve üroteliyal karsinom dokuları için 3 ay içinde boyanmalıdır. Bu sürelerden uzun süre oda sıcaklığında saklanmış doku kesitlerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyaması ile boyama performansında kayıp gözlemlenmiştir.
5. Numunelerin %10 NBF'de 6-72 saat sabitlenmesi önerilir. Önerilenden başka fiksasyon süreleri veya türlerinin kullanılması, hatalı negatif sonuçlara neden olabilir. AFA gibi sabitleyiciler, PREFER sabitleyici ve diğer alkolü sabitleyiciler, spesifik PD-L1 protein boyamasında kayba neden olmuştur. Ayrıntılı tartışma için yorumlama kılavuzlarına başvurun.
6. DAB spots (DAB noktaları), Blank spots (Blank noktalar) ve/veya Speckling gibi artefaktlar, VENTANA PD-L1 (SP142) Assay yorumlamasını etkilemesi durumunda boyama işleminin tekrarlanmasını gerektirebilir. Arka planın kabul edilebilir olduğundan emin olmak için, daima PD-L1 boyanmış slaytı negatif reaktif kontrol ile karşılaştırın. Ayrıntılı tartışma için yorumlama kılavuzlarına başvurun.
7. İyi huylu insan bademcik kontrolü, beyincik ve testis dokularında rastlantısal DAB noktaları gözlemlenmiş ve normal pankreatik (asinar hücreler) ve hipofizeal dokuda fokal nükleer boyama gözlemlenmiştir (Tablo 5); ancak nükleer boyama VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasının puanlamasına dahil edilmemektedir.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ - GENEL

Boyama özgünlüğü, hassasiyet, doku kalınlığının etkisi, tekrar edilebilirlik ve ara kesinliğin yanı sıra okuyucu kesinliği, laboratuvarlar arası yeniden üretilebilirlik ve klinik sonuç testleri gerçekleştirilmiş ve sonuçlar aşağıdaki bölümlerde listelenmiştir.

Genel Analiz Yorumları

Aksi belirtilmedikçe, 2.000 bootstrap numunesinden yüzdelik bootstrap yöntemi kullanılarak (klinik etkililik çalışmaları hariç) tüm çalışmalar için uyum tahminleri çevresindeki iki yönlü %95 güven aralığı (CI) hesaplanmıştır. Pozitif Uyum Yüzdesi (PPA), Negatif Uyum Yüzdesi (NPA) veya Toplam Uyum Yüzdesinin (OPA) nokta tahmininin %0 veya %100 olduğu durumlarda, %95 CI hesaplamak için Wilson puanı yöntemi kullanılmıştır. Ortalama Pozitif Uyum (APA) ve Ortalama Negatif Uyum (ANA) nokta tahmininin ikili karşılaştırma için %0 ile %100 arasında olması durumunda, %95 CI hesaplamak için transformasyon Wilson puanı yöntemi kullanılmıştır.

Spesifite

Çeşitli normal dokular içeren diziler VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmış ve Tablo 5'te açıklanan şekilde immün hücre boyamasının (herhangi bir yoğunlukta herhangi bir immün hücre boyaması) varlığına yönelik olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 5. VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyama spesifitesi, FFPE normal dokuların test edilmesiyle belirlenmiştir.

Doku	Pozitif sayısı [a]/ toplam vaka	Doku	Pozitif sayısı [a]/ toplam vaka
Adrenal bez	1/3	Kas, kardiyak	0/3
Mesane	3/36 ^[b]	Kas, iskelet	0/2
Meme	1/66	Miyeloid	0/2
Serebellum	0/3 ^[c]	Sinir, periferik	0/3
Serebrum	0/3	Yumurtalık	0/3
Rahim ağzı	0/2	Pankreas	0/3 ^[d]
Kolon	2/3	Paratiroid	0/2
Endometriyum	2/3	Prostat	0/3
Özofagus	0/3	Tükürük bezi	2/3
Hipofiz	0/3 ^[d]	Deri	0/3
Bağırsak, ince	1/3	Dalak	3/3
Böbrek	2/3	Mide	0/3
Lingual bez	0/1	Testis	0/3 ^[c]
Karaciğer	0/3	Timüs bezi	3/3
Akciğer	1/25	Tiroit bezi	1/3
Lenf düğümü	3/3	Bademcik	3/3 ^[c]
Mezotelyom	0/3		

[a] Herhangi bir yoğunlukta immün hücre boyama [b] Fokal immün hücre boyama

[c] 1/3 beyincik, 1/3 testis dokusu ve normal bademcik kontrolde fokal DAB noktaları gözlemlenmiştir

[d] 1/3 pankreas ve 1/3 hipofiz dokularında nükleer boyama gözlemlenmiştir

Hassasiyet

Bir neoplastik doku dizisi, VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile tümör hücresi ve immün hücre boyaması açısından Tablo 6'te açıklandığı şekilde değerlendirilmiştir.

Tablo 6. VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasının hassasiyeti, bir dizi FFPE neoplastik dokunun test edilmesiyle belirlenmiştir.

Orijin	Patoloji	pozitif ^[a] / toplam vaka sayısı	
		İmmün hücreler	Tümör hücreleri
Karın	Malign mezotelyom	1/1	0/1
Sırt	Nörofibrom	1/1	0/1
Mesane	Düşük dereceli malign leyomyosarkom	0/1	0/1
Mesane	Tranzisyonel hücreli karsinom	1/1	0/1
Kemik	Osteosarkom	0/1	0/1
Meme	İnvazif duktal karsinom	1/2	0/2
Meme	Erken infiltrate intraduktal karsinomu	1/1	0/1
Serebrum	Glioblastoma	1/1	0/1
Serebrum	Atipik menenjiyom	0/1	0/1
Serebrum	Malign ependimom	0/1	0/1
Serebrum	Oligodendrogliom	0/1	0/1
Kolon	Adenokarsinom	1/1	0/1
Kolon	İnterstitiyel hücre tümörü	0/1	0/1
Özofagus	Nöroendokrin karsinom	0/1	0/1
Özofagus	Adenokarsinom	1/1	0/1
Bağırsak	Adenokarsinom	1/1	0/1
Bağırsak	Stromal sarkom	1/1	0/1
Böbrek	Berrak hücreli karsinom	1/1	0/1
Karaciğer	Hepatoselüler karsinom	0/1	0/1
Karaciğer	Hepatoblastom	1/1	0/1
Akciğer	Adenokarsinom	0/1	0/1
Akciğer	Küçük hücreli farklılaşmamış karsinom	1/1	1/1
Akciğer	Skuamöz hücreli karsinom	1/1	0/1
Lenf düğümü	Diffüz B hücreli lenfoma	1/1 ^[b]	1/1 ^[b]
Lenf düğümü	Hodgkin lenfoması	1/1	1/1
Mediastinum	Diffüz B hücreli lenfoma	1/1 ^[b]	1/1 ^[b]
Kas, düz	Orta dereceli malign leyomyosarkom	1/1	0/1
Kas, çizgili	Embriyonal rabdomyosarkom	0/1	0/1
Yumurtalık	Seröz adenokarsinom	1/1	0/1
Yumurtalık	Adenokarsinom	1/1	0/1
Pankreas	Adacık hücreli tümör	0/1	0/1
Pankreas	Adenokarsinom	1/1	0/1

Orijin	Patoloji	pozitif[a]/ toplam vaka sayısı	
		İmmün hücreler	Tümör hücreleri
Pelvis boşluğu	Anaplastik büyük hücreli lenfoma	1/1[b]	1/1[b]
Prostat	Adenokarsinom	0/2	0/2
Rektum	Adenokarsinom	1/1	1/1
Rektum	Orta dereceli malign interstisyel hücre tümörü	0/1	0/1
Rektum	Malign melanom	1/1	0/1
Retroperiton	Nöroblastom	1/1	0/1
Retroperiton	İğ hücreli rabdomyosarkom	0/1	0/1
Deri	Bazal hücreli karsinom	1/1	0/1
Deri	Skuamöz hücreli karsinom	1/1	0/1
Dalak	Diffüz B hücreli lenfoma	1/1[a]	1/1[a]
Mide	Taşı yüzük hücreli karsinom	1/1	0/1
Testis	Seminom	1/1	0/1
Testis	Embriyonal karsinom	0/1	0/1
Tiroit	Medüller karsinom	0/1	0/1
Tiroit	Papiller karsinom	0/1	1/1
Rahim boynu	Skuamöz hücreli karsinom	2/2	0/2
Rahim	Leyomyom	0/1	0/1
Rahim	Adenokarsinom	1/1	0/1
Rahim	Endometriyal berrak hücreli karsinom	1/1	1/1

[a] Herhangi bir yoğunlukta immün hücre veya tümör hücre boyaması

[b] Tümör hücre ve immün hücre boyaması ayrıştırılamamıştır

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ - ÜROTELİYAL KARSİNOM

Puanlama Algoritması - Üroteliyal Karsinom

Üroteliyal karsinom dokusu, Tablo 7'te verilen üroteliyal karsinom için VENTANA PD-L1 (SP142) Assay puanlama algoritmasına göre değerlendirilmelidir. İlave talimatlar ve temsili görseller için yorumlama kılavuzuna (P/N 1015704EN) bakın.

Tablo 7. Üroteliyal karsinom için VENTANA PD-L1 (SP142) Assay puanlama algoritması.

İmmün Hücre (IC) Boyama Değerlendirmesi[a]	PD-L1 Ekspresyonu
Fark edilebilir PD-L1 boyama yokluğu VEYA Tümör hücreleri, ilişkili intratümöral ve bitişik peritümöral stromanın işgal ettiği tümör alanının < %5'ini kapsayan tümör infiltrate edici immün hücrelerde herhangi bir yoğunlukta mevcut fark edilebilir PD-L1 boyaması	< %5 IC
Tümör hücreleri, ilişkili intratümöral ve bitişik peritümöral stromanın işgal ettiği tümör alanının ≥ %5'ini kapsayan tümör infiltrate edici immün hücrelerde herhangi bir yoğunlukta mevcut fark edilebilir PD-L1 boyaması	≥ %5 IC

[a] Tümör hücrelerinde PD-L1 boyaması, üroteliyal karsinom hasta dokusunun puanlama tayinine dahil edilmemelidir.

Doku Kalınlığı - Üroteliyal Karsinom

Doku kalınlığı, 5 benzersiz üroteliyal karsinom örneği kullanılarak değerlendirilmiştir (3 PD-L1 ≥ %5 IC ve 2 PD-L1 < %5 IC). 2, 3, 4, 5, 6 ve 7 mikrondaki iki kopyalı kesitler her bir vaka için test edilmiştir. Tüm doku kalınlıkları, PD-L1 için uygun spesifik boyama ve VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyaması için kabul edilebilir arka plan düzeyleri göstermiştir. Hiçbir kesit, test edilen kalınlık aralığında PD-L1 ekspresyonunda bir değişiklik sergilememiştir. Ventana, VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyama için örneklerin 4 mikronda kesilmesini önermektedir.

Tekrar Edilebilirlik ve Ara Kesinlik - Üroteliyal Karsinom

Üroteliyal karsinom örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyaması çalışmaları, aşağıdaki konuları açıklamak üzere tamamlanmıştır:

- Gün İçi Tekrar Edilebilirlik - Her biri 24 benzersiz üroteliyal karsinom örneğinden alınan 5 kopya slayt (12 PD-L1 ≥ %5 IC ve 12 PD-L1 < %5 IC), bir gün içinde tek bir BenchMark ULTRA cihazında VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmıştır.
- Günler Arası Tekrar Edilebilirlik - 24 benzersiz üroteliyal karsinom örneğinden alınan 10 slayt (12 PD-L1 ≥ %5 IC ve 12 PD-L1 < %5 IC), ardışık olmayan 5 günde tek bir BenchMark ULTRA cihazında VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmıştır.
- Cihazlar arası ve lotlar arası Kesinlik - Her biri 24 benzersiz üroteliyal karsinom örneğinden 27 slayt (12 PD-L1 ≥ %5 IC ve 12 PD-L1 < %5 IC), üç adet BenchMark ULTRA cihazında üç lot VENTANA PD-L1 (SP142) antikor ve üç eşlenmiş OptiView DAB IHC Detection Kit ile OptiView Amplification Kit lotu kullanılarak VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmıştır.
- Platform içi Kesinlik - Her biri 10 benzersiz üroteliyal karsinom örneğinden alınan 2 kopya slayt (3 PD-L1 ≥ %5 IC ve 7 PD-L1 < %5 IC), üç BenchMark ULTRA, üç BenchMark XT ve üç BenchMark GX cihazında VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmıştır. Uyum oranları, bir platform için örnek moduna göre hesaplanmıştır.

Tüm slaytlar körlenmiş, randomize edilmiş ve üroteliyal karsinom için VENTANA PD-L1 (SP142) Assay puanlama algoritması (Tablo 7) kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar Tablo 8'da özetlenmiştir.

