

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay

REF 741-4860
08008540001

IVD 50

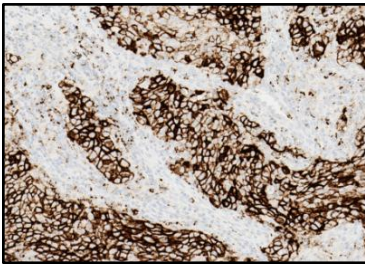


Figura 1. Espressione di PD-L1 nel cancro del polmone non a piccole cellule.

USO PREVISTO

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay è destinato all'uso in laboratorio per la rilevazione immunohistochimica qualitativa al microscopio ottico della proteina Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) nelle cellule tumorali e nelle cellule immunitarie infiltranti il tumore nei tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE) indicati di seguito e colorati con OptiView DAB IHC Detection Kit e OptiView Amplification Kit su uno strumento BenchMark IHC/ISH.

La determinazione dello stato di PD-L1 è specifica per l'indicazione e la valutazione si basa sulla percentuale dell'area tumorale occupata da cellule immunitarie infiltranti il tumore (% IC) con espressione di PD-L1 di qualsiasi intensità o sulla percentuale di cellule tumorali con espressione di PD-L1 (% TC) di qualsiasi intensità.

Fare riferimento alla tabella che segue per gli specifici tipi di tumore e le applicazioni cliniche. Fare riferimento all'etichetta del rispettivo farmaco per le raccomandazioni cliniche relative all'espressione di PD-L1.

Tabella 1. Indicazione per l'uso Companion Diagnostic.

Tipo di tumore	Cutoff dell'espressione di PD-L1	Applicazione clinica
Carcinoma uroteliale	≥ 5% IC	L'espressione di PD-L1 nelle cellule immunitarie infiltranti il tumore (IC) rilevata da VENTANA PD-L1 (SP142) Assay nel carcinoma uroteliale è indicata come ausilio all'identificazione di pazienti per il trattamento con TECENTRIQ (atezolizumab).
Carcinoma mammario triplo negativo (TNBC)	≥ 1% IC	L'espressione di PD-L1 nelle cellule immunitarie infiltranti il tumore (IC) rilevata da VENTANA PD-L1 (SP142) Assay nel TNBC è indicata come ausilio all'identificazione di pazienti per il trattamento con TECENTRIQ (atezolizumab).
Cancro del polmone non a piccole cellule (NSCLC)	≥ 50% TC o ≥ 10% IC	L'espressione di PD-L1 nella membrana delle cellule tumorali (TC) o nelle cellule immunitarie infiltranti il tumore (IC) rilevata da VENTANA PD-L1 (SP142) Assay nell'NSCLC è indicata come ausilio all'identificazione di pazienti per il trattamento con TECENTRIQ (atezolizumab).

Tabella 2. Ulteriori indicazioni per l'uso.

Tipo di tumore	Cutoff dell'espressione di PD-L1	Applicazione clinica
Cancro del polmone non a piccole cellule (NSCLC)	≥ 50% TC o ≥ 10% IC	L'espressione di PD-L1 nella membrana delle cellule tumorali (TC) o nelle cellule immunitarie infiltranti il tumore (IC) rilevata da VENTANA PD-L1 (SP142) Assay nell'NSCLC può essere associata a un maggiore beneficio per il paziente trattato con TECENTRIQ (atezolizumab).
	≥ 1% TC o ≥ 1% IC	L'espressione di PD-L1 nella membrana delle cellule tumorali (TC) o nelle cellule immunitarie infiltranti il tumore (IC) rilevata da VENTANA PD-L1 (SP142) Assay nell'NSCLC può essere associata a un maggiore beneficio per il paziente trattato con TECENTRIQ (atezolizumab).

I risultati di test ottenuti tramite questo prodotto devono essere interpretati da un patologo qualificato in un quadro che consideri anche gli esami istologici, i dati clinici pertinenti e i controlli adeguati.

Questo prodotto è indicato per uso diagnostico in vitro (IVD).

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay è un'analisi immunohistochimica che utilizza un anticorpo primario monoclonale di coniglio anti-PD-L1 per riconoscere la proteina PD-L1. Questa analisi è stata co-sviluppata da Roche/Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana) e Roche/Genentech per identificare i pazienti più predisposti a rispondere al trattamento con TECENTRIQ® (atezolizumab).

PD-L1 è una proteina transmembrana che regola negativamente le risposte immunitarie legandosi ai suoi due recettori Programmed Death-1 (PD-1) e B7.1. PD-1 è un recettore inibitorio espresso sulle cellule T in seguito alla loro attivazione, sostenuta in stati di stimolazione cronica quali l'infezione cronica o il cancro.¹ Il legame tra PD-L1 e PD-1 inibisce la proliferazione delle cellule T, la produzione di citochine e l'attività citolitica, determinando l'inattivazione funzionale o l'esaurimento delle cellule T.^{1,2} B7.1 è una molecola espressa sulle cellule che presentano l'antigene e sulle cellule T attivate.^{1,2} Il legame tra PD-L1 e B7.1 sulle cellule T e sulle cellule che presentano l'antigene può mediare la regolazione negativa delle risposte immunitarie, inibendo ad esempio l'attivazione delle cellule T e la produzione di citochine.² L'espressione di PD-L1 è stata osservata in cellule immunitarie e in cellule tumorali. L'espressione aberrante di PD-L1 nelle cellule tumorali (TC) è risultata impedire l'immunità antitumorale, determinando un'evasione della risposta immunitaria.^{1,3} Pertanto, il blocco della via PD-L1/PD-1 rappresenta una strategia interessante per rafforzare l'immunità delle cellule T specifiche del tumore soppressa dall'espressione di PD-L1 nel microambiente tumorale. L'associazione tra l'espressione di PD-L1 nelle cellule tumorali o nelle cellule immunitarie infiltranti il tumore e il beneficio clinico degli inibitori della via PD-L1/PD-1 è stata segnalata in diversi tipi di cancro.³⁻¹⁰

Atezolizumab è un anticorpo monoclonale umanizzato ingegnerizzato Fc che si lega a PD-L1 e blocca le interazioni con i recettori PD-1 e B7.1.³⁻¹⁰

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay utilizza un anticorpo primario monoclonale di coniglio che si lega a PD-L1 nelle sezioni di tessuto incluso in paraffina. Lo specifico anticorpo può essere visualizzato utilizzando OptiView DAB IHC Detection Kit (n. di cat. 760-700 / 06396500001) seguito da OptiView Amplification Kit (n. di cat. 760-099 / 06396518001 (50 test) o 860-099 / 06718663001 (250 test)). Fare riferimento alle opportune schede metodologiche per ulteriori informazioni.

MATERIALI FORNITI

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay contiene una quantità di reagente sufficiente per 50 test.

Un erogatore da 5 mL di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay contiene circa 36 µg di anticorpo monoclonale di coniglio.

L'anticorpo è diluito in soluzione salina tamponata Tris, EDTA, Brij-35 con proteina di trasporto e azoturo di sodio come conservante.

La concentrazione specifica dell'anticorpo è di circa 7 µg/mL.

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay contiene un anticorpo monoclonale ricombinante di coniglio prodotto come sumatante di coltura cellulare purificato.

Fare riferimento all'opportuna guida all'interpretazione per ottenere istruzioni dettagliate sull'interpretazione della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay in specifiche indicazioni:

- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for Urothelial Carcinoma (P/N 1015704)
- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for NSCLC ≥ 50% TC or ≥ 10% IC Stepwise Scoring Algorithm (P/N 1015703)
- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for NSCLC ≥ 1% TC or ≥ 1% IC Stepwise Scoring Algorithm (P/N 1015654)
- VENTANA PD L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for TNBC (P/N 1018231)

Fare riferimento all'opportuna scheda metodologica del kit di rilevazione VENTANA per le descrizioni dettagliate di quanto segue: Principio della procedura, Materiali e metodi, Prelievo dei campioni e preparazione per l'analisi, Procedure di controllo qualità, Risoluzione dei problemi, Interpretazione dei risultati e Limitazioni.

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

I reagenti di colorazione, quali i kit di rilevazione VENTANA e i componenti ausiliari, compresi i vetrini dei tessuti di controllo positivi e negativi, non sono forniti.

È possibile che non tutti i prodotti elencati nella scheda metodologica siano disponibili in tutte le aree geografiche. Rivolgersi al rappresentante dell'assistenza locale.

I reagenti e materiali seguenti possono essere necessari per la colorazione ma non sono forniti:

1. Tessuti benigni di tonsilla umana da utilizzare come tessuti di controllo
2. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (n. di cat. 790-4795 / 06683380001)
3. Vetrini per microscopia, caricati positivamente
4. OptiView DAB IHC Detection Kit (n. di cat. 760-700 / 06396500001)
5. OptiView Amplification Kit (n. di cat. 760-099 / 06396518001 (50 test) o 860-099 / 06718663001 (250 test))
6. EZ Prep Concentrate (10X) (n. di cat. 950-102 / 05279771001)
7. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n. di cat. 950-300 / 05353955001)
8. LCS (Predilute) (n. di cat. 650-010 / 05264839001)
9. ULTRA LCS (Predilute) (n. di cat. 650-210 / 05424534001)
10. Cell Conditioning Solution (CC1) (n. di cat. 950-124 / 05279801001)
11. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (n. di cat. 950-224 / 05424569001)
12. Hematoxylin II (n. di cat. 790-2208 / 05277965001)
13. Bluing Reagent (n. di cat. 760-2037 / 05266769001)
14. Attrezzatura di laboratorio per uso generico
15. Strumento BenchMark IHC/ISH

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Alla ricezione e quando non è in uso, il prodotto va conservato a 2–8 °C. Non congelare.

Per garantire la corretta erogazione di reagente e la stabilità dell'anticorpo, dopo ogni utilizzo riposizionare il tappo dell'erogatore e riporre immediatamente l'erogatore in frigorifero in posizione verticale.

Su ogni erogatore di anticorpi è riportata la scadenza. Se conservato adeguatamente, il reagente resta stabile fino alla data indicata sull'etichetta. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza indicata.