Tablo 8. Üroteliyal karsinom örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasının tekrar edilebilirliği ve ara kesinliği.

Tekrar Edilebilirlik/Ara Kesinlik Parametresi	Uyum (%) (%95 CI)[a]
Gün içi tekrar edilebilirlik (tek bir gün içinde)	PPA: 98,2 (90,4-99,7) NPA: 100,0 (94,4-100,0) OPA: 99,2 (95,4-99,9)
Günler arası kesinlik (birbirini izlemeyen 5 gün)	PPA: 91,8 (85,2-95,6) NPA: 100,0 (97,1-100,0) OPA: 96,3 (93,0-98,0)
Cihazlar arası ve lotlar arası kesinlik (3 cihaz, 3 antikor lotu ve 3 saptama ve amplifikasyon kiti lotu)	PPA: 99,4 (97,8-99,8) NPA: 99,7 (98,3-99,9) OPA: 99,5 (98,6-99,8)
Platform içi kesinlik (üç BenchMark ULTRA cihaz)	PPA: 83,3 (60,8-94,2) NPA: 100,0 (91,2-100,0) OPA: 94,8 (85,9-98,2)
Platform içi kesinlik (üç BenchMark XT cihaz)	PPA: 94,4 (74,2-99,0) NPA: 100,0 (91,6-100,0) OPA: 98,3 (91,1-99,7)
Platform içi kesinlik (üç BenchMark GX cihaz)	PPA: 94,4 (74,2-99,0) NPA: 100,0 (91,4-100,0) OPA: 98,3 (91,0-99,7)

[a] İki yönlü Wilson puanı yöntemi CI

Platformlar Arası Uygunluk - Üroteliyal Karsinom

Her biri 44 benzersiz üroteliyal karsinom örneğinden alınan tekil slaytlar (22 PD-L1 ≥ %5 IC ve 22 PD-L1 < %5 IC), bir BenchMark ULTRA (referans), bir BenchMark XT ve bir BenchMark GX cihazında VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmıştır. Tüm slaytlar körlenmiş, randomize edilmiş ve üroteliyal karsinom için VENTANA PD-L1 (SP142) Assay puanlama algoritması (Tablo 7) kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar Tablo 9'da özetlenmiştir.

Tablo 9. Üroteliyal karsinom örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasının platformlar arası uygunluğu.

Platformlar Arası Uygunluk	Uyum % (%95 CI) [a]
BenchMark ULTRA: BenchMark XT	PPA: 100,0 (84,5-100,0) NPA: 100,0 (85,1-100,0) OPA: 100,0 (91,8-100,0)
BenchMark ULTRA: BenchMark GX	PPA: 95,2 (77,3-99,2) NPA: 100,0 (85,1-100,0) OPA: 97,7 (87,9-99,6)

[a] İki yönlü Wilson puanı yöntemi CI

Okuyucu Kesinliği - Üroteliyal Karsinom

Okuyucular Arası ve Okuyucu İçi Kesinliği değerlendirmek için, üç patoloj VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmış 60 benzersiz üroteliyal karsinom örneğini (30 PD-L1 $\geq$ %5 IC ve 30 PD-L1 < %5 IC) değerlendirmiştir. Örnekler, üroteliyal karsinom için VENTANA PD-L1 (SP142) Assay puanlama algoritması (Tablo 7) kullanılarak PD-L1 durumu değerlendirmesinden önce körlenmiş ve randomize edilmiştir. Okuyucular tüm numuneleri, okumalar arasında en az iki hafta olacak şekilde iki kez değerlendirmiştir. Okuyucular ve her patoloj okuması arasındaki uyum Tablo 10'da özetlenmiştir.

Tablo 10. Üroteliyal karsinom örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyaması için okuyucular arası ve okuyucu içi kesinlik.

Okuyucu Kesinliği	Uyum % (%95 CI)
Okuyucular arası kesinlik (ilk okumadan itibaren okuyucular arası ikili karşılaştırmaların ortalaması)	APA: 92,7 (85,9-97,6) ANA: 93,9 (88,1-98,1) OPA: 93,3 (87,8-97,8)
Okuyucu içi kesinlik (Birinci ve ikinci okumalar arasında üç okuyucunun uyum oranlarının ortalaması)	APA: 93,4 (87,3-97,7) ANA: 94,2 (88,9-98,1) OPA: 93,9 (88,8-97,8)

Laboratuvarlar Arası Tekrarlanabilirlik Çalışması - Üroteliyal Karsinom

Üroteliyal karsinom doku örneklerinde PD-L1 durumunu belirleme konusunda tayinin yeniden üretilebilirliğini kanıtlamak amacıyla, VENTANA PD-L1 (SP142) Assay için Laboratuvarlar Arası Yeniden Üretilirlik Çalışması yapılmıştır. Yirmi sekiz benzersiz üroteliyal karsinom örneği (14 PD-L1 $\geq$ %5 IC ve 14 PD-L1 < %5 IC), en az 20 gün boyunca ardışık olmayan 5 günün her birinde 3 harici laboratuvar da boyanmıştır. Boyamadan önce, slaytlar körlenmiş ve randomize edilmiştir. Her testiste, boyanmış slaytlar 2 patoloj (okuyucu) tarafından bağımsız olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar Tablo 11'de özetlenmiştir.

Tablo 11. Üroteliyal karsinom örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasının laboratuvarlar arası tekrarlanabilirliği.

Laboratuvarlar Arası Yeniden Üretilirlik	Uyum % (%95 CI)
Toplam uyum (uzlaşma puanına kıyasla, tesisler, günler ve okuyucular arasında)	PPA: 98,3 (96,6-99,2)[a] NPA: 87,4 (83,8-90,2)[a] OPA: 92,8 (90,9-94,4)[a]
Tesisler arası uyum (tesisler arası ikili karşılaştırmaların ortalaması)	APA: 90,7 (81,2-96,3) ANA: 88,3 (78,5-94,9) OPA: 89,6 (82,5-95,5)
Okuyucular arası uyum (her bir testiste okuyucular arası ikili karşılaştırmaların ortalaması)	APA: 89,3 (78,1-96,0) ANA: 86,6 (75,1-94,6) OPA: 88,1 (84,6-90,8)[a]

[a] İki yönlü Wilson puanı yöntemi CI

Klinik Sonuç Çalışması - Üroteliyal Karsinom

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay performansı, lokal olarak ilerlemiş veya metastatik üroteliyal karsinom izlenen hastalarda TECENTRIQ etkililiğini değerlendirmek üzere tasarlanmış bir faz II, çok merkezli, açık etiketli, iki kohortlu çalışma olan IMvigor210'da (NCT02108652) araştırılmıştır.

Hasta örnekleri VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmış ve boyama kabul edilebilirliği ve Tablo 7'de belirtilen puanlama algoritmasına göre PD-L1 ekspresyonuna yönelik olarak değerlendirilmiştir. Hasta örnekleri biyopsiler (%21,2), rezeksiyonlar (%46,6), mesane tümörünün transüretal rezeksiyonu (TURBT, %30,5) veya bilinmeyen bir türden (%1,6) elde edilen FFPE üroteliyal karsinom dokusudur; %74,9'u primer tümörler ve %25,1'i metastatik tümörlerdir.

Tablo 12'de, IMvigor210 için taranan tüm üroteliyal karsinom örneklerinde VENTANA PD-L1 (SP142) Assay için toplam boyama kabul edilebilirlik oranı açıklanmaktadır. PD-L1 boyanmış slaytlar için kabul edilebilir morfoloji ve kabul edilebilir arka plan oranları da rapor edilmektedir. Toplam 650 örnek arasından 25'si ilk boyama girişiminde başarısız olmuş ve boyama işlemi tekrarlanmıştır. Nihai boyama girişiminde, 25 numuneden 13'ü kabul edilemez olarak kalmıştır (kabul edilemez negatif reaktif kontrolü nedeniyle 7, kabul edilemez morfoloji nedeniyle 5 ve hem kabul edilemez arka plan hem morfoloji için 1). VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, sırasıyla %96,2 ve %98,0 olmak üzere yüksek başlangıç ve nihai toplam boyama kabul edilebilirlik oranları göstermiştir. Nihai morfoloji ve arka plan kabul edilebilirlik oranları %99'dan yüksektir.

Tablo 12. IMvigor210 üroteliyal karsinom klinik çalışma örnekleri için VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyama performans özellikleri.

Özellik	Kabul edilebilirlik oranı % (n/N) (%95 CI)[a]	
	İlk[b]	Son[c]
Toplam boyama kabul edilebilirlik oranı	96,2 (625/650) (94,4-97,4)	98,0 (637/650) (96,6-98,8)
Morfoloji	98,1 (628/640) (96,8-98,9)	99,1 (637/643) (98,0-99,6)
Arka plan	98,9 (625/632) (97,7-99,5)	99,8 (637/638) (99,1-100,0)

[a] İki yönlü Wilson puanı yöntemi CI

[b] İlk boyama denemesi [c] Son boyama denemesi

IMvigor210 Kohort 2'de, lokal olarak ilerlemiş veya metastatik üroteliyal karsinom izlenen ve bir platin içeren kemoterapi rejimi sırasında veya sonrasında hastalık ilerlemesi gözlemlenen veya platin içeren neoadjuvant veya adjuvant kemoterapi rejimiyle 12 aylık tedavide hastalık ilerlemesi gözlemlenen 310 hasta, TECENTRIQ ile tedavi edilmiştir. Bu çalışmada, aşağıdakilere sahip hastalar hariç tutulmuştur: otoimmün hastalık öyküsü, aktif veya kortikosteroide bağlı beyin metastazları, kayıttan önceki 28 gün içinde canlı, atenué aşı uygulaması veya sistemik immünohistimülasyon ajanları veya sistemik immünoşüpresif ilaç uygulaması. Araştırmacı tarafından değerlendirildiği şekilde klinik fayda kaybına kadar, hastalara 3 haftada bir 1200 mg TECENTRIQ verilmiştir. Tümör yanıt değerlendirmeleri, ilk 54 hafta boyunca 9 haftada bir ve sonrasında 12 haftada bir gerçekleştirilmiştir. Majör etkililik sonucu ölçümleri, Solid Tümörlerde Yanıt Değerlendirmesi Kriterleri (RECIST v1.1) ve yanıt süresi (DOR) kullanılarak bağımsız inceleme kurumu (IRF) tarafından değerlendirildiği şekilde doğrulanmış objektif yanıt oranını (ORR) içermiştir.

Bu kohortta, ortalama yaş 66'dır, %78'i erkektir ve hastaların %91'i beyaz tenlidir. Hastaların %26'sında mesane dışı üroteliyal karsinom ve %78'inde iç organ metastazı vardır. Hastaların %62'sinin ECOG puanı 1'dir ve %35'inin başlangıç kreatinin klerensi < 60 mL/dk'dır. Hastaların %19'unda önceki platin içeren neoadjuvant veya adjuvant kemoterapiden sonra hastalık ilerlemesi görülmüştür. Hastaların %41'i, metastatik ortamda $\geq$ 2 eski sistemik rejim almıştır. Hastaların %73'ü önceden cisplatin ve %26'sı karboplatin almış ve %1'i dipter platin bazı rejimleri ile tedavi edilmiştir.

Tümör örnekleri bir merkez laboratuvarında VENTANA PD-L1 (SP142) Assay kullanılarak ileriye dönük olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar önceden belirtilen analizler için alt gruplar tanımlamak üzere kullanılmıştır. 310 hastanın %32'si, $\geq$ %5 IC PD-L1 ekspresyonuna sahip olarak sınıflandırılmıştır; hastaların kalan %68'i ise < %5 IC PD-L1 ekspresyonuna sahip olarak sınıflandırılmıştır.

Bütün hastalarda doğrulanmış ORR ve iki PD-L1 alt grubu, Tablo 13'de özetlenmiştir. Bu kohort için ortalama takip süresi 14,4 aydır. Neoadjuvant veya adjuvant tedavisinden sonra hastalık ilerlemesi görülen 59 hastada ORR %22,0 olmuştur (%95 CI: %12,3, %34,7).

Tablo 13. IMvigor210'dan alınan (ürotelyal karsinom) Kohort 2 etkililik özeti.