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I tessuti FFPE trattati normalmente sono idonei all'uso con questo anticorpo primario se usati con i kit di rilevazione VENTANA e gli strumenti BenchMark IHC/ISH. Si consiglia di eseguire la fissazione dei tessuti in formalina neutra tamponata (NBF) al 10% per un minimo di 6 ore e per un massimo di 72 ore. Tempi di fissazione inferiori a 6 ore possono provocare una perdita di colorazione per la proteina PD-L1. La quantità di NBF utilizzata deve essere pari a 15–20 volte il volume di tessuto. Nessun fissativo penetrerà per più di 2–3 mm nel tessuto solido o 5 mm nel tessuto poroso in un periodo di 24 ore. La fissazione può essere eseguita a temperatura ambiente (15–25 °C).^{11,12}

Fissativi quali alcol-formalina-acido acetico (AFA), PREFER e altri fissativi a base di alcol hanno evidenziato una perdita di colorazione specifica della proteina PD-L1 a tutti i tempi di fissazione testati (1–72 ore) e non sono quindi consigliati per questo tipo di analisi. Fare riferimento alle guide all'interpretazione per una discussione più approfondita dell'effetto che la preparazione dei campioni esercita sull'intensità della colorazione di PD-L1.

Le sezioni devono essere tagliate a uno spessore di circa 4 µm e montate su vetrini di vetro caricati positivamente. I vetrini devono essere colorati immediatamente poiché l'antigenicità delle sezioni di tessuto tagliate potrebbe diminuire con il passare del tempo e risultare compromessa 3 mesi dopo il taglio dal blocco di paraffina per i campioni di carcinoma uroteliale e 2 mesi dopo il taglio per i campioni NSCLC, TNBC e di tonsille (consultare le guide all'interpretazione e la sezione Caratteristiche prestazionali riportata nel seguito).

Si consiglia di eseguire i controlli positivi e negativi contemporaneamente ai campioni sconosciuti.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Per uso diagnostico in vitro (IVD).
2. Solo per uso professionale.
3. Non usare oltre il numero di test specificato.
4. I vetrini caricati positivamente possono essere suscettibili a sollecitazioni ambientali con conseguente colorazione inadeguata. Per ulteriori informazioni sull'uso di questo tipo di vetrini, contattare il rappresentante Roche.
5. I materiali di origine umana o animale devono essere maneggiati come materiali a rischio biologico e smaltiti adottando precauzioni appropriate. In caso di esposizione, attenersi alle direttive sanitarie delle autorità responsabili.^{13,14}
6. Evitare il contatto dei reagenti con gli occhi e le membrane mucose. Se i reagenti entrano in contatto con aree sensibili, lavare con acqua abbondante.
7. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti, poiché può causare risultati non corretti.
8. Per ulteriori informazioni sull'uso di questo dispositivo, fare riferimento alla guida per l'utilizzatore dello strumento BenchMark IHC/ISH e alle istruzioni per l'uso di tutti i componenti necessari disponibili sul sito navifyportal.roche.com.
9. Consultare le autorità locali e/o statali in relazione al metodo di smaltimento consigliato.
10. Le etichette di sicurezza dei prodotti seguono principalmente le linee guida GHS dell'UE. La scheda dati di sicurezza è disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.
11. Per segnalare sospetti incidenti gravi correlati a questo dispositivo, contattare il rappresentante locale Roche e l'autorità competente dello Stato membro o del paese in cui risiede l'utilizzatore.

PROCEDURA DI COLORAZIONE

Gli anticorpi primari VENTANA sono stati sviluppati per l'uso sugli strumenti BenchMark IHC/ISH in abbinamento ai kit di rilevazione e agli accessori VENTANA. Con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay deve essere utilizzata una procedura di colorazione specifica per l'analisi. Fare riferimento alla Tabella 3 e alla Tabella 4 per il protocollo di colorazione consigliato e le procedure di colorazione richieste. Qualsiasi deviazione dalle procedure di test consigliate può inficiare i risultati attesi. È indispensabile utilizzare e documentare controlli appropriati. Gli utilizzatori che modificano le procedure di test consigliate si devono assumere ogni responsabilità relativamente all'interpretazione dei risultati dei pazienti.

Questo anticorpo è stato ottimizzato per tempi di incubazione specifici; tuttavia, l'utilizzatore deve convalidare i risultati ottenuti con questo reagente.

È possibile visualizzare, stampare e modificare i parametri delle procedure automatizzate conformemente alla procedura descritta nella guida per l'utilizzatore dello strumento. Fare riferimento all'opportuna scheda metodologica del kit di rilevazione VENTANA per ulteriori dettagli sulle procedure di colorazione immunostochimica.

Per ulteriori informazioni dettagliate sull'uso corretto di questo dispositivo, fare riferimento alla scheda metodologica dell'erogatore in linea associato al P/N 741-4860.

Tabella 3. Usare le seguenti procedure di colorazione per utilizzare VENTANA PD-L1 (SP142) Assay su uno strumento BenchMark IHC/ISH.

Strumento	Procedura di colorazione
BenchMark GX	GX VENTANA PDL1 (SP142)
BenchMark ULTRA oppure BenchMark ULTRA PLUS	ULTRA VENTANA PDL1 (SP142)

Tabella 4. Protocollo di colorazione consigliato per VENTANA PD-L1 (SP142) Assay e Rabbit Monoclonal Negative Control Ig con OptiView DAB IHC Detection Kit e OptiView Amplification Kit su uno strumento BenchMark IHC/ISH.

Tipo di procedura	Input parametro
Cottura	Opzionale
Anticorpo (primario)	VENTANA PD-L1 (SP142) selezionato oppure Negative Control selezionato
Controcolorazione	Hematoxylin II, 4 minuti
Post-controcolorazione	Bling, 4 minuti

PROCEDURE DI CONTROLLO QUALITÀ

Rabbit Monoclonal Negative Control Ig

Acquisire un vetrino di controllo negativo del reagente corrispondente per ogni campione come ausilio all'interpretazione dei risultati. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig, un anticorpo di controllo negativo del reagente, è specificamente indicato per questa analisi ed è utilizzato al posto dell'anticorpo primario per valutare le colorazioni aspecifiche. La procedura di colorazione del controllo negativo del reagente deve essere uguale al periodo di incubazione dell'anticorpo primario. L'utilizzo di reagenti di controllo negativo diversi o il mancato utilizzo del reagente di controllo negativo consigliato potrebbe causare risultati falsati.

Tessuto di controllo delle tonsille

Un tessuto di controllo deve essere incluso in ogni corsa di colorazione. I tessuti benigni di tonsilla umana idonei devono essere utilizzati come controllo. Il tessuto di controllo deve essere fissato il prima possibile e trattato in modo identico ai tessuti del paziente. Tale tessuto può consentire di controllare tutte le fasi dell'analisi, dalla preparazione del tessuto fino alla colorazione. Il tessuto delle tonsille contiene elementi di colorazione positivi e negativi per la proteina PD-L1 ed è quindi idoneo all'uso come tessuto di controllo. I componenti del tessuto di colorazione positivi e negativi sono utilizzati per confermare che l'analisi abbia funzionato correttamente.

La colorazione adeguata dei componenti del tessuto delle tonsille viene descritta nella Tabella 5 e nelle guide all'interpretazione.

Verifica dell'analisi

Prima dell'uso iniziale di un anticorpo o di un sistema di colorazione in una procedura diagnostica, è necessario verificare la specificità dell'anticorpo effettuando test su una serie di tessuti con caratteristiche prestazionali IHC note che rappresentino tessuti PD-L1 positivi e negativi (fare riferimento alle Procedure di controllo qualità precedentemente descritte in questa sezione del foglietto illustrativo e alle indicazioni per il Controllo qualità del College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, alla Anatomic Pathology Checklist¹⁵ o alle CLSI Approved Guideline¹⁶). Ripetere queste procedure di controllo qualità per ciascun nuovo lotto di anticorpo od ogni volta che si modificano i parametri dell'analisi. I tessuti di carcinoma uroteliale, NSCLC e TNBC con stato PD-L1 noto, nonché i campioni benigni di tonsille umane, sono idonei alla verifica dell'analisi.

INTERPRETAZIONE DELLA COLORAZIONE/RISULTATI PREVISTI

La procedura di immunocolorazione automatizzata VENTANA provoca la precipitazione di un prodotto di reazione di colore marrone DAB in corrispondenza dei siti dell'antigene individuati dall'anticorpo VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. I vetrini colorati vengono interpretati da un patologo mediante microscopio ottico. Un patologo qualificato con esperienza nelle procedure IHC dovrà valutare i tessuti di controllo e qualificare il prodotto colorato prima di interpretare i risultati.

Interpretazione del tessuto di controllo delle tonsille

Il tessuto di controllo delle tonsille colorato deve essere esaminato per garantire la corretta colorazione. La presenza di colorazione PD-L1 all'interno di macrofagi e linfociti nei centri germinativi e nell'epitelio reticolare della cripta delle tonsille si può utilizzare come elemento di tessuto positivo. L'assenza di colorazione nell'epitelio squamoso superficiale e cellule immunitarie negative nelle regioni interfollicolari delle tonsille fungono da elementi di tessuto negativi. I criteri di accettabilità sono elencati nella Tabella 5. (Fare riferimento alle guide all'interpretazione per una discussione più approfondita.)

Se i tessuti di controllo non evidenziano una colorazione adeguata, qualsiasi risultato ottenuto con i campioni del paziente deve essere considerato come non valutabile ed è necessario ripetere la colorazione.

Tabella 5. Criteri di valutazione del tessuto di controllo delle tonsille.

Accettabile	Non accettabile
Elementi positivi del tessuto: colorazione PD-L1 da moderata a intensa nei linfociti e nei macrofagi nei centri germinativi, con colorazione diffusa nelle cellule epiteliali reticolari della cripta.	Eccessiva colorazione di fondo non specifica, che oscura l'identificazione delle cellule PD-L1-positive.
Elementi negativi del tessuto: cellule immunitarie PD-L1-negative nelle regioni interfollicolari con epitelio squamoso superficiale negativo.	Colorazione PD-L1 da debole ad assente nei linfociti e nei macrofagi nei centri germinativi e nelle cellule epiteliali reticolari della cripta.

Controllo negativo del reagente

Una colorazione aspecifica, se presente, avrà un aspetto diffuso e può essere valutata utilizzando il vetrino di controllo negativo del reagente colorato con Rabbit Monoclonal Negative Control Ig. Per l'interpretazione dei risultati della colorazione, prendere in considerazione cellule intatte, poiché spesso le cellule necrotiche o degradate assumono una colorazione non specifica. Se la colorazione di fondo è eccessiva, i risultati del campione sottoposto a test non devono essere considerati validi. Nelle guide all'interpretazione è possibile trovare esempi di colorazione di fondo per la presente analisi.

Tessuto del paziente

Le cellule tumorali (TC) vengono quantificate come percentuale di cellule tumorali con presenza percettibile di colorazione di membrana PD-L1 di qualsiasi intensità. Le cellule immunitarie (IC) infiltranti il tumore vengono quantificate come porzione dell'area tumorale, inclusi stroma intratumorale associato e stroma peritumorale contiguo, occupata da IC con colorazione PD-L1 di qualsiasi intensità. Il tessuto del paziente deve essere valutato in base all'algoritmo di valutazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay specifico per l'indicazione descritto nella sezione Caratteristiche prestazionali. Fare riferimento alla guida all'interpretazione per l'indicazione specifica per ulteriori informazioni e immagini rappresentative.

LIMITAZIONI SPECIFICHE

- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay è stato approvato esclusivamente su strumenti BenchMark IHC/ISH con OptiView DAB IHC Detection Kit e OptiView Amplification Kit e non è approvato per qualsiasi altro tipo di rilevazione o strumento.
- Quest'analisi non è stata convalidata per l'uso con strisci citologici o campioni ossei decalcificati.
- I tessuti del paziente devono essere colorati entro 2 mesi dal taglio dal blocco di tessuto nel caso di NSCLC, TNBC e tessuti delle tonsille ed entro 3 mesi nel caso dei tessuti di carcinoma uroteliale. È stata osservata una perdita di prestazioni di colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay nel caso di sezioni di tessuto conservate a temperatura ambiente per periodi superiori a quelli menzionati.

- Artefatti quali macchie DAB, macchie bianche, punti DAB e/o chiazzeria possono richiedere la ripetizione della colorazione qualora interferiscano con l'interpretazione della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Confrontare sempre il vetrino colorato per PD-L1 con il controllo negativo del reagente per verificare che il fondo sia accettabile. Fare riferimento alle guide all'interpretazione per una discussione più approfondita.
- Nel controllo benigno delle tonsille umane, nei tessuti di testicolo e cervelletto sono stati osservati punti DAB occasionali, mentre nei tessuti ipofisari e pancreatici normali (cellule acinose) è stata osservata una colorazione nucleare focale (Tabella 6); la colorazione nucleare, tuttavia, non è inclusa nella valutazione della colorazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.
- Non tutte le analisi potrebbero essere registrate su ogni strumento. Per ulteriori informazioni, contattare il rappresentante locale Roche.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

PRESTAZIONI ANALITICHE - INFORMAZIONI GENERALI

Sono stati condotti test di colorazione per sensibilità, specificità, effetto dello spessore del tessuto, ripetibilità e precisione intermedia, nonché test relativi a precisione del patologo, riproducibilità inter-laboratorio e studi sugli esiti clinici; i risultati sono elencati di seguito.

Commenti generali sull'analisi

Salvo diversa indicazione, gli intervalli di confidenza (CI) bilaterali al 95% intorno alle stime di concordanza per tutti gli studi (esclusi gli studi di efficacia clinica) sono stati calcolati con il metodo bootstrap a percentili su 2000 campioni bootstrap. Se la stima puntuale della concordanza percentuale positiva (PPA), della concordanza percentuale negativa (NPA) o della concordanza percentuale complessiva (OPA) è pari a 0% o 100%, si è utilizzato il metodo del punteggio di Wilson per calcolare il CI al 95%. Se la stima puntuale della concordanza positiva media (APM) e della concordanza negativa media (ANM) è pari a 0% o 100% per il confronto a coppie, si è utilizzato il metodo del punteggio di Wilson di trasformazione per calcolare il CI al 95%.

Sensibilità e specificità

Array contenenti vari tessuti normali e neoplastici sono stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay e valutati per l'eventuale presenza di colorazione delle cellule immunitarie (qualsiasi colorazione delle cellule immunitarie, di qualsiasi intensità), come descritto nella Tabella 6 e nella Tabella 7.

Tabella 6. La sensibilità/specificità di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay è stata determinata testando tessuti normali FFPE.

Tessuto	N. casi positivi ^a /totali	Tessuto	N. casi positivi ^a /totali
Cervello	0/3	Timo	3/3
Cervelletto ^c	0/3	Midollo osseo	0/2
Ghiandola surrenale	1/3	Polmone	1/25
Ovaio	0/3	Cuore	0/3
Pancreas ^d	0/3	Esofago	0/3
Ghiandola paratiroidea	0/2	Stomaco	0/3
Ghiandola pituitaria ^d	0/3	Intestino tenue	1/3
Testicolo ^c	0/3	Colon	2/3
Tiroide	1/3	Fegato	0/3
Mammella	1/66	Ghiandola salivare	2/4
Milza	3/3	Rene	2/3
Tonsille ^c	3/3	Vescica ^b	3/36
Linfonodo	3/3	Prostata	0/3
Endometrio	2/3	Cervice	0/2

Tessuto	N. casi positivi ^a /totali	Tessuto	N. casi positivi ^a /totali
Muscolo scheletrico	0/2	Cute	0/3
Nervo	0/3	Mesotelio	0/3

^a Colorazione delle cellule immunitarie di qualsiasi intensità

^b Colorazione focale delle cellule immunitarie

^c Si sono osservati punti DAB focali in 1/3 dei tessuti di cervelletto, 1/3 dei tessuti di testicolo e nel controllo normale delle tonsille

^d Si è osservata colorazione nucleare in 1/3 dei tessuti di pancreas e 1/3 dei tessuti di ghiandola pituitaria

Tabella 7. La sensibilità/specificità di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay è stata determinata testando una varietà di tessuti FFPE neoplastici.

Patologia	N. casi positivi ^a /totali	
	Cellule immunitarie	Cellule tumorali
Glioblastoma (cervello)	1/1	0/1
Meningioma (cervello)	0/1	0/1
Ependimoma (cervello)	0/1	0/1
Oligodendroglioma (cervello)	0/1	0/1
Adenocarcinoma sieroso (ovaio)	1/1	0/1
Adenocarcinoma (ovaio)	1/1	0/1
Neoplasia neuroendocrina (pancreas)	0/1	0/1
Adenocarcinoma (pancreas)	1/1	0/1
Seminoma (testicolo)	1/1	0/1
Carcinoma embrionale (testicolo)	0/1	0/1
Carcinoma midollare (tiroide)	0/1	0/1
Carcinoma papillare (tiroide)	0/1	1/1
Carcinoma duttale microinvasivo (mammella)	1/1	0/1
Carcinoma duttale invasivo (mammella)	1/2	0/2
Linfoma a cellule B; NAS (milza) ^a	1/1	1/1
Carcinoma a piccole cellule (polmone)	1/1	1/1
Carcinoma a cellule squamose (polmone)	1/1	0/1
Adenocarcinoma (polmone)	0/1	0/1
Carcinoma neuroendocrino (esofago)	0/1	0/1
Adenocarcinoma (esofago)	1/1	0/1
Carcinoma a cellule ad anello con castone (stomaco)	1/1	0/1
Adenocarcinoma (intestino tenue)	1/1	0/1
Tumore stromale gastrointestinale (GIST) (intestino tenue)	1/1	0/1
Tumore stromale gastrointestinale (GIST) (colon)	0/1	0/1

Patologia	N. casi positivi ^a /totali	
	Cellule immunitarie	Cellule tumorali
Adenocarcinoma (colon)	1/1	0/1
Adenocarcinoma (retto)	1/1	1/1
Tumore stromale gastrointestinale (GIST) (retto)	0/1	0/1
Melanoma (retto)	1/1	0/1
Carcinoma epatocellulare (fegato)	0/1	0/1
Epatoblastoma (fegato)	1/1	0/1
Carcinoma a cellule chiare (rene)	1/1	0/1
Adenocarcinoma (prostata)	0/2	0/2
Leiomioma (utero)	0/1	0/1
Adenocarcinoma (utero)	1/1	0/1
Carcinoma a cellule chiare (utero)	1/1	1/1
Carcinoma a cellule squamose (cervice)	2/2	0/2
Rabdomiosarcoma embrionale (muscolatura striata)	0/1	0/1
Carcinoma a cellule basali (cute)	1/1	0/1
Carcinoma a cellule squamose (cute)	1/1	0/1
Neurofibroma (lombare)	1/1	0/1
Neuroblastoma (retroperitoneo)	1/1	0/1
Rabdomiosarcoma a cellule fusate (retroperitoneo)	0/1	0/1
Mesotelioma (peritoneo)	1/1	0/1
Linfoma a cellule B (linfonodo) ^b	1/1	1/1
Linfoma di Hodgkin (linfonodo)	1/1	1/1
Linfoma a cellule B; NAS (mediastino) ^b	1/1	1/1
Linfoma anaplastico a grandi cellule (linfonodo) ^b	1/1	1/1
Carcinoma uroteliale (vescica)	1/1	0/1
Leiomiomasarcoma (vescica)	0/1	0/1
Osteosarcoma (osso)	0/1	0/1
Leiomiomasarcoma (muscolatura liscia)	1/1	0/1

^a Colorazione delle cellule tumorali o immunitarie di qualsiasi intensità

^b Non è stata possibile la differenziazione della colorazione delle cellule immunitarie o tumorali

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

PRESTAZIONI ANALITICHE - CARCINOMA UROTELIALE

Algoritmo di valutazione - carcinoma uroteliale

Il tessuto di carcinoma uroteliale deve essere valutato in base all'algoritmo di valutazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per il carcinoma uroteliale riportato nella Tabella 8. Fare riferimento alla guida all'interpretazione (P/N 1015704) per ulteriori informazioni e immagini rappresentative.

Tabella 8. Algoritmo di valutazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per il carcinoma uroteliale.