	Tüm Hastalar (N = 310)	PD-L1 Ekspresyon Alt Grupları	
		< %5[a] (N = 210)	≥ %5[a] (N = 100)
IRF ile Değerlendirilmiş Doğrulanmış Yanıt Verenlerin Sayısı	46	20	26
ORR % (%95 CI)	14,8 (11,1, 19,3)	9,5 (5,9, 14,3)	26,0 (17,7, 35,7)
Tam Yanıt (CR) (%)	5,5	2,4	12,0
Kısmi Yanıt (PR) (%)	9,4	7,1	14,0
Medyan DOR, ay (aralık)	NR (2,1+, 13,8+)	12,7 (2,1+, 12,7)	NR (4,2, 13,8+)

NR = Ulaşılmadı + Sansürlenmiş bir yanıt gösterir CI = Güven Aralığı

[a] Tümör infiltrate edici immün hücrelerde (IC) PD-L1 ekspresyonu

IMvigor130 (NCT02807636), metastazlı ürotelyal karsinomu olup daha önce tedavi edilmeyen, platinyum içeren kemoterapi için uygun olan hastaların yer aldığı, devam etmekte olan, çok merkezli randomize bir çalışmadır. Çalışmada üç kol bulunmaktadır: TECENTRIQ monoterapi, platinyum bazlı kemoterapi ile TECENTRIQ (yani cisplatin veya carboplatin ile gemcitabine) ve tek başına platinyum bazlı kemoterapi (komparatör). Cisplatin'e uygun ve uygun olmayan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Tümör örnekleri, bir merkez laboratuvarında VENTANA PD-L1 (SP142) Assay kullanılarak prospektif şekilde değerlendirilmiştir. Çalışmanın bağımsız Veri İzleme Komitesi (iDMC), başlangıçtaki verilerin bir değerlendirmesini gerçekleştirmiş ve TECENTRIQ monoterapiyle tedavi edildiklerinde < %5 PD-L1 ekspresyonu sergileyen hastaların, platinyum bazlı kemoterapi alanlara göre daha düşük sağkalım gösterdiğini saptamıştır. iDMC, düşük PD-L1 ekspresyonlu hastalar daha da arttığında monoterapinin bitirilmesini önermiştir; ancak, monoterapi kolunda zaten randomize edilmiş ve tedavi almakta olan hastalar için herhangi bir tedavi değişikliği de dahil olmak üzere, çalışma için başka değişiklik önerilmemiştir.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ - NSCLC

Puanlama Algoritması - NSCLC

NSCLC dokusu, Tablo 14 ve Tablo 15'te verilen, NSCLC için VENTANA PD-L1 (SP142) Assay puanlama algoritmasına uygun şekilde değerlendirilmelidir. Örneğin ≥ %1 TC veya ≥ %1 IC göstermesi durumunda PD-L1 ekspresyonunun olduğu, ≥ %50 TC veya ≥ %10 IC göstermesi durumunda yüksek PD-L1 ekspresyonunun olduğu kabul edilmelidir. İlave talimatlar ve temsili görseller için yorumlama kılavuzuna (P/N 1015703EN ve 1015654EN) bakın.

Tablo 14. NSCLC ≥ %50 TC veya ≥ %10 IC için VENTANA PD-L1 (SP142) Assay puanlama algoritması.

1. AŞAMA	Tümör Hücresi (TC) Boyama Değerlendirmesi	PD-L1 Ekspresyonu
Tümör hücrelerinin ≥ %50'sinde herhangi bir yoğunlukta mevcut fark edilebilir PD-L1 membran boyaması		≥ %50 TC
Fark edilebilir PD-L1 boyaması yokluğu VEYA Tümör hücrelerinin < %50'sinde herhangi bir yoğunlukta mevcut fark edilebilir PD-L1 membran boyaması		2. Aşamaya Geçin
2. AŞAMA	Tümör İnfiltrate Edici İmmün Hücre (IC) Boyama Değerlendirmesi	PD-L1 Ekspresyonu
Tümör hücreleri, ilişkili intratümöral ve bitişik peritümöral stromanın işgal ettiği tümör alanının ≥ %10'unu kapsayan tümör infiltrate edici immün hücrelerde herhangi bir yoğunlukta mevcut fark edilebilir PD-L1 boyaması		≥ %10 IC
Fark edilebilir PD-L1 boyaması yokluğu VEYA Tümör hücreleri, ilişkili intratümöral ve bitişik peritümöral stromanın işgal ettiği tümör alanının < %10'unu kapsayan tümör infiltrate edici immün hücrelerde herhangi bir yoğunlukta mevcut fark edilebilir PD-L1 boyaması		< %50 TC ve < %10 IC

Tablo 15. NSCLC ≥ %1 TC veya ≥ %1 IC için VENTANA PD-L1 (SP142) puanlama algoritması.

1. AŞAMA	Tümör Hücresi (TC) Boyama Değerlendirmesi	PD-L1 Ekspresyonu
Tümör hücrelerinin ≥ %1'inde herhangi bir yoğunlukta mevcut fark edilebilir PD-L1 membran boyaması		≥ %1 TC
Fark edilebilir PD-L1 boyaması yokluğu VEYA Tümör hücrelerinin < %1'inde herhangi bir yoğunlukta mevcut fark edilebilir PD-L1 membran boyaması		2. Aşamaya Geçin
2. AŞAMA	Tümör İnfiltrate Edici İmmün Hücre (IC) Boyama Değerlendirmesi	PD-L1 Ekspresyonu
Tümör hücreleri, ilişkili intratümöral ve bitişik peritümöral stromanın işgal ettiği tümör alanının ≥ %1'ini kapsayan tümör infiltrate edici immün hücrelerde herhangi bir yoğunlukta mevcut fark edilebilir PD-L1 boyaması		≥ %1 IC
Fark edilebilir PD-L1 boyaması yokluğu VEYA Tümör hücreleri, ilişkili intratümöral ve bitişik peritümöral stromanın işgal ettiği tümör alanının < %1'ini kapsayan tümör infiltrate edici immün hücrelerde herhangi bir yoğunlukta mevcut fark edilebilir PD-L1 boyaması		< %1 TC ve < %1 IC

Doku Kalınlığı - NSCLC

Doku kalınlığı, NSCLC örnekleri kullanılarak değerlendirilmiştir. 3, 4, 5, 6 ve 7 mikrondaki iki kopyalı kesitler, VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmış ve PD-L1 TC ve IC ekspresyonuna yönelik olarak değerlendirilmiştir. Test edilen her bir IC ve TC düzeyi için PD-L1 ekspresyonu aralığı ile birlikte toplam 42 NSCLC örnek değerlendirilmiştir.

Tüm doku kalınlıkları, PD-L1 için uygun spesifik boyama ve VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyaması için kabul edilebilir arka plan düzeyleri göstermiştir. Hiçbir kesit, test edilen kalınlık aralığında PD-L1 TC veya IC düzeyinde bir değişiklik sergilememiştir. Ventana, VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyama için NSCLC örneklerinin 4 mikronunda kesilmesini önermektedir.

Tekrarlanabilirlik ve Ara Kesinlik - NSCLC

NSCLC örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyaması çalışmaları, aşağıdakileri ortaya koymak amacıyla tamamlanmıştır:

- Gün İçi Tekrar Edilebilirlik - Her bir NSCLC örneğinden alınan 5 kopya slayt, tek bir günde tek bir BenchMark ULTRA cihazında VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmış ve PD-L1 TC ve IC ekspresyonuna yönelik olarak değerlendirilmiştir. Test edilen her bir TC ve IC düzeyi için PD-L1 ekspresyonu aralığı ile birlikte toplam 66 NSCLC örnek değerlendirilmiştir.
- Günler Arası Kesinlik - Her bir NSCLC örneğinden alınan 10 slayt, ardışık olmayan 5 gün boyunca tek bir BenchMark ULTRA cihazında VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmıştır. Test edilen her bir TC ve IC ekspresyon düzeyi için PD-L1 ekspresyonu aralığı ile birlikte toplam 66 NSCLC örnek değerlendirilmiştir.
- Cihaz, Antikor ve Saptama Lotu Kesinliği - Her NSCLC örneğinden en az 9 slayt, üç BenchMark ULTRA cihazında üç lot VENTANA PD-L1 (SP142) antikor ve üç eşlenmiş OptiView DAB IHC Detection Kit ile OptiView Amplification Kit lotu kullanılarak VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmıştır. Test edilen her bir TC ve IC için PD-L1 ekspresyonu aralığı ile birlikte toplam 92 NSCLC örnek değerlendirilmiştir.
- Platform içi Kesinlik - Her bir NSCLC örneğinden alınan 2 kopya slayt, üç BenchMark ULTRA, üç BenchMark XT ve üç BenchMark GX cihazında VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmıştır. Test edilen her bir TC ve IC ekspresyon düzeyi için PD-L1 ekspresyonu aralığı ile birlikte toplam 38 NSCLC örnek değerlendirilmiştir. Uyum oranları, her bir platform için örnek moduna göre hesaplanmıştır.

Tüm slaytlar körlenmiş, randomize edilmiş ve PD-L1 TC veya IC ekspresyon düzeyine yönelik olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar, Tablo 16, Tablo 17, Tablo 18 ve Tablo 19'da özetlenmiştir.

Tablo 16. NSCLC örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasına ilişkin tekrar edilebilirlik ve ara kesinlik (PD-L1 ekspresyonu $\geq$ %50 TC)

Tekrar Edilebilirlik/Ara Kesinlik Parametresi	Uyum % (%95 CI) ^[a]
Gün içi tekrar edilebilirlik (tek gün içinde), 24 NSCLC örnek	PPA: 100,0 (94,4-100,0) NPA: 100,0 (93,5-100,0) OPA: 100,0 (96,9-100,0)
Günler arası kesinlik (ardışık olmayan 5 gün), 24 NSCLC örnek	PPA: 100,0 (97,1-100,0) NPA: 100,0 (96,5-100,0) OPA: 100,0 (98,4-100,0)
Cihazlar arası ve lotlar arası kesinlik (Vaka-düzye moduna kıyasla, cihazlar ve lotlar arasında), 18 NSCLC örneği	PPA: 99,7 (98,1-99,9) NPA: 95,2 (91,2-97,5) OPA: 97,9 (96,2-98,9)
Platform içi kesinlik (üç adet BenchMark ULTRA cihazı), 10 adet NSCLC örneği	PPA: 100,0 (88,6-100,0) NPA: 100,0 (88,6-100,0) OPA: 100,0 (94,0-100,0)
Platform içi kesinlik (üç adet BenchMark XT cihazı), 10 adet NSCLC örneği	PPA: 96,7 (83,3-99,4) NPA: 100,0 (88,6-100,0) OPA: 98,3 (91,1-99,7)
Platform içi kesinlik (üç adet BenchMark GX cihazı), 10 adet NSCLC örneği	PPA: 100,0 (88,6-100,0) NPA: 100,0 (88,6-100,0) OPA: 100,0 (94,0-100,0)

[a] İki yönlü Wilson puanı yöntemi CI

Tablo 17. NSCLC örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasına ilişkin tekrar edilebilirlik ve ara kesinlik (PD-L1 ekspresyonu $\geq$ %10 IC)

Tekrar Edilebilirlik/Ara Kesinlik Parametresi	Uyum % (%95 CI)
Gün içi tekrar edilebilirlik (tek bir gün içerisinde), 24 NSCLC örneği	PPA: 98,3 (91,1-99,7) ^[a] NPA: 100,0 (94,0-100,0) ^[a] OPA: 99,2 (95,4-99,9) ^[a]
Günler arası kesinlik (ardışık olmayan 5 gün), 24 NSCLC örnek	PPA: 96,2 (91,3-98,3) ^[a] NPA: 98,2 (93,6-99,5) ^[a] OPA: 97,1 (94,1-98,6) ^[a]
Antikorlar arası ve saptamalar arası uyum (ikili karşılaştırma), 28 NSCLC örneği	APA: 95,1 (91,1-98,1) ANA: 90,2 (82,3-96,2) OPA: 93,4 (88,7-97,5)
Cihazlar arası ve saptama lotları arası uyum (ikili karşılaştırma), 28 NSCLC örneği	APA: 96,3 (93,2-98,8) ANA: 92,7 (86,0-97,7) OPA: 95,1 (91,2-98,4)
Cihazlar arası ve antikorlar arası uyum (ikili karşılaştırma), 28 NSCLC örneği	APA: 96,3 (93,1-98,8) ANA: 92,6 (85,9-97,8) OPA: 95,1 (91,1-98,4)
Platform içi kesinlik (üç adet BenchMark ULTRA cihazı), 8 adet NSCLC örneği	PPA: 100,0 (94,0-100,0) ^[a] NPA: 100,0 (94,0-100,0) ^[a] OPA: 100,0 (96,9-100,0) ^[a]
Platform içi kesinlik (üç adet BenchMark XT cihazı), 8 adet NSCLC örneği	PPA: 100,0 (94,0-100,0) ^[a] NPA: 100,0 (94,0-100,0) ^[a] OPA: 100,0 (96,9-100,0) ^[a]
Platform içi kesinlik (üç adet BenchMark GX cihazı), 8 adet NSCLC örneği	PPA: 100,0 (94,0-100,0) ^[a] NPA: 100,0 (94,0-100,0) ^[a] OPA: 100,0 (96,9-100,0) ^[a]