Valutazione della colorazione delle cellule immunitarie (IC) ^a	Espressione di PD-L1
Assenza di qualsiasi colorazione PD-L1 percettibile OPPURE Presenza di colorazione PD-L1 percettibile di qualsiasi intensità nelle cellule immunitarie infiltranti il tumore su una percentuale < 5% dell'area tumorale occupata da cellule tumorali, stroma intratumorale associato e stroma peritumorale contiguo	< 5% IC
Presenza di colorazione PD-L1 percettibile di qualsiasi intensità nelle cellule immunitarie infiltranti il tumore su una percentuale ≥ 5% dell'area tumorale occupata da cellule tumorali, stroma intratumorale associato e stroma peritumorale contiguo	≥ 5% IC

^a La colorazione PD-L1 nelle cellule tumorali non deve essere inclusa nella determinazione della valutazione del tessuto di carcinoma uroteliale del paziente.

Spessore del tessuto - carcinoma uroteliale

Lo spessore del tessuto è stato valutato utilizzando 5 campioni unici di carcinoma uroteliale (3 PD-L1 ≥ 5% IC e 2 PD-L1 < 5% IC). Per ciascun caso sono state testate sezioni duplicate a 2, 3, 4, 5, 6 e 7 micron. Tutti gli spessori di tessuto hanno evidenziato un'adeguata colorazione specifica per PD-L1 e livelli di fondo accettabili per la colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Nessuna sezione ha presentato una variazione nell'espressione di PD-L1 nell'intervallo di spessore testato. Per eseguire la colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay i campioni devono essere tagliati a 4 µm.

Ripetibilità e precisione intermedia - carcinoma uroteliale

Sono stati completati studi della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni di carcinoma uroteliale al fine di dimostrare quanto segue:

- Ripetibilità all'interno dello stesso giorno - 5 vetrini replicati ciascuno da 24 campioni unici di carcinoma uroteliale (12 PD-L1 ≥ 5% IC e 12 PD-L1 < 5% IC) sono stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay su un solo strumento BenchMark ULTRA in un unico giorno.
- Precisione tra un giorno e l'altro - 10 vetrini ottenuti ciascuno da 24 campioni unici di carcinoma uroteliale (12 PD-L1 ≥ 5% IC e 12 PD-L1 < 5% IC) sono stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay su un solo strumento BenchMark ULTRA in 5 giorni non consecutivi.
- Precisione inter-strumentale e tra lotti - 27 vetrini ottenuti ciascuno da 24 campioni unici di carcinoma uroteliale (12 PD-L1 ≥ 5% IC e 12 PD-L1 < 5% IC) sono stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay utilizzando tre lotti di anticorpo VENTANA PD-L1 (SP142) e tre lotti accoppiati di OptiView DAB IHC Detection Kit e OptiView Amplification Kit, su tre strumenti BenchMark ULTRA.
- Precisione all'interno della piattaforma - 2 vetrini replicati ciascuno da 10 campioni unici di carcinoma uroteliale (3 PD-L1 ≥ 5% IC e 7 PD-L1 < 5% IC) sono stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay su tre strumenti BenchMark ULTRA e tre strumenti BenchMark GX. I tassi di concordanza sono stati calcolati in relazione alla modalità del campione per una piattaforma.

Tutti i vetrini erano in cieco, randomizzati e sono stati valutati utilizzando l'algoritmo di valutazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per il carcinoma uroteliale (Tabella 8). I risultati sono riassunti nella Tabella 9.

Tabella 9. Ripetibilità e precisione intermedia della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni di carcinoma uroteliale.

Parametro di ripetibilità/precisione intermedia	Concordanza % (CI al 95%) ^a
Ripetibilità all'interno dello stesso giorno (in un unico giorno)	PPA: 98.2 (90.4–99.7) NPA: 100.0 (94.4–100.0) OPA: 99.2 (95.4–99.9)

Parametro di ripetibilità/precisione intermedia	Concordanza % (CI al 95%) ^a
Precisione tra un giorno e l'altro (5 giorni non consecutivi)	PPA: 91.8 (85.2–95.6) NPA: 100.0 (97.1–100.0) OPA: 96.3 (93.0–98.0)
Precisione inter-strumentale e tra lotti (3 strumenti, 3 lotti di anticorpi e 3 lotti di kit di rilevazione e kit di amplificazione)	PPA: 99.4 (97.8–99.8) NPA: 99.7 (98.3–99.9) OPA: 99.5 (98.6–99.8)
Precisione all'interno della piattaforma (tre strumenti BenchMark ULTRA)	PPA: 83.3 (60.8–94.2) NPA: 100.0 (91.2–100.0) OPA: 94.8 (85.9–98.2)
Precisione all'interno della piattaforma (tre strumenti BenchMark GX)	PPA: 94.4 (74.2–99.0) NPA: 100.0 (91.4–100.0) OPA: 98.3 (91.0–99.7)

^a CI con il metodo del punteggio di Wilson bilaterale

Concordanza tra piattaforme - carcinoma uroteliale

Vetrini singoli ciascuno da 44 campioni unici di carcinoma uroteliale (22 PD-L1 ≥ 5% IC e 22 PD-L1 < 5% IC) sono stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay su uno strumento BenchMark ULTRA (riferimento) e uno strumento BenchMark GX. Tutti i vetrini erano in cieco, randomizzati e sono stati valutati utilizzando l'algoritmo di valutazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per il carcinoma uroteliale (Tabella 8). I risultati sono riassunti nella Tabella 10.

Tabella 10. Concordanza tra piattaforme della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni di carcinoma uroteliale.

Concordanza tra piattaforme	Concordanza % (CI al 95%) ^a
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 CI con il metodo del punteggio di Wilson bilaterale

Precisione del patologo - carcinoma uroteliale

Per valutare la precisione inter-patologo e intra-patologo, tre patologi hanno esaminato 60 campioni unici di carcinoma uroteliale (30 PD-L1 ≥ 5% IC e 30 PD-L1 < 5% IC) che erano stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. I campioni erano in cieco e sono stati randomizzati prima della valutazione dello stato di PD-L1 utilizzando l'algoritmo di valutazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per il carcinoma uroteliale (Tabella 8). I patologi hanno valutato tutti i campioni due volte, lasciando trascorrere un minimo di due settimane tra le letture. I tassi di concordanza tra i patologi e tra le diverse letture di ciascun patologo sono riassunti nella Tabella 11.

Tabella 11. Precisione inter-patologo e intra-patologo della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni di carcinoma uroteliale.

Precisione del patologo	Concordanza % (CI al 95%)
Precisione inter-patologo (media dei confronti a coppie, patologo con patologo, dalla prima lettura)	APA: 92.7 (85.9–97.6) ANA: 93.9 (88.1–98.1) OPA: 93.3 (87.8–97.8)
Precisione intra-patologo (media dei tassi di concordanza dei tre patologi tra la prima e la seconda lettura)	APA: 93.4 (87.3–97.7) ANA: 94.2 (88.9–98.1) OPA: 93.9 (88.8–97.8)

Studio di riproducibilità inter-laboratorio - carcinoma uroteliale

È stato condotto uno studio di riproducibilità inter-laboratorio per VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per dimostrare la riproducibilità dell'analisi nella determinazione dello stato PD-L1 in campioni di tessuto di carcinoma uroteliale. Ventotto campioni unici di carcinoma uroteliale (14 PD-L1 ≥ 5% IC e 14 PD-L1 < 5% IC) sono stati colorati presso 3 laboratori

esterni in ciascuno di 5 giorni non consecutivi su un periodo di almeno 20 giorni. Prima della colorazione, i vetrini sono stati messi in cieco e randomizzati. Presso ciascun sito, i vetrini colorati sono stati valutati indipendentemente da 2 patologi (operatori). I risultati sono riassunti nella Tabella 12.

Tabella 12. Riproducibilità inter-laboratorio della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni di carcinoma uroteliale.

Riproducibilità inter-laboratorio	Concordanza % (CI al 95%)
Concordanza complessiva (confrontata con un punteggio di consenso, in tutti i siti, i giorni e per tutti i patologi)	PPA: 98.3 (96.6–99.2) ^a NPA: 87.4 (83.8–90.2) ^a OPA: 92.8 (90.9–94.4) ^a
Concordanza inter-sito (media dei confronti a coppie, sito con sito)	APA: 90.7 (81.2–96.3) ANA: 88.3 (78.5–94.9) OPA: 89.6 (82.5–95.5)
Concordanza inter-patologo (media dei confronti a coppie, patologo con patologo, per ciascun sito)	APA: 89.3 (78.1–96.0) ANA: 86.6 (75.1–94.6) OPA: 88.1 (84.6–90.8) ^a

^a CI con il metodo del punteggio di Wilson bilaterale

PRESTAZIONI CLINICHE - CARCINOMA UROTELIALE

Le prestazioni di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay sono state studiate in IMvigor210 (NCT02951767), uno studio di fase II, multicentrico, internazionale, a due coorti, a braccio singolo, disegnato per valutare l'efficacia di TECENTRIQ (atezolizumab) in pazienti con carcinoma uroteliale localmente avanzato o metastatico. La Coorte 1 includeva pazienti con carcinoma uroteliale localmente avanzato o metastatico precedentemente non trattato non idonei o non adatti a ricevere la chemioterapia a base di cisplatino. Nella Coorte 1, 119 pazienti sono stati trattati con TECENTRIQ (atezolizumab) 1200 mg in infusione endovenosa ogni 3 settimane fino a tossicità inaccettabile o progressione della malattia. I campioni di tumore di tutti i pazienti sottoposti a screening per IMvigor210 sono stati valutati prospetticamente utilizzando VENTANA PD-L1 (SP142) Assay presso un laboratorio centrale e i risultati sono stati utilizzati per definire i sottogruppi per le analisi prestabilite. L'efficacia primaria è stata misurata in termini di tasso di risposta obiettiva (ORR) confermato, valutato da una struttura di revisione indipendente (IRF) in base a Response Evaluation Criteria on Solid Tumors (RECIST) v1.1.

L'endpoint primario di efficacia della Coorte 1 di IMvigor210 era l'ORR confermato, valutato da una IRF in base a RECIST v1.1. L'analisi primaria è stata eseguita quando tutti i pazienti avevano almeno 24 settimane di follow-up. La durata mediana del trattamento è stata di 15.0 settimane e la durata mediana del follow-up di sopravvivenza è stata di 8.5 mesi in tutti i pazienti. Sono stati evidenziati ORR clinicamente rilevanti valutati da IRF secondo RECIST v1.1; tuttavia, rispetto a un tasso di risposta di controllo storico prestabilito del 10%, non è stata raggiunta la significatività statistica per l'endpoint primario. Gli ORR confermati secondo la valutazione IRF-RECIST v1.1 erano pari al 21.9% (CI al 95%: 9.3, 40.0) nei pazienti con espressione di PD-L1 ≥ 5%, al 18.8% (CI al 95%: 10.9, 29.0) nei pazienti con espressione di PD-L1 ≥ 1% e al 19.3% (CI al 95%: 12.7, 27.6) in tutti i pazienti. La durata della risposta (DOR) mediana non è stata raggiunta in alcun sottogruppo con espressione di PD-L1 né in tutti i pazienti. Sebbene l'ORR non abbia raggiunto la significatività statistica, i risultati della Coorte 1 dello studio IMvigor210 hanno mostrato risposte clinicamente significative della monoterapia con TECENTRIQ (atezolizumab) indipendentemente dai livelli di espressione di PD-L1, come rilevato da VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Le prestazioni di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay sono oggetto di esame nello studio IMvigor130 (NCT02807636), uno studio randomizzato multicentrico in corso progettato per valutare l'efficacia di TECENTRIQ (atezolizumab) su pazienti con carcinoma uroteliale metastatico precedentemente non trattato che sono idonei alla chemioterapia contenente platino. I bracci dello studio sono tre: TECENTRIQ (atezolizumab) in monoterapia, TECENTRIQ (atezolizumab) con chemioterapia a base di platino (ossia cisplatino o carboplatino con gemcitabina) e sola chemioterapia a base di platino (comparatore). Nello studio sono inclusi pazienti sia idonei che non idonei a ricevere a cisplatino. Gli endpoint di efficacia co-primari per la popolazione intent-to-treat (ITT) sono la sopravvivenza libera da progressione (PFS) valutata dal ricercatore in base ai criteri RECIST v1.1 e la sopravvivenza globale (OS).

I campioni di tumore sono stati valutati prospetticamente utilizzando VENTANA PD-L1 (SP142) Assay presso un laboratorio centrale. Il Comitato indipendente di monitoraggio dei dati (iDMC) dello studio ha condotto una revisione dei dati iniziali riscontrando che i pazienti classificati come aventi un'espressione di PD-L1 < 5% se trattati con TECENTRIQ (atezolizumab) in monoterapia presentavano una sopravvivenza ridotta rispetto a quelli che ricevevano la chemioterapia a base di platino.

In un'analisi esplorativa della OS (CCOD giu 2020) per stato di PD-L1 nei pazienti non idonei al cisplatino in base ai criteri di Galsky, si è osservato un miglioramento della OS nei pazienti con uno stato tumorale di PD-L1 più elevato nel braccio trattato con atezolizumab in monoterapia (Atezo Mono) rispetto al braccio trattato con Placebo + Chemio (Tabella 13). Nel sottogruppo di pazienti non idonei al cisplatino con espressione di PD-L1 < 5%, l'HR non stratificato per il confronto tra Atezo Mono e Placebo + Chemio è stato di 0.60 (CI al 95%: 0.36, 1.01). La stima di Kaplan-Meier della OS mediana è stata di 18.63 mesi (CI al 95%: 14.0, NE) nel braccio Atezo Mono (n = 50) e di 9.95 mesi (CI al 95%: 7.36, 18.1) nel braccio Placebo + Chemio (n = 43). Nel sottogruppo di pazienti non idonei al cisplatino con espressione di PD-L1 < 5%, l'HR non stratificato per il confronto tra Atezo Mono e Placebo + Chemio è stato di 1.15 (CI al 95%: 0.87, 1.52). La stima di Kaplan-Meier della OS mediana è stata di 11.2 mesi (CI al 95%: 6.87, 14.65) nel braccio Atezo Mono (n = 140) e di 11.17 mesi (CI al 95%: 9.89, 14.26) nel braccio Placebo + Chemio (n = 140).

Tabella 13. Riepilogo delle analisi esplorative: sopravvivenza globale in base allo stato PD-L1 tra i pazienti non idonei al cisplatino (secondo i criteri di Galsky).

Sopravvivenza globale (OS)	Atezo Mono	Placebo + Chemio
PD-L1 ≥ 5%	(N = 50)	(N = 43)
Numero di decessi (%)	28 (56.0)	30 (69.8)
Tempo mediano agli eventi, mesi (95% CI) ^{a,b}	18.63 (14.0, NE)	9.95 (7.36, 18.1)
Rapporto di rischio non stratificato (CI al 95%) ^{c,b}	0.60 (0.36, 1.01)	
Valore p ^d	0.0509	
PD-L1 < 5%	(N = 140)	(N = 140)
Numero di decessi (%)	105 (75.0)	96 (68.6)
Tempo mediano agli eventi, mesi (95% CI) ^{a,b}	11.2 (6.87, 14.65)	11.17 (9.89, 14.26)
Rapporto di rischio non stratificato (CI al 95%) ^{c,b}	1.15 (0.87, 1.52)	
Valore p ^d	0.3229	

^a Le sintesi della durata (mediana e percentili) sono stime di Kaplan-Meier.
^b 95% Gli CI per la mediana sono calcolati con il metodo di Brookmeyer e Crowley.
^c I rapporti di rischio sono stati stimati mediante regressione di Cox.
^d I risultati sono mostrati solo a scopo informativo.
 CI = intervallo di confidenza; NE = non valutabile
 CCOD = 14-giu-2020

L'iDMC ha raccomandato di interrompere l'arruolamento di nuovi pazienti con ridotta espressione di PD-L1 nel braccio in monoterapia; tuttavia, non ha raccomandato di apportare altre modifiche allo studio, incluse modifiche alla terapia per i pazienti già randomizzati a e trattati nel braccio in monoterapia.

Lo studio IMvigor130 è attualmente in corso e i risultati di efficacia di TECENTRIQ (atezolizumab) rispetto alla chemioterapia nella popolazione con PD-L1 ≥ 5% IC saranno disponibili in occasione della lettura finale dello studio. L'attuale designazione di companion diagnostic è dovuta al riscontro dell'iDMC menzionato in precedenza, che evidenzia la ridotta sopravvivenza dei pazienti con espressione di PD-L1 < 5% IC trattati con TECENTRIQ (atezolizumab). I risultati presentati in occasione della lettura finale dello studio IMvigor130 saranno valutati per stabilire un eventuale aumento dell'efficacia di

TECENTRIQ (atezolizumab) nella popolazione con PD-L1 ≥ 5% IC e la designazione di companion diagnostic sarà aggiornata di conseguenza.

PRESTAZIONI ANALITICHE - NSCLC

Algoritmo di valutazione - NSCLC

Il tessuto NSCLC deve essere valutato in base all'algoritmo di valutazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per NSCLC fornito nella Tabella 14 e nella Tabella 15. Il campione deve essere considerato caratterizzato da espressione di PD-L1 se presenta ≥ 1% TC o ≥ 1% IC e caratterizzato da un'espressione elevata di PD-L1 se presenta ≥ 50% TC o ≥ 10% IC. Fare riferimento alla guida all'interpretazione (P/N 1015703 e 1015654) per ulteriori informazioni e immagini rappresentative.

Tabella 14. Algoritmo di valutazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per NSCLC ≥ 50% TC o ≥ 10% IC.

FASE 1	Valutazione della colorazione delle cellule tumorali (TC)	Espressione di PD-L1
	Presenza di colorazione di membrana PD-L1 percettibile di qualsiasi intensità in una percentuale di cellule tumorali ≥ 50%	≥ 50% TC
	Assenza di qualsiasi colorazione PD-L1 percettibile OPPURE Presenza di colorazione di membrana PD-L1 percettibile di qualsiasi intensità in una percentuale di cellule tumorali < 50%	Passare alla Fase 2
FASE 2	Valutazione della colorazione delle cellule immunitarie (IC) infiltranti il tumore	Espressione di PD-L1
	Presenza di colorazione PD-L1 percettibile di qualsiasi intensità nelle cellule immunitarie infiltranti il tumore su una percentuale ≥ 10% dell'area tumorale occupata da cellule tumorali, stroma intratumorale associato e stroma peritumorale contiguo	≥ 10% IC
	Assenza di qualsiasi colorazione PD-L1 percettibile OPPURE Presenza di colorazione PD-L1 percettibile di qualsiasi intensità nelle cellule immunitarie infiltranti il tumore su una percentuale < 10% dell'area tumorale occupata da cellule tumorali, stroma intratumorale associato e stroma peritumorale contiguo	< 50% TC e < 10% IC

Tabella 15. Algoritmo di valutazione di VENTANA PD-L1 (SP142) per NSCLC ≥ 1% TC o ≥ 1% IC.

FASE 1	Valutazione della colorazione delle cellule tumorali (TC)	Espressione di PD-L1
	Presenza di colorazione di membrana PD-L1 percettibile di qualsiasi intensità in una percentuale di cellule tumorali ≥ 1%	≥ 1% TC
	Assenza di qualsiasi colorazione PD-L1 percettibile OPPURE Presenza di colorazione di membrana PD-L1 percettibile di qualsiasi intensità in una percentuale di cellule tumorali < 1%	Passare alla Fase 2

FASE 2	Valutazione della colorazione delle cellule immunitarie (IC) infiltranti il tumore	Espressione di PD-L1
	Presenza di colorazione PD-L1 percettibile di qualsiasi intensità nelle cellule immunitarie infiltranti il tumore su una percentuale $\geq 1\%$ dell'area tumorale occupata da cellule tumorali, stroma intratumorale associato e stroma peritumorale contiguo	$\geq 1\%$ IC
	Assenza di qualsiasi colorazione PD-L1 percettibile OPPURE Presenza di colorazione PD-L1 percettibile di qualsiasi intensità nelle cellule immunitarie infiltranti il tumore su una percentuale $< 1\%$ dell'area tumorale occupata da cellule tumorali, stroma intratumorale associato e stroma peritumorale contiguo	$< 1\%$ TC e $< 1\%$ IC

Spessore del tessuto - NSCLC

Lo spessore del tessuto è stato valutato utilizzando campioni NSCLC. Le sezioni duplicate a 3, 4, 5, 6 e 7 μm sono state colorate con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay e valutate per l'espressione di PD-L1 in TC e IC. In totale sono stati valutati 42 campioni NSCLC con un intervallo di espressione di PD-L1 per ciascun livello di IC e TC.