[a] İki yönlü Wilson puanı yöntemi CI

Tablo 18. NSCLC örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasına ilişkin tekrar edilebilirlik ve ara kesinlik (PD-L1 ekspresyonu $\geq$ %1 TC)

Tekrar Edilebilirlik/Ara Kesinlik Parametresi	Uyum % (%95 CI) ^[a]
Gün içi tekrar edilebilirlik (tek gün içinde), 10 NSCLC örnek	PPA: 100,0 (86,7-100,0) NPA: 100,0 (86,7-100,0) OPA: 100,0 (92,9-100,0)
Günler arası kesinlik (ardışık olmayan 5 gün), 10 NSCLC örnek	PPA: 100,0 (92,9 - 100,0) NPA: 100,0 (92,9 - 100,0) OPA: 100,0 (96,3-100,0)
Cihazlar arası ve lotlar arası kesinlik (vaka-düzye moduna kıyasla, cihazlar ve lotlar arasında), 18 NSCLC örneği	PPA: 99,2 (97,0-99,8) NPA: 100,0 (98,4-100,0) OPA: 99,6 (98,5-99,9)
Platform içi kesinlik (üç adet BenchMark ULTRA cihazı), 12 adet NSCLC örneği	PPA: 100,0 (86,2-100,0) NPA: 95,8 (86,0-98,8) OPA: 97,2 (90,4-99,2)
Platform içi kesinlik (üç adet BenchMark XT cihazı), 12 adet NSCLC örneği	PPA: 100,0 (86,2-100,0) NPA: 100,0 (92,6-100,0) OPA: 100,0 (94,0-100,0)
Platform içi kesinlik (üç adet BenchMark GX cihazı), 12 adet NSCLC örneği	PPA: 100,0 (86,2-100,0) NPA: 100,0 (92,6-100,0) OPA: 100,0 (94,0-100,0)

[a] İki yönlü Wilson puanı yöntemi CI

Tablo 19. NSCLC örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasına ilişkin tekrar edilebilirlik ve ara kesinlik (PD-L1 ekspresyonu $\geq$ %1 IC)

Tekrar Edilebilirlik/Ara Kesinlik Parametresi	Uyum % (%95 CI)
Gün içi tekrar edilebilirlik (tek gün içinde), 8 NSCLC örnek	PPA: 100,0 (91,2-100,0) ^[a] NPA: 100,0 (91,2-100,0) ^[a] OPA: 100,0 (95,4-100,0) ^[a]
Günler arası kesinlik (ardışık olmayan 5 gün), 8 NSCLC örnek	PPA: 100,0 (96,3-100,0) ^[a] NPA: 97,0 (91,6-99,0) ^[a] OPA: 98,5 (95,7-99,5) ^[a]
Antikorlar arası ve saptamalar arası uyum (ikili karşılaştırma), 28 NSCLC örneği	APA: 98,4 (95,7-100,0) ANA: 98,3 (95,6-100,0) OPA: 98,4 (95,9-100,0)
Cihazlar arası ve saptamalar arası uyum (ikili karşılaştırma), 28 NSCLC örneği	APA: 98,4 (95,8-100,0) ANA: 98,3 (95,4-100,0) OPA: 98,4 (95,8-100,0)
Cihazlar arası ve antikorlar arası uyum (ikili karşılaştırma), 28 NSCLC örneği	APA: 98,4 (95,9-100,0) ANA: 98,3 (95,5-100,0) OPA: 98,4 (95,8-100,0)
Platform içi kesinlik (üç adet BenchMark ULTRA cihazı), 8 adet NSCLC örneği	PPA: 100,0 (94,0-100,0) ^[a] NPA: 100,0 (94,0-100,0) ^[a] OPA: 100,0 (96,9-100,0) ^[a]
Platform içi kesinlik (üç adet BenchMark XT cihazı), 8 adet NSCLC örneği	PPA: 100,0 (94,0-100,0) ^[a] NPA: 100,0 (94,0-100,0) ^[a] OPA: 100,0 (96,9-100,0) ^[a]
Platform içi kesinlik (üç adet BenchMark GX cihazı), 8 adet NSCLC örneği	PPA: 100,0 (94,0-100,0) ^[a] NPA: 100,0 (94,0-100,0) ^[a] OPA: 100,0 (96,9-100,0) ^[a]

[a] İki yönlü Wilson puanı yöntemi CI

Platformlar Arası Uygunluk - NSCLC

Her biri $\geq$ %50 TC veya $\geq$ %10 IC PD-L1 ekspresyonu (21 PD-L1 $\geq$ %50 TC veya $\geq$ %10 IC ve 23 PD-L1 $<$ %50 TC ve $<$ %10 IC) için 44 NSCLC örneğinden $\geq$ %1 TC veya $\geq$ %1 IC PD-L1 ekspresyonu (23 PD-L1 $\geq$ %1 TC veya $\geq$ %1 IC ve 21 PD-L1 $<$ %1 TC ve $<$ %1 IC) için 44 NSCLC örneğinden olmak üzere tekli slaytlar, bir BenchMark ULTRA (referans), bir BenchMark XT ve bir BenchMark GX cihazında VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmıştır.

Tüm slaytlar körlenmiş ve randomize edilmiş ve ardından NSCLC için VENTANA PD-L1 (SP142) Assay puanlama algoritmasıyla değerlendirilmiştir (NSCLC $\geq$ %50 TC veya $\geq$ %10 IC için Tablo 14, NSCLC $\geq$ %1 TC veya $\geq$ %1 IC için Tablo 15). Sonuçlar, Tablo 20 ve Tablo 21'de özetlenmiştir.

Tablo 20. NSCLC örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasına ilişkin platformlar arası uygunluk (PD-L1 Ekspresyonu $\geq$ %50 TC veya $\geq$ %10 IC).

Platformlar Arası Uygunluk	Uyum % (%95 CI) ^[a]
BenchMark ULTRA: BenchMark XT	PPA: 95,2 (77,3-99,2) NPA: 100,0 (85,7-100,0) OPA: 97,7 (88,2-99,6)
BenchMark ULTRA: BenchMark GX	PPA: 95,2 (77,3-99,2) NPA: 100,0 (85,1-100,0) OPA: 97,7 (87,9-99,6)

[a] İki yönlü Wilson puanı yöntemi CI

Tablo 21. NSCLC örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasına ilişkin platformlar arası uygunluk (PD-L1 Ekspresyonu $\geq$ %1 TC veya $\geq$ %1 IC).

Platformlar Arası Uygunluk	Uyum % (%95 CI) ^[a]
BenchMark ULTRA: BenchMark XT	PPA: 100,0 (85,7-100,0) NPA: 100,0 (84,5-100,0) OPA: 100,0 (92,0-100,0)
BenchMark ULTRA: BenchMark GX	PPA: 100,0 (85,7-100,0) NPA: 100,0 (84,5-100,0) OPA: 100,0 (92,0-100,0)

[a] İki yönlü Wilson puanı yöntemi CI

Okuyucu Kesinliği Çalışması - NSCLC

Okuyucular Arası ve Okuyucu İçi Kesinliği değerlendirmek için, üç patoloğ PD-L1 ekspresyonu aralığı ile birlikte VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmış 80 benzersiz NSCLC vakasını değerlendirmiştir. Örnekler, NSCLC için VENTANA PD-L1 (SP142) Assay puanlama algoritması kullanılarak PD-L1 için değerlendirilmeden önce körlenmiş ve randomize edilmiştir (NSCLC $\geq$ %50 TC veya $\geq$ %10 IC için Tablo 14, NSCLC $\geq$ %1 TC veya $\geq$ %1 IC için Tablo 15). Okuyucular tüm numuneleri, okumalar arasında en az iki hafta olacak şekilde iki kez değerlendirmiştir. Okuyucular ve her patoloğ okuması arasındaki uyum Tablo 22 ve Tablo 23'te özetlenmiştir.

Tablo 22. NSCLC örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasına ilişkin okuyucu kesinliği (PD-L1 Ekspresyonu $\geq$ %50 TC veya $\geq$ %10 IC).

Okuyucu Kesinliği	Uyum % (%95 CI)
Okuyucular arası kesinlik (ilk okumadan itibaren okuyucular arası ikili karşılaştırmaların ortalaması)	APA: 88,8 (82,0-94,1) ANA: 89,0 (82,2-94,4) OPA: 88,9 (82,8-94,1)
Okuyucu içi kesinlik (Birinci ve ikinci okumalar arasında üç okuyucunun uyum oranlarının ortalaması)	APA: 93,7 (89,9-96,6) ANA: 93,6 (89,8-96,7) OPA: 93,6 (90,3-96,6)

Tablo 23. NSCLC örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasına ilişkin okuyucu kesinliği (PD-L1 Ekspresyonu $\geq$ %1 TC veya $\geq$ %1 IC).

Okuyucu Kesinliği	Uyum % (%95 CI)
Okuyucular arası kesinlik (ilk okumadan itibaren okuyucular arası ikili karşılaştırmaların ortalaması)	APA: 93,7 (88,8-97,3) ANA: 90,7 (83,3-96,2) OPA: 92,5 (87,5-96,7)
Okuyucu içi kesinlik (Birinci ve ikinci okumalar arasında üç okuyucunun uyum oranlarının ortalaması)	APA: 95,4 (92,0-98,1) ANA: 93,4 (88,3-97,2) OPA: 94,6 (90,8-97,5)

Laboratuvarlar Arası Tekrar Edilebilirlik Çalışması - NSCLC

NSCLC doku örneklerinde PD-L1 durumunu belirleme konusunda tayinin yeniden üretilebilirliğini kanıtlamak amacıyla, VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyaması için Laboratuvarlar Arası Yeniden Üretilebilirlik Çalışması gerçekleştirilmiştir. PD-L1 ekspresyonu aralığına sahip 28 benzersiz NSCLC örneği, en az 20 gün boyunca ardışık olmayan 5 günün her birinde 3 harici laboratuvarda boyanmıştır. Boyamadan önce, slaytlar körlenmiş ve randomize edilmiştir. Her bir merkezde, boyanan slaytlar 2 patoloğ (okuyucu) tarafından NSCLC için VENTANA PD-L1 (SP142) Assay puanlama algoritması ile bağımsız olarak değerlendirilmiştir (NSCLC $\geq$ %50 TC veya $\geq$ %10 IC için Tablo 14 ve NSCLC $\geq$ %1 TC veya $\geq$ %1 IC için Tablo 15). Sonuçlar, Tablo 24 ve Tablo 25'de özetlenmiştir.

Tablo 24. NSCLC örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasına ilişkin laboratuvarlar arası tekrarlanabilirlik (PD-L1 Ekspresyonu $\geq$ %50 TC veya $\geq$ %10 IC).

Laboratuvarlar Arası Yeniden Üretilirlik	Uyum % (%95 CI)
Toplam uyum (uzlaşma puanına kıyasla, tesisler, günler ve okuyucular arasında)	PPA: 86,6 (83,0-89,5) ^[a] NPA: 99,8 (98,7-100,0) ^[a] OPA: 93,2 (91,3-94,7) ^[a]
Tesisler arası uyum (tesisler arası ikili karşılaştırmaların ortalaması)	APA: 89,5 (80,9-95,5) ANA: 92,1 (84,4-97,1) OPA: 91,0 (90,3-91,6) ^[a]
Okuyucular arası uyum (her bir tesiste okuyucular arası ikili karşılaştırmaların ortalaması)	APA: 93,9 (89,3-97,4) ANA: 95,4 (90,6-98,2) OPA: 94,7 (92,2-96,5) ^[a]

[a] İki yönlü Wilson puanı yöntemi CI

Tablo 25. NSCLC örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasına ilişkin laboratuvarlar arası tekrarlanabilirlik (PD-L1 Ekspresyonu $\geq$ %1 TC veya $\geq$ %1 IC).

Laboratuvarlar Arası Yeniden Üretilirlik	Uyum % (%95 CI)
Toplam uyum (uzlaşma puanına kıyasla, tesisler, günler ve okuyucular arasında)	PPA: 97,1 (94,9-98,3) ^[a] NPA: 89,9 (86,6-92,5) ^[a] OPA: 93,5 (91,6-95,0) ^[a]
Tesisler arası uyum (tesisler arası ikili karşılaştırmaların ortalaması)	APA: 88,4 (78,9-94,1) ANA: 86,6 (79,6-92,2) OPA: 87,6 (86,8-88,3) ^[a]
Okuyucular arası uyum (her bir tesiste okuyucular arası ikili karşılaştırmaların ortalaması)	APA: 89,2 (80,8-94,3) ANA: 87,5 (81,3-92,5) OPA: 88,4 (84,9-91,2) ^[a]

[a] İki yönlü Wilson puanı yöntemi CI

Klinik Sonuç Çalışması - NSCLC $\geq$ %50 TC veya $\geq$ %10 IC

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay performansı, lokal olarak ilerlemiş veya metastatik NSCLC izlenen ve platin içeren rejim sırasında veya sonrasında hastalığı ilerlemiş hastalarda TECENTRIQ tedavisinin etkililiğini ve güvenliğini değerlendirmek üzere tasarlanmış, Faz III, çok merkezli, uluslararası, randomize, açık etiketli bir çalışma olan OAK (NCT02008227) çalışmasında araştırılmıştır.