Tutti gli spessori di tessuto hanno evidenziato un'adeguata colorazione specifica per PD-L1 e livelli di fondo accettabili per la colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Nessuna sezione ha presentato una variazione nel livello di espressione di PD-L1 in TC o IC nell'intervallo di spessore testato. Per eseguire la colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay i campioni NSCLC devono essere tagliati a 4 μm .

Ripetibilità e precisione intermedia - NSCLC

Sono stati completati studi della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni NSCLC al fine di dimostrare quanto segue:

- Ripetibilità all'interno dello stesso giorno - 5 vetrini replicati ottenuti da ciascun campione NSCLC sono stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay su un solo strumento BenchMark ULTRA in un unico giorno e valutati per l'espressione di PD-L1 in TC e IC. In totale sono stati valutati 66 campioni NSCLC con un intervallo di espressione di PD-L1 per ciascun livello di TC e IC.
- Precisione tra un giorno e l'altro - 10 vetrini ottenuti da ciascun campione NSCLC sono stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay su un solo strumento BenchMark ULTRA in 5 giorni non consecutivi. In totale sono stati valutati 66 campioni NSCLC con un intervallo di espressione di PD-L1 per ciascun livello di espressione in TC e IC.
- Precisione di strumenti, anticorpi e lotti di kit di rilevazione - almeno 9 vetrini ottenuti da ciascun campione NSCLC sono stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay utilizzando tre lotti di anticorpo VENTANA PD-L1 (SP142) e tre lotti accoppiati di OptiView DAB IHC Detection Kit e OptiView Amplification Kit, su tre strumenti BenchMark ULTRA. In totale sono stati valutati 92 campioni NSCLC con un intervallo di espressione di PD-L1 per ciascun livello di TC e IC.
- Precisione all'interno della piattaforma - 2 vetrini replicati ottenuti da ciascun campione NSCLC sono stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay su tre strumenti BenchMark ULTRA e tre strumenti BenchMark GX. In totale sono stati valutati 38 campioni NSCLC con un intervallo di espressione di PD-L1 per ciascun livello di espressione in TC e IC. I tassi di concordanza sono stati calcolati in relazione alla modalità del campione per ciascuna piattaforma.

Tutti i vetrini erano in cieco e randomizzati e sono stati quindi valutati per il livello di espressione di PD-L1 in TC o IC. I risultati sono riassunti nella Tabella 16, nella Tabella 17, nella Tabella 18 e nella Tabella 19.

Tabella 16. Ripetibilità e precisione intermedia della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni NSCLC (espressione di PD-L1 $\geq 50\%$ TC).

Parametro di ripetibilità/precisione intermedia	Concordanza % (CI al 95%) ^a
Ripetibilità all'interno dello stesso giorno (in un unico giorno), 24 campioni NSCLC	PPA: 100.0 (94.4–100.0) NPA: 100.0 (93.5–100.0) OPA: 100.0 (96.9–100.0)
Precisione tra un giorno e l'altro (5 giorni non consecutivi), 24 campioni NSCLC	PPA: 100.0 (97.1–100.0) NPA: 100.0 (91.2–97.5) OPA: 100.0 (98.4–100.0)
Precisione inter-strumentale e tra lotti (confrontata con la modalità caso-livello, tra strumenti e lotti), 18 campioni NSCLC	PPA: 99.7 (98.1–99.9) NPA: 95.2 (91.2–97.5) OPA: 97.9 (96.2–98.9)
Precisione all'interno della piattaforma (tre strumenti BenchMark ULTRA), 10 campioni NSCLC	PPA: 100.0 (88.6–100.0) NPA: 100.0 (88.6–100.0) OPA: 100.0 (94.0–100.0)
Precisione all'interno della piattaforma (tre strumenti BenchMark GX), 10 campioni NSCLC	PPA: 100.0 (88.6–100.0) NPA: 100.0 (88.6–100.0) OPA: 100.0 (94.0–100.0)

^a CI con il metodo del punteggio di Wilson bilaterale

Tabella 17. Ripetibilità e precisione intermedia della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni NSCLC (espressione di PD-L1 $\geq 10\%$ IC).

Parametro di ripetibilità/precisione intermedia	Concordanza % (CI al 95%)
Ripetibilità all'interno dello stesso giorno (in un unico giorno), 24 campioni NSCLC	PPA: 98.3 (91.1–99.7) ^a NPA: 100.0 (94.0–100.0) ^a OPA: 99.2 (95.4–99.9) ^a
Precisione tra un giorno e l'altro (5 giorni non consecutivi), 24 campioni NSCLC	PPA: 96.2 (91.3–98.3) ^a NPA: 98.2 (93.6–99.5) ^a OPA: 97.1 (94.1–98.6) ^a
Concordanza tra anticorpi e tra rilevazioni (confronto a coppie), 28 campioni NSCLC	APA: 95.1 (91.1–98.1) ANA: 90.2 (82.3–96.2) OPA: 93.4 (88.7–97.5)
Concordanza inter-strumentale e tra lotti di rilevazione (confronto a coppie), 28 campioni NSCLC	APA: 96.3 (93.2–98.8) ANA: 92.7 (86.0–97.7) OPA: 95.1 (91.2–98.4)
Concordanza inter-strumentale e tra anticorpi (confronti a coppie), 28 campioni NSCLC	APA: 96.3 (93.1–98.8) ANA: 92.6 (85.9–97.8) OPA: 95.1 (91.1–98.4)
Precisione all'interno della piattaforma (tre strumenti BenchMark ULTRA), 8 campioni NSCLC	PPA: 100.0 (94.0–100.0) ^a NPA: 100.0 (94.0–100.0) ^a OPA: 100.0 (96.9–100.0) ^a
Precisione all'interno della piattaforma (tre strumenti BenchMark GX), 8 campioni NSCLC	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 CI con il metodo del punteggio di Wilson bilaterale

Tabella 18. Ripetibilità e precisione intermedia della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni NSCLC (espressione di PD-L1 ≥ 1% TC).

Parametro di ripetibilità/precisione intermedia	Concordanza % (CI al 95%) ^a
Ripetibilità all'interno dello stesso giorno (in un unico giorno), 10 campioni NSCLC	PPA: 100.0 (86.7–100.0) NPA: 100.0 (86.7–100.0) OPA: 100.0 (92.9–100.0)
Precisione tra un giorno e l'altro (5 giorni non consecutivi), 10 campioni NSCLC	PPA: 100.0 (92.9–100.0) NPA: 100.0 (92.9–100.0) OPA: 100.0 (96.3–100.0)
Precisione inter-strumento e inter-lotto (rispetto alla modalità caso-livello, tra strumenti e lotti), 18 campioni NSCLC	PPA: 99.2 (97.0–99.8) NPA: 100.0 (98.4–100.0) OPA: 99.6 (98.5–99.9)
Precisione all'interno della piattaforma (tre strumenti BenchMark ULTRA), 12 campioni NSCLC	PPA: 100.0 (86.2–100.0) NPA: 95.8 (86.0–98.8) OPA: 97.2 (90.4–99.2)
Precisione all'interno della piattaforma (tre strumenti BenchMark GX), 12 campioni NSCLC	PPA: 100.0 (86.2–100.0) NPA: 100.0 (92.6–100.0) OPA: 100.0 (94.0–100.0)

^a CI con il metodo del punteggio di Wilson bilaterale

Tabella 19. Ripetibilità e precisione intermedia della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni NSCLC (espressione di PD-L1 ≥ 1% IC).

Parametro di ripetibilità/precisione intermedia	Concordanza % (CI al 95%)
Ripetibilità all'interno dello stesso giorno (in un unico giorno), 8 campioni NSCLC	PPA: 100.0 (91.2–100.0) ^a NPA: 100.0 (91.2–100.0) ^a OPA: 100.0 (95.4–100.0) ^a
Precisione tra un giorno e l'altro (5 giorni non consecutivi), 8 campioni NSCLC	PPA: 100.0 (96.3–100.0) ^a NPA: 97.0 (91.6–99.0) ^a OPA: 98.5 (95.7–99.5) ^a
Concordanza tra anticorpi e tra rilevazioni (confronto a coppie), 28 campioni NSCLC	APA: 98.4 (95.7–100.0) ANA: 98.3 (95.6–100.0) OPA: 98.4 (95.9–100.0)
Concordanza inter-strumentale e tra rilevazioni (confronto a coppie), 28 campioni NSCLC	APA: 98.4 (95.8–100.0) ANA: 98.3 (95.4–100.0) OPA: 98.4 (95.8–100.0)
Concordanza inter-strumentale e tra anticorpi (confronti a coppie), 28 campioni NSCLC	APA: 98.4 (95.9–100.0) ANA: 98.3 (95.5–100.0) OPA: 98.4 (95.8–100.0)
Precisione all'interno della piattaforma (tre strumenti BenchMark ULTRA), 8 campioni NSCLC	PPA: 100.0 (94.0–100.0) ^a NPA: 100.0 (94.0–100.0) ^a OPA: 100.0 (96.9–100.0) ^a
Precisione all'interno della piattaforma (tre strumenti BenchMark GX), 8 campioni NSCLC	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 CI con il metodo del punteggio di Wilson bilaterale

Concordanza tra piattaforme - NSCLC

Singoli vetrini ciascuno da 44 campioni NSCLC per l'espressione di PD-L1 ≥ 50% TC o ≥ 10% IC (21 PD-L1 ≥ 50% TC o ≥ 10% IC e 23 PD-L1 < 50% TC e < 10% IC) e 44 campioni NSCLC per l'espressione di PD-L1 ≥ 1% TC o ≥ 1% IC (23 PD-L1 ≥ 1% TC o ≥ 1% IC e 21 PD-L1 < 1% TC e < 1% IC) sono stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay su uno strumento BenchMark ULTRA (riferimento) e uno strumento BenchMark GX.

Tutti i vetrini sono stati messi in cieco, randomizzati e valutati utilizzando l'algoritmo di valutazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per NSCLC (Tabella 14 per NSCLC ≥ 50% TC o ≥ 10% IC e Tabella 15 per NSCLC ≥ 1% TC o ≥ 1% IC). I risultati sono riassunti nella Tabella 20 e nella Tabella 21.

Tabella 20. Concordanza tra piattaforme della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni NSCLC (espressione di PD-L1 ≥ 50% TC o ≥ 10% IC).

Concordanza tra piattaforme	Concordanza % (CI al 95%) ^a
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 CI con il metodo del punteggio di Wilson bilaterale

Tabella 21. Concordanza tra piattaforme della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni NSCLC (espressione di PD-L1 ≥ 1% TC o ≥ 1% IC).

Concordanza tra piattaforme	Concordanza % (CI al 95%) ^a
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 CI con il metodo del punteggio di Wilson bilaterale

Studio sulla precisione del patologo - NSCLC

Per valutare la precisione inter-patologo e intra-patologo, tre patologi hanno esaminato 80 casi NSCLC unici, entro un intervallo di espressione di PD-L1, che erano stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. I campioni erano in cieco e sono stati randomizzati prima della valutazione dello stato di PD-L1 utilizzando l'algoritmo di valutazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per NSCLC (Tabella 14 per NSCLC ≥ 50% TC o ≥ 10% IC e Tabella 15 per NSCLC ≥ 1% TC o ≥ 1% IC). I patologi hanno valutato tutti i campioni due volte, lasciando trascorrere un minimo di due settimane tra le letture. I tassi di concordanza tra i patologi e tra le diverse letture di ciascun patologo sono riassunti nella Tabella 22 e nella Tabella 23.

Tabella 22. Precisione del patologo della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni NSCLC (espressione di PD-L1 ≥ 50% TC o ≥ 10% IC).

Precisione del patologo	Concordanza % (CI al 95%)
Precisione inter-patologo (media dei confronti a coppie, patologo con patologo, dalla prima lettura)	APA: 88.8 (82.0–94.1) ANA: 89.0 (82.2–94.4) OPA: 88.9 (82.8–94.1)
Precisione intra-patologo (media dei tassi di concordanza dei tre patologi tra la prima e la seconda lettura)	APA: 93.7 (89.9–96.6) ANA: 93.6 (89.8–96.7) OPA: 93.6 (90.3–96.6)

Tabella 23. Precisione del patologo della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni NSCLC (espressione di PD-L1 ≥ 1% TC o ≥ 1% IC).

Precisione del patologo	Concordanza % (CI al 95%)
Precisione inter-patologo (media dei confronti a coppie, patologo con patologo, dalla prima lettura)	APA: 93.7 (88.8–97.3) ANA: 90.7 (83.3–96.2) OPA: 92.5 (87.5–96.7)
Precisione intra-patologo (media dei tassi di concordanza dei tre patologo tra la prima e la seconda lettura)	APA: 95.4 (92.0–98.1) ANA: 93.4 (88.3–97.2) OPA: 94.6 (90.8–97.5)

Studio di riproducibilità inter-laboratorio - NSCLC

È stato condotto uno studio di riproducibilità inter-laboratorio per la colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per dimostrare la riproducibilità dell'analisi nella determinazione dello stato PD-L1 in campioni di tessuto NSCLC. Ventotto campioni NSCLC unici con un intervallo di espressione di PD-L1 sono stati colorati presso 3 laboratori esterni in ciascuno di 5 giorni non consecutivi su un periodo di almeno 20 giorni. Prima della colorazione, i vetrini sono stati messi in cieco e randomizzati. Presso ciascun sito, i vetrini colorati sono stati valutati indipendentemente da 2 patologo (operatori) utilizzando l'algoritmo di valutazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per NSCLC (Tabella 14 per NSCLC ≥ 50% TC o ≥ 10% IC e Tabella 15 per NSCLC ≥ 1% TC o ≥ 1% IC). I risultati sono riassunti nella Tabella 24 e nella Tabella 25.

Tabella 24. Riproducibilità inter-laboratorio della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni NSCLC (espressione di PD-L1 ≥ 50% TC o ≥ 10% IC).

Riproducibilità inter-laboratorio	Concordanza % (CI al 95%)
Concordanza complessiva (confrontata con un punteggio di consenso, in tutti i siti, i giorni e per tutti i patologo)	PPA: 86.6 (83.0–89.5) ^a NPA: 99.8 (98.7–100.0) ^a OPA: 93.2 (91.3–94.7) ^a
Concordanza inter-sito (media dei confronti a coppie, sito con sito)	APA: 89.5 (80.9–95.5) ANA: 92.1 (84.4–97.1) OPA: 91.0 (90.3–91.6) ^a
Concordanza inter-patologo (media dei confronti a coppie, patologo con patologo, per ciascun sito)	APA: 93.9 (89.3–97.4) ANA: 95.4 (90.6–98.2) OPA: 94.7 (92.2–96.5) ^a

^a CI con il metodo del punteggio di Wilson bilaterale

Tabella 25. Riproducibilità inter-laboratorio della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni NSCLC (espressione di PD-L1 ≥ 1% TC o ≥ 1% IC).

Riproducibilità inter-laboratorio	Concordanza % (CI al 95%)
Concordanza complessiva (confrontata con un punteggio di consenso, in tutti i siti, i giorni e per tutti i patologo)	PPA: 97.1 (94.9–98.3) ^a NPA: 89.9 (86.6–92.5) ^a OPA: 93.5 (91.6–95.0) ^a
Concordanza inter-sito (media dei confronti a coppie, sito con sito)	APA: 88.4 (78.9–94.1) ANA: 86.6 (79.6–92.2) OPA: 87.6 (86.8–88.3) ^a
Concordanza inter-patologo (media dei confronti a coppie, patologo con patologo, per ciascun sito)	APA: 89.2 (80.8–94.3) ANA: 87.5 (81.3–92.5) OPA: 88.4 (84.9–91.2) ^a

^a CI con il metodo del punteggio di Wilson bilaterale

PRESTAZIONI CLINICHE - NSCLC ≥ 50% TC O ≥ 10% IC

Le prestazioni di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay sono state esaminate nello studio IMpower110 (NCT02409342), uno studio multicentrico, internazionale, randomizzato, in aperto di fase III condotto su 572 pazienti con NSCLC di stadio IV, inclusi i pazienti affetti da aberrazioni del tumore con profilo genomico EGFR o ALK, che non avevano precedentemente ricevuto chemioterapia per la malattia metastatica. Lo studio è stato progettato per valutare la sicurezza e l'efficacia di TECENTRIQ (atezolizumab) rispetto alla chemioterapia con un agente con platino (cisplatino o carboplatino, a discrezione del ricercatore) in associazione a pemetrexed (malattia non squamosa) o gemcitabina (malattia squamosa).

Lo studio IMpower110 è stato condotto per valutare l'efficacia e la sicurezza di TECENTRIQ (atezolizumab) in pazienti non precedentemente trattati con chemioterapia con NSCLC metastatico. I pazienti presentavano espressione di PD-L1 ≥ 1% TC (colorazione PD-L1 ≥ 1% delle cellule tumorali) o ≥ 1% IC (colorazione PD-L1 delle cellule immunitarie infiltranti il tumore ≥ 1% dell'area tumorale) in base a VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

In totale, 572 pazienti sono stati randomizzati in rapporto 1:1 a ricevere TECENTRIQ (atezolizumab) (Braccio A) o la chemioterapia (Braccio B). TECENTRIQ (atezolizumab) è stato somministrato per infusione endovenosa alla dose fissa di 1200 mg ogni 3 settimane fino alla perdita di beneficio clinico secondo la valutazione del ricercatore o fino a tossicità inaccettabile. La randomizzazione è stata stratificata per sesso, stato di performance ECOG, istologia ed espressione tumorale di PD-L1 su TC e IC.

Le caratteristiche demografiche e le caratteristiche della patologia al basale nei pazienti con espressione di PD-L1 ≥ 1% TC o ≥ 1% IC che non possiedono mutazioni EGFR o riarrangiamenti ALK (n = 554) erano ben bilanciate tra i bracci del trattamento. L'età mediana era di 64.5 anni (intervallo: da 30 a 87) e il 70% dei pazienti era di sesso maschile. I pazienti erano in maggioranza bianchi (84%) e asiatici (14%). La maggior parte dei pazienti era composta da fumatori attuali o ex-fumatori (87%) e lo stato di performance ECOG al basale nei pazienti era 0 (36%) o 1 (64%). Nel complesso, il 69% dei pazienti presentava malattia non squamosa e il 31% dei pazienti presentava malattia squamosa. Le caratteristiche demografiche e le caratteristiche della patologia al basale nei pazienti con espressione elevata di PD-L1 (PD-L1 ≥ 50% TC o ≥ 10% IC) che non possiedono mutazioni EGFR o riarrangiamenti ALK (n = 205) erano generalmente rappresentative della popolazione più ampia dello studio ed erano bilanciate tra i bracci del trattamento.

L'endpoint primario era la sopravvivenza globale (OS). Al momento dell'analisi ad interim della OS, i pazienti con espressione elevata di PD-L1, esclusi quelli con mutazioni EGFR o riarrangiamenti ALK (n = 205), presentavano un miglioramento statisticamente significativo nella OS per i pazienti randomizzati a TECENTRIQ (atezolizumab) (Braccio A) rispetto alla chemioterapia (Braccio B) (HR di 0.59, CI al 95%: 0.40, 0.89; OS mediana di 20.2 mesi rispetto a 13.1 mesi) con un valore p bilaterale di 0.0106. La durata mediana del follow-up di sopravvivenza nei pazienti con espressione elevata di PD-L1 era di 15.7 mesi. I risultati più rilevanti al momento dell'analisi ad interim sono riassunti nella Tabella 26.