Hasta örnekleri VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmış ve boyama kabul edilebilirliği ve PD-L1 ekspresyonuna yönelik olarak değerlendirilmiştir. Hasta örnekleri çekirdek iğne biyopsileri (%34,5), punch biyopsi (%16,3), rezeksiyonlar (%28,7) veya başka bir türden (%20,5) elde edilen FFPE NSCLC dokusudur; %66,6'sı primer tümörler ve %33,4'ü metastatik tümörlerdir.

Tablo 26'da, çalışma için taranan tüm NSCLC örneklerinde VENTANA PD-L1 (SP142) Assay için toplam boyama kabul edilebilirlik oranı açıklanmaktadır. PD-L1 boyanmış slaytlar için kabul edilebilir morfoloji ve kabul edilebilir arka plan oranları da rapor edilmektedir. Toplam 1185 örnek arasından 72'si ilk boyama girişiminde başarısız olmuş ve boyama işlemi tekrarlanmıştır. 72 numuneden 26'sı kabul edilemez olarak kalmıştır (kabul edilemez bademcik kontrolü nedeniyle 1, kabul edilemez negatif reaktif kontrol nedeniyle 19 ve kabul edilemez arka plan ve morfoloji nedeniyle 6). VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, yüksek başlangıç (yani ilk geçiş) ve nihai toplam boyama kabul edilebilirlik oranları göstermiştir: sırasıyla %93,9 ve %97,8. Nihai morfoloji ve arka plan kabul edilebilirlik oranları %99'dan yüksektir.

Tablo 26. OAK (NCT02008227) için VENTANA PD-L1 (SP142) Assay NSCLC boyama performansı özellikleri.

Özellik	Kabul edilebilirlik oranı % (n/N) (%95 CI) ^[a]	
	İlk ^[b]	Son ^[c]
Toplam boyama kabul edilebilirlik oranı	93,9 (1113/1185) (92,4-95,1)	97,8 (1159/1185) (96,8-98,5)
Morfoloji	98,5 (1122/1139) (97,6-99,1)	99,6 (1160/1165) (99,0-99,8)
Arka plan	98,2 (1119/1139) (97,3-98,9)	99,7 (1161/1165) (99,1-99,9)

[a] İki yönlü Wilson puanı yöntemi CI

[b] İlk boyama denemesi [c] Son boyama denemesi

OAK çalışmasına, ilk 850 randomize hastadan oluşan primer analiz popülasyonu ile birlikte 1225 hasta alınmıştır; uygun hastalar IC'de PD-L1 ekspresyonu durumu, önceden alınan kemoterapi rejimi sayısı ve histolojiye göre sınıflara ayrılmıştır. Hastalar, kabul edilebilir toksisite veya radyografik ya da klinik ilerlemeye kadar 3 haftada bir 1200 mg olarak uygulanan TECENTRIQ veya araştırmacı tarafından değerlendirildiği üzere klinik fayda kaybına kadar 3 haftada bir 75 mg/m² olarak uygulanan dosetaksel almak üzere randomize edilmiştir (1:1). Tümör örnekleri, VENTANA PD-L1 (SP142) Assay kullanılarak TC ve IC'de PD-L1 ekspresyonu bakımından ileriye dönük olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar aşağıda açıklanan önceden belirtilen analizler için PD-L1 ekspresyonu alt gruplarını tanımlamak üzere kullanılmıştır.

OAK çalışmasında, primer analiz popülasyonundaki hastalar arasında, ortalama yaş 64'tür (aralık: 33 - 85) ve hastaların %61'i erkektir. Hastaların çoğu beyazdır (%70). Hastaların yaklaşık dörtte üçünde skuamöz olmayan hastalık (%74), %10'unda bilinen EGFR mutasyonu ve %0,2'sinde bilinen ALK yeniden düzenlemeleri vardır; çoğu hasta güncel olarak veya eskiden sigara içen kişilerdir (%82). Başlangıç ECOG performans durumu 0 (%37) veya 1'dir (%63). Hastaların %75'i sadece bir eski platin bazlı terapötik rejim almıştır. OAK çalışmasının majör etkililik sonucu ölçümü, primer analiz popülasyonunda (ilk 850 randomize hasta) toplam sağkalımdır (OS). Ortalama takip süresi 21 ay olan OAK çalışmasının sonuçları, Tablo 27 ve Şekil 2'de gösterilmiştir.

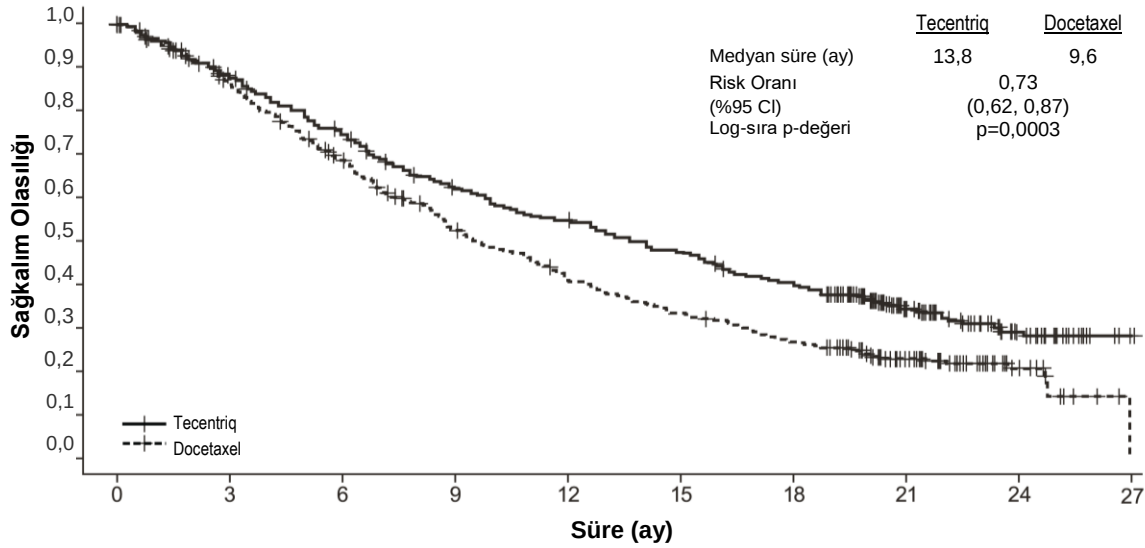
Tümör örnekleri bir merkez laboratuvarında VENTANA PD-L1 (SP142) Assay kullanılarak ileriye dönük olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar önceden belirtilen analizler için PD-L1 ekspresyonu alt gruplarını tanımlamak üzere kullanılmıştır. 850 hastanın %16'sı, $\geq$ %50 TC veya $\geq$ %10 IC üzerinde PD-L1 ekspresyonu görülmesi olarak tanımlanan yüksek PD-L1 ekspresyonuna sahip olarak sınıflandırılmıştır. PD-L1 ekspresyonuna dayanan OS'nin keşfedici etkililik alt grup analizinde tehlike oranı, yüksek PD-L1 ekspresyon alt grubunda 0,41'dir (%95 CI: 0,27, 0,64) ve yüksek PD-L1 ekspresyonuna sahip olmayan hastalarda 0,82'dir (%95CI: 0,68, 0,98).

Tablo 27. OAK (NCT02008227) çalışmasındaki primer analiz popülasyonunda elde edilen Etkililik Sonuçları.

Toplam Sağkalım (OS)	Atezolizumab (N=425)	Dosetaksel (N=425)
Ölüm (%)	271 (64)	298 (70)
Medyan, ay (%95 CI)	13,8 (11,8, 15,7)	9,6 (8,6, 11,2)
Risk oranı ^[a] (%95 CI)	0,73 (0,62, 0,87)	
p değeri ^[b]	0,0003	
12-ay OS (%)	218 (55)	151 (41)
18-ay OS (%)	157 (40)	98 (27)

[a] Tümör infiltrate edici immün hücrelerde PD-L1 ekspresyonuna, önceki kemoterapi rejimi sayısına ve histolojiye göre sınıflara ayrılmıştır

[b] Sınıflara ayrılmış log-sıra testi temelinde CI = Güven Aralığı



Risk Altındaki Hasta Sayısı

Tecentriq	425	407	382	363	342	326	305	279	260	248	234	223	218	205	198	188	175	163	157	141	116	74	54	41	28	15	4	1
Docetaxel	425	390	365	336	311	286	263	236	219	195	179	168	151	140	132	123	116	104	98	90	70	51	37	28	16	6	3	

Risk oranı, katmanlı Cox modeli temel alınarak, p-değeri ise katmanlı log-sıra testi temel alınarak hesaplanmıştır.

Şekil 2. OAK (NCT02008227) birincil analiz popülasyonunda toplam sağkalımın Kaplan-Meier eğrisi.

Klinik Sonuç Çalışması - NSCLC $\geq$ %1 TC veya $\geq$ %1 IC

TECENTRIQ'in etkililiği, metastatik skuamöz olmayan NSCLC'li, kemoterapi görmemiş hastalarla yapılmış çok merkezli, uluslararası, randomize, açık etiketli bir çalışma olan IMpower150 (NCT02366143) kapsamında araştırılmıştır. Toplam 1202 hasta kaydolmuş ve cinsiyet, karaciğer metastazları ve TC ile IC üzerinde PD-L1 ekspresyonu durumuna göre sınıflara ayrılmıştır. Hastalar aşağıdaki üç tedavi kolundan birine randomize edilmiştir (1:1:1).

- Dört veya altı döngü boyunca 3 haftada bir paklitaksel ve karboplatin ile TECENTRIQ (atezolizumab) ve ardından klinik fayda kaybına kadar 3 haftada bir atezolizumab 1200mg (A Kolu)
- Dört veya altı döngü boyunca 3 haftada bir bevasizumab, paklitaksel ve karboplatin ile TECENTRIQ (atezolizumab) 1200 mg ve ardından klinik fayda kaybına kadar atezolizumab 1200 mg ve hastalığın ilerlemesine ve toksisitenin kabul edilemez düzeye gelmesine kadar 3 haftada bir bevasizumab (B Kolu)
- Dört veya altı döngü boyunca 3 haftada bir paklitaksel ve karboplatin ile bevasizumab ve ardından hastalığın ilerlemesine veya toksisitenin kabul edilemez düzeye gelmesine kadar 3 haftada bir bevasizumab (C Kolu)

Araştırma popülasyonunun demografik özellikleri ve temel hastalık özellikleri, tedavi kolları arasında iyi dengelenmiştir. Ortalama yaş 63'tir (aralık: 31 - 90) ve hastaların %60'ı erkektir. Hastaların çoğu beyazdır (%82). Hastaların yaklaşık %10'unda bilinen bir EGFR mutasyonu, %4'ünde bilinen ALK yeniden düzenlemeleri, %14'ünde başlangıçtaki karaciğer metastazları vardır ve hastaların çoğu (%80) mevcut durumda veya geçmişte sigara içen kişilerdir. Başlangıç ECOG performans durumu 0 (%43) veya 1'dir (%57). Hastaların tümörlerinin %51'inde $\geq$ 1% TC veya $\geq$ 1% IC PD-L1 ekspresyonu, hastaların tümörlerinin %49'unda ise $<$ 1% TC ve $<$ 1% IC PD-L1 ekspresyonu vardır.

PFS için son analiz sırasında hastaların medyan takip süresi 15,3 ay olmuştur. EGFR mutasyonu veya ALK yeniden düzenlemeleri olan ve daha önce tirozin kinaz inhibitörleriyle tedavi edilmiş hastalar dahil olmak üzere ITT popülasyonu, C Koluna kıyasla B Kolunda klinik yönden anlamlı PFS iyileşmesi ortaya koymuştur (0,61 HR, %95 CI: 0,52, 0,72; medyan PFS 8,3 ve 6,8 ay).

Ara OS analizi sırasında hastaların medyan takip süresi 19,7 ay olmuştur. Bu analizden ve ITT popülasyonundaki güncel PFS analizinden elde edilen ana sonuçlar, Tablo 28'de verilmiştir. ITT popülasyonunda OS için Kaplan-Meier eğrisi, Şekil 3'te verilmiştir. ITT ve PD-L1 alt gruplarındaki OS sonuçları Şekil 5'te özetlenmiştir. Güncel PFS sonuçları da Şekil 4 ve 6'da verilmiştir.

Tablo 28. IMpower150'de Tedavi Amaçlı popülasyon için etkililik sonuçları.

Etkililik Sonlanım Noktası	A Kolu (Atezolizumab + Paklitaksel + Karboplatin)	B Kolu (Atezolizumab + Bevasizumab + Paklitaksel + Karboplatin)	C Kolu (Bevasizumab + Paklitaksel + Karboplatin)
İkincil Sonlanım Noktaları^[a]			
Araştırmacı tarafından değerlendirilen PFS (RECIST v1.1)^[g]	n = 402	n = 400	n = 400
Olay sayısı (%)	330 (82,1)	291 (72,8)	355 (88,8)
Medyan PFS süresi (ay)	6,7	8,4	6,8
%95 CI	(5,7, 6,9)	(8,0, 9,9)	(6,0, 7,0)
Katmanlı risk oranı ^{[e],[f]} (%95 CI)	0,91 (0,78, 1,06)	0,59 (0,50, 0,69)	---
p değeri ^{[b],[c]}	0,2194	< 0,0001	
12-ay PFS (%)	24	38	20
OS ara analiz^[g]	n = 402	n = 400	n = 400
Ölüm sayısı (%)	206 (51,2)	192 (48,0)	230 (57,5)
Olaylara kadar geçen medyan süre (ay)	19,5	19,8	14,9
%95 CI	(16,3, 21,3)	(17,4, 24,2)	(13,4, 17,1)
Katmanlı risk oranı ^{[e],[f]} (%95 CI)	0,85 (0,71, 1,03)	0,76 (0,63, 0,93)	---
p değeri ^{[b],[c]}	0,0983	0,006	
6-ay OS (%)	84	85	81
12-ay OS (%)	66	68	61
Araştırmacı Tarafından Değerlendirilen En İyi Genel Yanıt^{[d],[g]} (RECIST 1.1)	n = 401	n = 397	n = 393
Yanıt verenlerin sayısı (%)	163 (40,6)	224 (56,4)	158 (40,2)
%95 CI	(35,8, 45,6)	(51,4, 61,4)	(35,3, 45,2)
Tam yanıt sayısı (%)	8 (2,0)	11 (2,8)	3 (0,8)
Kısmi yanıt sayısı (%)	155 (38,7)	213 (53,7)	155 (39,4)
Araştırmacı tarafından değerlendirilen DOR^[g] (RECIST v1.1)	n = 163	n = 224	n = 158
Ay cinsinden medyan	8,3	11,5	6,0
%95 CI	(7,1, 11,8)	(8,9, 15,7)	(5,5, 6,9)

^[a] Birincil etkililik sonlanım noktaları PFS ve OS olup, bunlar ITT yabani tip (WT) popülasyonunda analiz edilmiş, yani EGFR mutasyonu veya ALK yeniden düzenlemeleri bulunan hastalar dışında tutulmuştur.

^[b] Katmanlı log-sıra testi temel alınmıştır

^[c] Bilgi amacıyla, ITT popülasyonunda, B Kolu ile C Kolu arasındaki ve A Kolu ile C Kolu arasındaki karşılaştırmalar henüz önceden belirtilmiş analiz hiyerarşisine uygun bir biçimde test edilmemiştir

^[d] Tam yanıt ve kısmi yanıt için en iyi genel yanıt

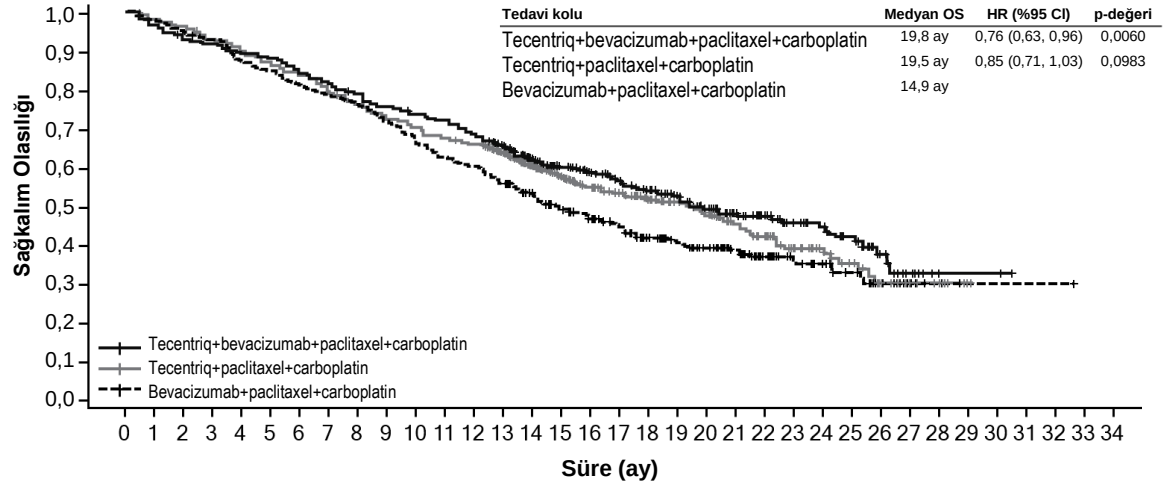
^[e] Cinsiyet, karaciğer metastazları ve TC ile IC üzerinde PD-L1 tümörü ekspresyonuyla katmanlı

^[f] C Kolu, tüm risk oranları için karşılaştırma grubudur

^[g] Klinik kesme noktasında güncel PFS analizi ve ara OS analizi 22 Ocak 2018

PFS = progresyonsuz sağkalım; RECIST = Response Evaluation Criteria in Solid Tumors v1.1.

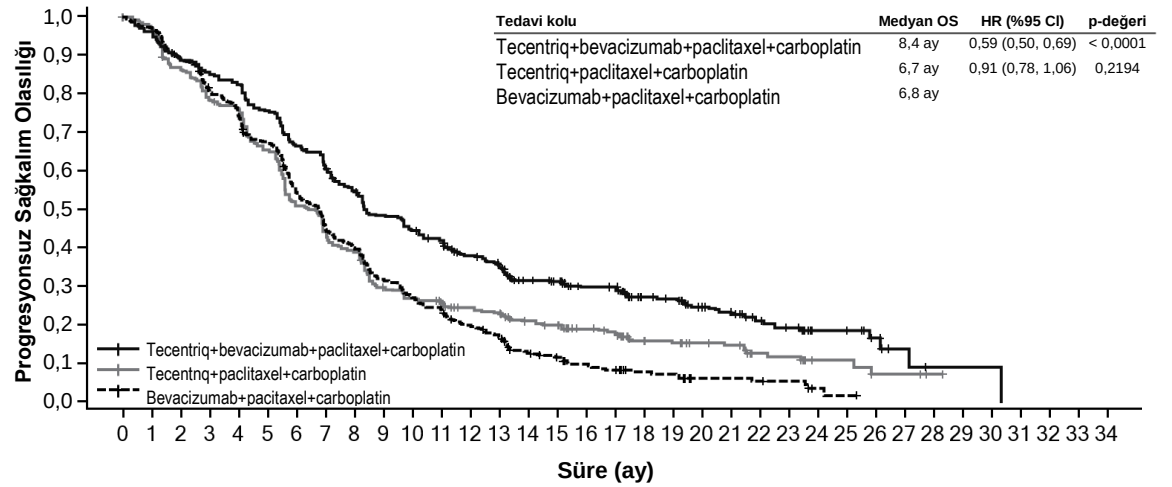
CI = güven aralığı; DOR = yanıt süresi; OS = genel sağkalım.



Risk Altındaki Hasta Sayısı

Tecentriq+bevacizumab+paclitaxel+carboplatin	400	380	367	361	351	347	333	320	308	297	288	281	265	244	208	185	162	147	130	112	93	73	62	45	38	32	18	10	2	2	2	
Tecentriq+paclitaxel+carboplatin	402	391	382	369	357	343	332	314	301	287	275	266	258	237	204	176	153	136	120	107	93	76	59	44	31	25	15	10	7	1		
Bevacizumab+paclitaxel+carboplatin	400	388	376	366	344	335	317	303	293	278	255	241	233	209	180	154	139	123	104	90	78	68	51	41	36	27	15	6	3	1	1	1

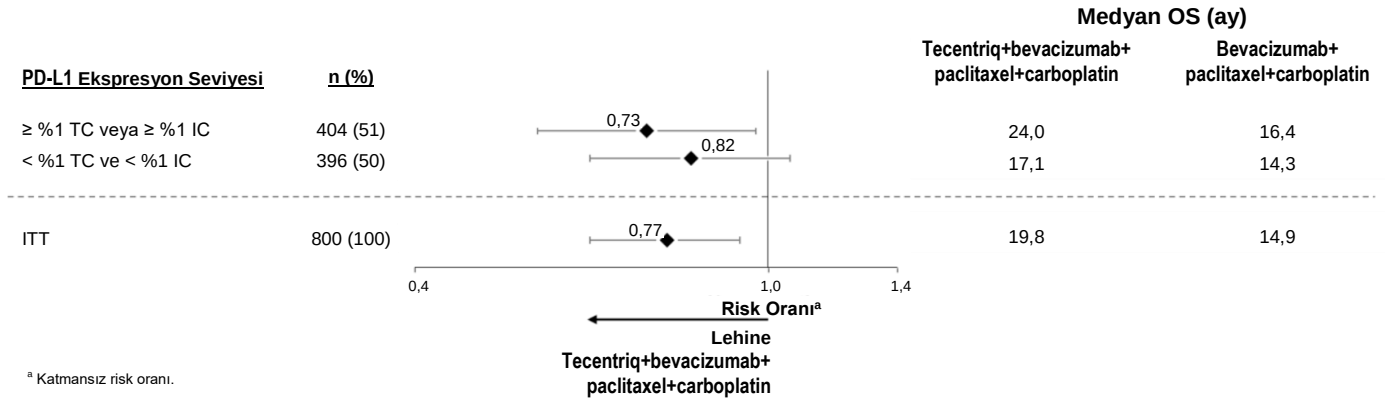
Şekil 3. IMpower150'de Kaplan-Meier genel sağkalım eğrisi.



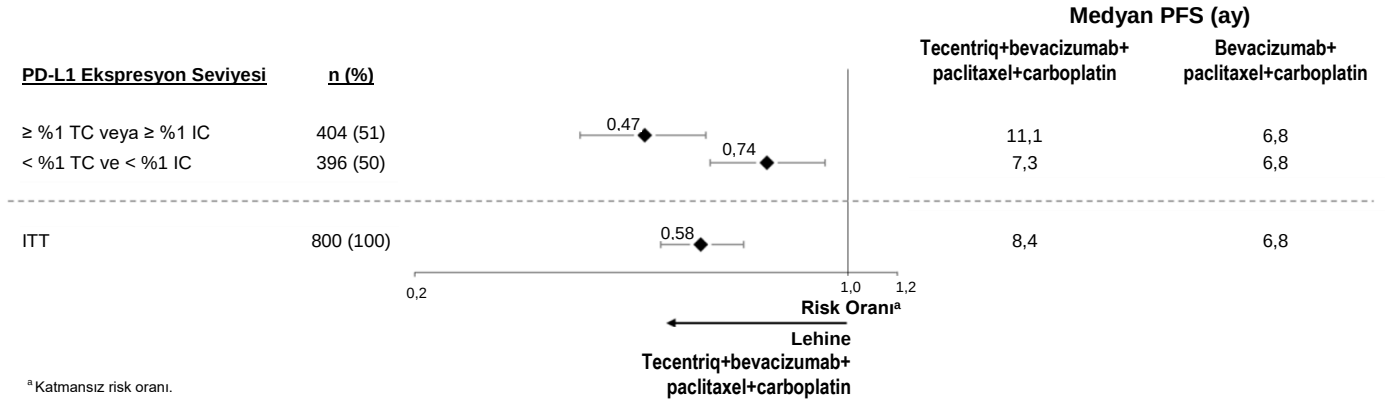
Risk Altındaki Hasta Sayısı

Tecentriq+bevacizumab+paclitaxel+carboplatin	400	376	352	336	326	297	262	240	215	189	174	163	141	127	96	91	76	75	58	55	40	35	26	22	13	12	7	3	1	1	1
Tecentriq+paclitaxel+carboplatin	402	387	343	313	302	258	204	171	154	116	105	100	87	83	66	62	48	43	31	29	25	23	14	13	6	6	3	3	1		
Bevacizumab+paclitaxel+carboplatin	400	385	353	318	297	261	213	176	154	122	104	93	74	62	43	35	26	22	16	15	8	8	7	6	2	1					

Şekil 4. IMpower150'de Kaplan-Meier progresyonsuz sağkalım eğrisi.



Şekil 5. IMpower150, B ve C Kolunda genel sağkalım meta analiz diyagramı.



Şekil 6. IMpower150, B ve C Kolunda progresyonsuz sağkalım meta analiz diyagramı.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ – TNBC

Puanlama Algoritması - TNBC

TNBC dokusu, Tablo 29'de verilen, TNBC için VENTANA PD-L1 (SP142) Assay puanlama algoritmasına uygun şekilde değerlendirilmelidir. İlave talimatlar ve temsili görseller için yorumlama kılavuzuna (P/N 1018231EN) bakın.

Tablo 29. VENTANA PD-L1 (SP142) Assay için puanlama algoritması.

İmmün Hücre (IC) Boyama Değerlendirmesi ^[a]	PD-L1 Ekspresyonu
Fark edilebilir PD-L1 boyaması yokluğu VEYA Tümör hücreleri, ilişkili intratümöral ve bitişik peritümöral stromanın işgal ettiği tümör alanının < %1'ini kapsayan tümör infiltrate edici immün hücrelerde herhangi bir yoğunlukta mevcut fark edilebilir PD-L1 boyaması	< %1 IC
Tümör hücreleri, ilişkili intratümöral ve bitişik peritümöral stromanın işgal ettiği tümör alanının ≥ %1'ini kapsayan tümör infiltrate edici immün hücrelerde herhangi bir yoğunlukta mevcut fark edilebilir PD-L1 boyaması	≥ %1 IC

[a] Tümör hücrelerinde PD-L1 boyaması, TNBC hasta dokusunun puanlama tayinine dahil edilmemelidir.

Doku Kalınlığı - TNBC

Doku kalınlığı, 10 benzersiz TNBC örneği kullanılarak değerlendirilmiştir (5 PD-L1 ≥ %1 IC ve 5 PD-L1 < %1 IC). 2, 3, 4, 5, 6 ve 7 mikrondaki iki kopyalı kesitler her bir vaka için test edilmiştir. Tüm doku kalınlıkları, PD-L1 için uygun spesifik boyama ve VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyaması için kabul edilebilir arka plan düzeyleri göstermiştir. Hiçbir kesit, test edilen kalınlık aralığında PD-L1 durumunda bir değişiklik sergilememiştir. Ventana, VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyama için örneklerin 4 mikronda kesilmesini önermektedir.

Tekrarlanabilirlik ve Ara Kesinlik - TNBC

TNBC örneklerinin VENTANA PD-L1 Assay boyaması çalışmaları, aşağıdakileri ortaya koymak amacıyla tamamlanmıştır:

- Gün İçi Tekrar Edilebilirlik - Her biri 24 benzersiz TNBC örneğinden alınan 5 kopya slayt (12 PD-L1 $\geq$ %1 IC ve 12 PD-L1 < %1 IC), bir gün içinde tek bir BenchMark ULTRA cihazında VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmıştır.
- Günler Arası Tekrar Edilebilirlik - her biri 24 benzersiz TNBC örneğinden alınan 10 slayt (12 PD-L1 $\geq$ %1 IC ve 12 PD-L1 < %1 IC), ardışık olmayan 5 günde tek bir BenchMark ULTRA cihazında VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmıştır.
- Cihazlar arası ve lotlar arası Kesinlik - Her biri 24 benzersiz TNBC örneğinden 27 slayt (12 PD-L1 $\geq$ %1 IC ve 12 PD-L1 < %1 IC), üç adet BenchMark ULTRA cihazında üç lot VENTANA PD-L1 (SP142) antikor ve üç eşleşmiş OptiView DAB IHC Detection Kit ile OptiView Amplification Kit lotu kullanılarak VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmıştır.

Tüm slaytlar körlenmiş, randomize edilmiş ve TNBC için VENTANA PD-L1 (SP142) Assay puanlama algoritması (Tablo 29) kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar Tablo 30'da özetlenmiştir.

Tablo 30. TNBC örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasına ilişkin tekrar edilebilirlik ve ara kesinlik.

Tekrar Edilebilirlik/Ara Kesinlik Parametresi	Uyum % (%95 CI)
Gün içi tekrar edilebilirlik (tek bir gün içinde)	PPA: 100,0 (94,0-100,0) NPA: 95,0 (87,2-100,0) OPA: 97,5 (93,3-100,0)
Günler arası kesinlik (birbirini izlemeyen 5 gün)	PPA: 100,0 (96,9-100,0) NPA: 96,7 (92,7-100,0) OPA: 98,3 (96,3-100,0)
Cihazlar arası ve lotlar arası kesinlik (3 cihaz, 3 antikor lotu ve 3 saptama ve amplifikasyon kiti lotu)	PPA: 98,3 (96,0-100,0) NPA: 99,2 (97,2-100,0) OPA: 98,6 (97,1-99,8)
Platform içi kesinlik (üç BenchMark ULTRA cihaz)	PPA: 100,0 (88,6-100,0) NPA: 96,7 (88,9-100,0) OPA: 98,3 (95,0-100,0)
Platform içi kesinlik (üç BenchMark XT cihaz)	PPA: 100,0 (88,6-100,0) NPA: 100,0 (88,6-100,0) OPA: 100,0 (94,0-100,0)
Platform içi kesinlik (üç BenchMark GX cihaz)	PPA: 93,3 (83,3-100,0) NPA: 96,7 (88,9-100,0) OPA: 95,0 (90,0-100,0)

Platformlar Arası Uygunluk - TNBC

Her biri 44 benzersiz TNBC örneğinden alınan tekil slaytlar (22 PD-L1 $\geq$ %1 IC ve 22 PD-L1 < %1 IC), bir BenchMark ULTRA (referans), bir BenchMark XT ve bir BenchMark GX cihazında VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmıştır. Tüm slaytlar körlenmiş, randomize edilmiş ve TNBC için VENTANA PD-L1 (SP142) Assay puanlama algoritması (Tablo 29) kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar Tablo 31'de özetlenmiştir.

Tablo 31. TNBC örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasının platformlar arası uygunluğu.

Platformlar Arası Uygunluk	Uyum % (%95 CI) ^[a]
BenchMark ULTRA: BenchMark XT	PPA: 100,0 (86,2-100,0) NPA: 90,0 (69,9-97,2) OPA: 95,5 (84,9-98,7)
BenchMark ULTRA: BenchMark GX	PPA: 100,0 (86,2-100,0) NPA: 85,0 (64,0-94,8) OPA: 93,2 (81,8-97,7)

^[a] İki yönlü Wilson puanı yöntemi CI

Okuyucu Kesinliği - TNBC

Okuyucular Arası ve Okuyucu İçi Kesinliği değerlendirmek için, üç patolog VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmış 60 benzersiz TNBC örneğini (30 PD-L1 $\geq$ %1 IC ve 30 PD-L1 < %1 IC) değerlendirmiştir. Örnekler TNBC için VENTANA PD-L1 (SP142) Assay puanlama algoritması (Tablo 29) kullanılarak PD-L1 durumu değerlendirmesinden önce körlenmiş ve randomize edilmiştir. Okuyucular tüm numuneleri, okumalar arasında en az iki hafta olacak şekilde iki kez değerlendirmiştir. Okuyucular ve her patolog okuması arasındaki uyum Tablo 32'de özetlenmiştir.

Tablo 32. TNBC örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyaması için okuyucular arası ve okuyucu içi kesinlik.

Okuyucu Kesinliği	Uyum % (%95 CI)
Okuyucular arası kesinlik (ilk okumadan itibaren okuyucular arası ikili karşılaştırmaların ortalaması)	APA: 91,1 (84,2-96,6) ANA: 91,1 (84,1-96,7) OPA: 91,1 (85,6-96,7)
Okuyucu içi kesinlik (Birinci ve ikinci okumalar arasında üç okuyucunun uyum oranlarının ortalaması)	APA: 93,8 (89,5-97,1) ANA: 93,9 (89,2-97,3) OPA: 93,9 (89,9-97,2)

Laboratuvarlar Arası Tekrar Edilebilirlik Çalışması - TNBC

TNBC örneklerinde PD-L1 durumunu belirleme konusunda tayinin yeniden üretilebilirliğini kanıtlamak amacıyla, VENTANA PD-L1 (SP142) Assay için Laboratuvarlar Arası Yeniden Üretilebilirlik Çalışması gerçekleştirilmiştir. Yirmi sekiz benzersiz TNBC örneği (14 PD-L1 $\geq$ %1 IC ve 14 PD-L1 < %1 IC), en az 20 gün boyunca ardışık olmayan 5 günün her birinde 3 harici laboratuvarı boyanmıştır. Boyamadan önce, slaytlar körlenmiş ve randomize edilmiştir. Her tesiste, boyanmış slaytlar 2 patolog (okuyucu) tarafından bağımsız olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada VENTANA PD-L1 (SP142) Assay için nihai boyama kabul edilebilirlik oranı %98,6'dır. Sonuçlar Tablo 33'de özetlenmiştir.

Tablo 33. TNBC Örneklerinin VENTANA PD-L1 (SP142) Assay boyamasına ilişkin laboratuvarlar arası yeniden üretilebilirlik.

Laboratuvarlar Arası Yeniden Üretilebilirlik	Uyum % (%95 CI)
Toplam uyum (uzlaşma puanına kıyasla, tesisler, günler ve okuyucular arasında)	PPA: 93,2 (90,4-95,2) ^[a] NPA: 96,6 (94,4-98,0) ^[a] OPA: 94,8 (93,1-96,1) ^[a]
Tesisler arası uyum (tesisler arası ikili karşılaştırmaların ortalaması)	APA: 91,5 (84,0-96,6) ANA: 91,3 (83,6-96,4) OPA: 91,4 (90,7-92,0) ^[a]
Okuyucular arası uyum (her bir tesiste okuyucular arası ikili karşılaştırmaların ortalaması)	APA: 93,6 (88,2-97,0) ANA: 93,3 (87,8-96,7) OPA: 93,4 (90,6-95,4) ^[a]

^[a] İki yönlü Wilson puanı yöntemi CI

Klinik Sonuç Çalışması - TNBC

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ürününün performansı, rezektabl olmayan, lokal olarak ilerlemiş veya metastatik TNBC'li ve daha önce metastatik hastalık için kemoterapi görmemiş hastalarda TECENTRIQ'in nab-paksitaksel ile etkililiğini ve güvenliğini değerlendirmeye yönelik faz III, çift kör, iki kollu, çok merkezli, uluslararası, randomize, plasebo kontrollü bir çalışma olan IMpassion130 (NCT02425891) kapsamında araştırılmıştır.

Hasta örnekleri VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile boyanmış ve boyama kabul edilebilirliği ve PD-L1 ekspresyonuna yönelik olarak değerlendirilmiştir. Hasta örnekleri, biyopsilerden (%66,8), rezeksiyonlardan (%29,3) alınan veya başka türlerdeki FFPE TNBC olmuş ve bunların %64,7'si birincil tümörlerden, %35,3'ü ise metastatik tümörlerden elde edilmiştir.

Tablo 34'da, çalışma için taranan tüm TNBC örneklerinde VENTANA PD-L1 (SP142) Assay için toplam boyama kabul edilebilirlik oranı açıklanmaktadır. PD-L1 boyanmış slaytlar için kabul edilebilir morfoloji ve kabul edilebilir arka plan oranları da rapor edilmektedir. Toplam 1284 örnek arasından 52'si ilk boyama girişiminde başarısız olmuş ve 49 numunede boyama işlemi tekrarlanmıştır. 23 adet kabul edilemez numune kalmıştır (negatif reaktif kontrolü nedeniyle 17'si kabul edilemez; 6'sı ise arka plan veya morfoloji nedeniyle kabul edilemez). VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, yüksek başlangıç (yani ilk geçiş) ve nihai toplam boyama kabul edilebilirlik oranları göstermiştir: sırasıyla %96,0 ve %98,0. Nihai morfoloji ve arka plan kabul edilebilirlik oranları %98'den yüksektir.

Tablo 34. VENTANA PD-L1 (SP142) Assay TNBC boyama performansı özellikleri.

Özellik	Kabul edilebilirlik oranı % (n/N) (%95 CI)[a]	
	İlk[b]	Son[c]
Toplam boyama kabul edilebilirlik oranı	96,0 (1232/1284) (94,7-96,9)	98,0 (1258/1284) (97,0-98,6)
Morfoloji	98,4 (1232/1252) (97,5-99,0)	99,5 (1258/1264) (99,0-99,8)
Arka plan	100,0 (1232/1232) (99,7-100,0)	100,0 (1258/1258) (99,7-100,0)

[a] İki yönlü Wilson puanı yöntemi CI

[b] İlk boyama denemesi [c] Son boyama denemesi

IMpassion130'a 902 hasta kaydolmuş, uygun hastalar taksan tedavisinden önce karaciğer metastazı varlığına ve VENTANA PD-L1 (SP142) Assay ile değerlendirilmiş IC cinsinden PD-L1 ekspresyonuna (IC tümör alanının < %1'i ve tümör alanının ≥ %1'i) göre katmanlandırılmış. Hastalar, her 28 günlük döngünün 1. ve 15. günlerinde intravenöz infüzyonlar aracılığıyla atezolizumab (840 mg) veya plaseboya ek olarak her 28 günlük döngünün 1., 8. ve 15. günlerinde intravenöz infüzyonla uygulanan nab-paksitaksel (100 mg/m²) alacak şekilde randomize edilmiştir. Hastalara, RECIST v1.1'e göre radyografik hastalık progresyonuna veya toksisitenin kabul edilemez düzeye ulaşmasına kadar tedavi uygulanmıştır.

Araştırma popülasyonunun demografik özellikleri ve temel hastalık özellikleri, tedavi kolları arasında iyi dengelenmiştir. Çoğu hasta kadın (%99,6) olup, %67,5'i beyaz, %17,8'i ise Asyalıdır. Ortalama yaş 55'tir (aralık: 20-86). Başlangıç ECOG performans durumu 0 (%58,4) veya 1'dir (%41,3). Toplamda, kaydolan hastaların %41'inde ≥ %1 IC PD-L1 ekspresyonu, %27'sinde karaciğer metastazı ve %7'sinde başlangıç asemptomatik beyin metastazı vardır. Hastaların yaklaşık olarak yarısı (neo)adjuvant ortamda taksan (%51) veya antrasiklin (%54) almıştır. PD-L1 ekspresyonu ≥ %1 IC olan hastalarda hastanın demografik özellikleri ve başlangıçtaki tümör hastalığı genellikle daha büyük bir araştırma popülasyonunu temsil etmiştir.

Eş birincil etkililik sonlanım noktaları, ITT popülasyonunda RECIST v1.1'e göre PD-L1 ekspresyonu ≥ %1 IC olan hastalarda araştırmacı tarafından değerlendirilmiş progresyonsuz sağkalımı (PFS) ve ITT popülasyonunda ve PD-L1 ekspresyonu ≥ %1 IC olan hastalarda genel sağkalımı (OS) içermiştir. İkincil etkililik sonlanım noktaları, RECIST v1.1'e göre objektif yanıt oranını (ORR) ve yanıt süresini (DOR) içermiştir.

13 aylık medyan takip süreli PFS'nin nihai analizi sırasında PD-L1 ekspresyonu ≥ %1 IC olan hastalarda IMpassion130 için PFS, ORR ve DOR sonuçları Tablo 35'te özetlenmiştir ve Şekil 7'de PFS için Kaplan-Meier eğrileri gösterilmiştir. PD-L1 ekspresyonu < %1 IC olan hastalar, nab-paksitaksele atezolizumab eklendiğinde PFS'de iyileşme göstermemiştir (HR 0,94, %95 CI 0,78, 1,13).

18 medyan takip süresiyle güncel bir OS analizi yapılmış olup, OS sonuçları Tablo 35'te, Kaplan-Meier eğrileri Şekil 8'de verilmiştir. PD-L1 ekspresyonu < %1 IC olan hastalar, nab-paksitaksele atezolizumab eklendiğinde OS'de iyileşme göstermemiştir (HR 0,97, %95 CI 0,78, 1,20). Güncellenmiş OS analizi sırasında Tablo 35 altında gösterildiği şekilde, keşfedici bir PFS analizi yürütülmüştür.

Tablo 35. PD-L1 ekspresyonu $\geq$ %1 IC olan hastalarda Impassion130'dan elde edilen Etkililik Sonuçları.

Önemli etkililik sonlanım noktaları	Atezolizumab + nab-paklitaksel	Plasebo + nab-paklitaksel
Birincil etkililik sonlanım noktaları	n=185	n=184
Araştırmacı tarafından değerlendirilen PFS (RECIST v1.1) ^c		
Olay sayısı (%)	138 (74,6)	157 (85,3)
Medyan PFS süresi (ay)	7,5	5,0
%95 CI	(6,7, 9,2)	(3,8, 5,6)
Katmanlı risk oranı ^[c] (%95 CI)	0,62 (0,49, 0,78)	
p-değeri ^[a]	<0,0001	
12-ay PFS (%)	29,1	16,4
Araştırmacı tarafından değerlendirilen PFS (RECIST v1.1) — Güncellenmiş keşfedici analiz ^d		
Olayların sayısı (%)	149 (%80,5)	163 (%88,6)
PFS'nin medyan süresi (ay cinsinden)	7,5	5,3
%95 CI	(6,7, 9,2)	(3,8, 5,6)
Katmanlı risk oranı ^e (%95 CI)	0,63 (0,50-0,80)	
p-değeri ^a	<0,0001	
12 aylık PFS (%)	30,3	17,3
OS ^{a,b,d}		
Ölüm olaylarının sayısı (%)	94 (50,8)	110 (59,8)
Olayların medyan süresi (ay cinsinden)	25,0	18,0
%95 CI	(19,55, 30,65)	(13,63, 20,07)
Katmanlı risk oranı ^e (%95 CI)	0,71 (0,54, 0,93)	
İkincil ve keşfedici sonlanım noktaları		
Araştırmacı tarafından değerlendirilen ORR (RECIST 1.1) ^c	n=185	n=183
Yanıt verenlerin sayısı (%)	109 (58,9)	78 (42,6)
%95 CI	(51,5, 66,1)	(35,4, 50,1)
Tam yanıt sayısı (%)	19 (10,3)	2 (%1,1)
Kısmi yanıt sayısı (%)	90 (48,6)	76 (41,5)
Dengeli hastalık sayısı	38 (20,5)	49 (26,8)
Araştırmacı tarafından değerlendirilen DOR	n=109	n=78
Ay cinsinden medyan	8,5	5,5
%95 CI	(7,3, 9,7)	(3,7, 7,1)

[a] Katmanlı log-sıra testi temel alınmıştır.

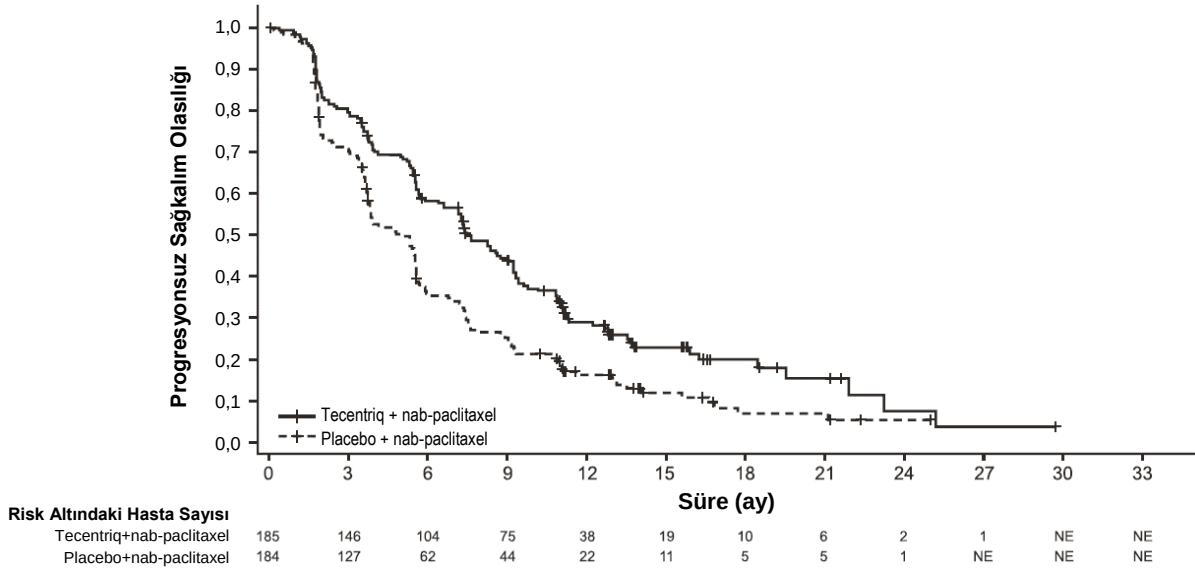
[b] PD-L1 ekspresyonu $\geq$ %1 olan hastalarda tedavi kolları arasındaki OS karşılaştırmaları, önceden belirtilmiş analiz hiyerarşisine göre formal olarak test edilmemiştir.

[c] 17 Nisan 2018 klinik kesme noktasında PFS, ORR, DOR nihai analizi ve ilk OS ara analizine göre

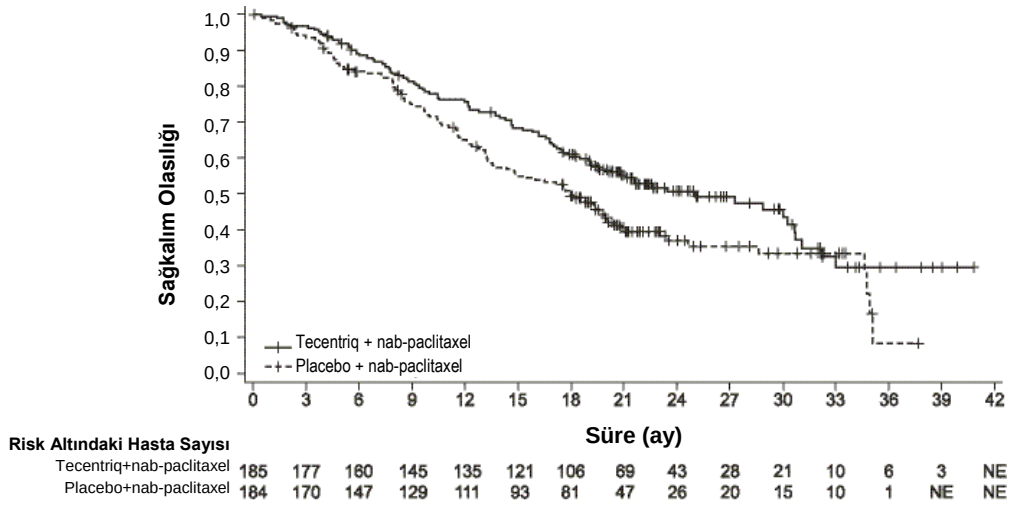
[d] 2 Ocak 2019 klinik kesme noktasında ikinci OS ara analizi ve keşfedici PFS analizine göre

[e] Karaciğer metastazlarının varlığına ve öncesinde taksan tedavisine göre katmanlandırılmıştır.

PFS=progresyonsuz sağkalım; RECIST=Response Evaluation Criteria in Solid Tumors v1.1.; CI=güven aralığı; ORR=objektif yanıt oranı; DOR=yanıt süresi; OS=genel sağkalım, NE=tahmin edilemiyor



Şekil 7. PD-L1 ekspresyonu $\geq$ %1 IC olan hastalarda IMpassion130'da progressyonsuz sağkalımın Kaplan-Meier eğrisi.



Şekil 8. PD-L1 ekspresyonu $\geq$ %1 IC olan hastalarda IMpassion130'da genel sağkalımın Kaplan-Meier eğrisi.

REFERANSLAR

1. 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.
2. Butte MJ, Keir ME, Phamduy TB, et al. Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T cell responses. *Immunity.* 2007;27(1):111-122.
3. 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.
4. Bellmunt J, Mullane SA, Werner L, et al. Association of PD-L1 expression on tumor-infiltrating mononuclear cells and overall survival in patients with urothelial carcinoma. *Ann Oncol.* 2015;26(4):812-817.
5. Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol.* 2010;28(19):3167-3175.
6. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet.* 2016;387(10030):1837-1846.
7. Powles T, Eder JP, Fine GD, et al. MPDL3280A (anti-PD-L1) treatment leads to clinical activity in metastatic bladder cancer. *Nature.* 2014;515(7528):558-562.
8. Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet.* 2016;387(10031):1909-20.
9. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med.* 2012;366(26):2443-2454.
10. Schmid P, Adams S, Rugo HS, et al. Atezolizumab and Nab-Paclitaxel in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2018;379(22):2108-2121.
11. Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
12. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
13. Anatomic Pathology Checklist. College of American Pathologists. Jul 28, 2015.
14. CLSI. Quality assurance for design control and implementation of immunohistochemistry assay: approved guidelines. 2nd edition Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011.
15. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech Histochem.* 1991;66(4):194-199.
16. Hautzer NW, Wittkuhn JF, McCaughey WT. Trypsin digestion in immunoperoxidase staining. *J Histochem Cytochem.* 1980;28(1):52-53.
17. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen. A possible source of error in immunohistochemistry. *Am J Clin Pathol.* 1980;73(5):626-632.
18. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. *Lab Med.* 1983;14:767.

FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI

VENTANA, BENCHMARK, OPTIVIEW ve VENTANA logosu Roche şirketinin ticari markalarıdır. Tüm diğer ticari markalar, ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir.

© 2019 Ventana Medical Systems, Inc. ve Roche Diagnostics International, Inc.

İRTİBAT BİLGİSİ



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany



www.ventana.com