Tabella 26. Riepilogo dell'efficacia nei pazienti con espressione elevata di PD-L1 ≥ 50% TC o ≥ 10% IC (IMpower110)

Sopravvivenza globale (OS)	Atezolizumab (N = 107)	Chemioterapia (N = 98)
Numero di decessi (%)	44 (41.1%)	57 (58.2%)
Tempo mediano agli eventi, mesi (CI al 95%)	20.2 (16.5, NE)	13.1 (7.4, 16.5)
Rapporto di rischio stratificato ^a (CI al 95%)	0.59 (0.40, 0.89)	
Valore p ^a	0.0106	
OS a 12 mesi (%)	64.9	50.6

^a Stratificazione per sesso e stato di performance ECOG (0 rispetto a 1)

CI = intervallo di confidenza; NE = non valutabile

CCOD = 10 sett 2018

Le prestazioni di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay sono state esaminate nello studio OAK (NCT02008227), uno studio multicentrico, internazionale, randomizzato, in aperto di fase III progettato per valutare l'efficacia e la sicurezza del trattamento con TECENTRIQ (atezolizumab) in pazienti con NSCLC localmente avanzato o metastatico con progressione della malattia durante o in seguito a un regime contenente platino.

Lo studio OAK ha coinvolto 1.225 pazienti e la popolazione dell'analisi primaria ha riguardato i primi 850 pazienti randomizzati; i pazienti idonei sono stati stratificati per stato di espressione di PD-L1 nelle IC, per numero di regimi chemioterapici precedenti e per istologia. I pazienti sono stati randomizzati (in rapporto 1:1) a ricevere TECENTRIQ (atezolizumab) tramite infusione endovenosa a una dose di 1200 mg ogni 3 settimane fino a tossicità inaccettabile o a progressione radiografica o clinica, oppure docetaxel tramite infusione endovenosa a una dose di 75 mg/m² ogni 3 settimane fino alla perdita di beneficio clinico secondo la valutazione del ricercatore. I campioni di tumore sono stati valutati prospetticamente per l'espressione di PD-L1 su TC e IC utilizzando VENTANA PD-L1 (SP142) Assay e i risultati sono stati utilizzati per definire i sottogruppi dell'espressione di PD-L1 per le analisi prestabilite descritte di seguito.

La principale misura dell'efficacia dello studio OAK è stata la sopravvivenza globale (OS) nella popolazione dell'analisi primaria (primi 850 pazienti randomizzati). I risultati dello studio OAK, con un follow-up mediano di 21 mesi, sono presentati nella Tabella 27.

I campioni di tumore sono stati valutati prospetticamente utilizzando VENTANA PD-L1 (SP142) Assay presso un laboratorio centrale e i risultati sono stati utilizzati per definire i sottogruppi dell'espressione di PD-L1 per le analisi prestabilite. Degli 850 pazienti, il 16% era classificato come avente espressione di PD-L1 elevata, ossia $\geq 50\%$ TC o $\geq 10\%$ IC. In un'analisi esplorativa dei sottogruppi di efficacia dell'OS basata sull'espressione di PD-L1, il rapporto di rischio è risultato pari a 0.41 (CI al 95%: 0.27, 0.64) nel sottogruppo avente espressione elevata di PD-L1 e 0.82 (CI al 95%: 0.68, 0.98) nei pazienti che non presentavano espressione elevata di PD-L1.

Tabella 27. Esiti di efficacia nella popolazione dell'analisi primaria dello studio OAK (NCT02008227).

Sopravvivenza globale (OS)	Atezolizumab (N = 425)	Docetaxel (N = 425)
Decessi (%)	271 (64)	298 (70)
Mediana, mesi (CI al 95%)	13.8 (11.8, 15.7)	9.6 (8.6, 11.2)
Rapporto di rischio ^a (CI al 95%)	0.73 (0.62, 0.87)	
Valore p ^b	0.0003	
OS a 12 mesi (%)	218 (55)	151 (41)
OS a 18 mesi (%)	157 (40)	98 (27)

^a Stratificazione in base all'espressione di PD-L1 nelle cellule immunitarie infiltranti il tumore, al numero di regimi chemioterapici precedenti e all'istologia

^b In base al log-rank test stratificato
CI = intervallo di confidenza

PRESTAZIONI CLINICHE - NSCLC $\geq 1\%$ TC O $\geq 1\%$ IC

Le prestazioni di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay e l'efficacia di TECENTRIQ (atezolizumab) sono state esaminate nello studio IMpower150 (NCT02366143), uno studio multicentrico, internazionale, randomizzato, in aperto in pazienti non precedentemente trattati con chemioterapia con NSCLC non squamoso metastatico. L'obiettivo di IMpower150 era determinare se l'aggiunta di TECENTRIQ (atezolizumab) alla chemioterapia a base di platino [carboplatino più paclitaxel (CP)] con o senza bevacizumab in pazienti non precedentemente trattati con chemioterapia con NSCLC non squamoso di Stadio IV produca miglioramenti statisticamente e clinicamente significativi in termini di PFS e OS.

In totale, 1202 pazienti sono stati arruolati e stratificati per sesso, presenza di metastasi epatiche ed espressione tumorale di PD-L1 su TC e IC. I pazienti sono stati randomizzati (1:1:1) a uno dei seguenti tre bracci di trattamento.

- TECENTRIQ (atezolizumab) 1200 mg con paclitaxel e carboplatino ogni 3 settimane per quattro o sei cicli, seguito da TECENTRIQ (atezolizumab) 1200 mg ogni 3 settimane fino alla perdita di beneficio clinico (Braccio A)

- TECENTRIQ (atezolizumab) 1200 mg con bevacizumab, paclitaxel e carboplatino ogni 3 settimane per quattro o sei cicli, seguito da TECENTRIQ (atezolizumab) 1200 mg fino alla perdita di beneficio clinico e bevacizumab ogni 3 settimane fino alla progressione di malattia o fino a tossicità inaccettabile (Braccio B)
- Bevacizumab con paclitaxel e carboplatino ogni 3 settimane per quattro o sei cicli, seguito da bevacizumab ogni 3 settimane fino alla progressione di malattia o fino a tossicità inaccettabile (Braccio C)

Le caratteristiche demografiche e le caratteristiche della patologia al basale della popolazione oggetto dello studio erano ben bilanciate tra i bracci del trattamento. L'età mediana era di 63 anni (intervallo: da 31 a 90) e il 60% dei pazienti era di sesso maschile. I pazienti erano in maggioranza bianchi (82%). Circa il 10% dei pazienti presentava mutazione EGFR nota, il 4% riarrangiamenti ALK noti, il 14% metastasi epatiche al basale e la maggior parte dei pazienti era composta da fumatori attuali o ex-fumatori (80%). Lo stato di performance ECOG al basale era 0 (43%) o 1 (57%). Il 51% dei tumori dei pazienti presentava un'espressione di PD-L1 $\geq 1\%$ TC o $\geq 1\%$ IC e il 49% dei tumori dei pazienti presentava un'espressione di PD-L1 $< 1\%$ TC e $< 1\%$ IC.

Al momento dell'analisi finale della PFS, i pazienti presentavano un periodo di follow-up mediano di 15.3 mesi. La popolazione intent-to-treat (ITT), inclusi i pazienti con mutazioni EGFR o riarrangiamenti ALK che avrebbero dovuto essere stati precedentemente trattati con inibitori delle tirosin-chinasi, ha presentato un miglioramento clinicamente significativo della PFS nel Braccio B rispetto al Braccio C (HR di 0.61, CI al 95%: 0.52, 0.72; PFS mediana di 8.3 vs. 6.8 mesi).

Al momento dell'analisi ad interim della OS, i pazienti presentavano un periodo di follow-up mediano di 19.7 mesi. I risultati più rilevanti di questa analisi nonché dell'analisi aggiornata della PFS nella popolazione ITT sono riassunti nella Tabella 28. Nella popolazione ITT sono stati osservati miglioramenti clinicamente significativi nella OS, con una OS mediana di 19.8 mesi nel Braccio B (n = 400) ma di 14.9 mesi nel Braccio C (n = 400; HR stratificato = 0.76; CI al 95%: 0.63, 0.93).

In Figura 2 sono riassunti i risultati della OS per il Braccio B rispetto al Braccio C nei sottogruppi ITT e PD-L1. I risultati di PFS per il Braccio B rispetto al Braccio C sono presentati anche in Figura 3.

I dati indicano che tutti i pazienti non precedentemente trattati con chemioterapia con NSCLC non squamoso localmente avanzato o metastatico, indipendentemente dall'espressione di PD-L1, possono trarre beneficio dal trattamento con TECENTRIQ (atezolizumab) in combinazione con la chemioterapia con bevacizumab e sono quindi idonei al trattamento. Questi dati dimostrano inoltre che la somministrazione di TECENTRIQ (atezolizumab) in combinazione con la chemioterapia con bevacizumab in questa popolazione può essere associata a un maggiore beneficio per i pazienti con espressione tumorale di PD-L1 in $\geq 1\%$ TC o $\geq 1\%$ IC determinata mediante VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Il beneficio in termini di OS osservato per il Braccio B rispetto al Braccio C nella popolazione ITT è stato mantenuto nell'analisi successiva (CCOD sett 2019) (Tabella 29), ma non è stato formalmente testato, in conformità alla gerarchia di analisi prestabilita. La differenza nella OS mediana per il Braccio B rispetto al Braccio C nella popolazione ITT alla CCOD sett 2019 è stata di 4.8 mesi, con un HR stratificato di 0.80 (CI al 95%: 0.68, 0.95).

Il beneficio in termini di OS osservato per il Braccio B rispetto al Braccio C nell'analisi successiva (CCOD sett 2019) è stato maggiore nel sottogruppo con espressione di PD-L1 $\geq 1\%$ TC o $\geq 1\%$ IC rispetto al sottogruppo con espressione di PD-L1 $< 1\%$ TC o $< 1\%$ IC (Tabella 29). Nel secondo sottogruppo, la sopravvivenza mediana era aumentata solo di 8.0 mesi nel Braccio B rispetto al Braccio C, con un HR non stratificato di 0.692 (CI al 95%: 0.547, 0.876). Al contrario, nel sottogruppo con espressione di PD-L1 $< 1\%$ TC o $< 1\%$ IC, la sopravvivenza mediana era aumentata solo di 2.6 mesi, con un HR non stratificato di 0.95 (CI al 95%: 0.76, 1.19).

TECENTRIQ (atezolizumab) in combinazione con la chemioterapia con o senza bevacizumab ha continuato a essere ben tollerato e i risultati sulla sicurezza sono stati coerenti con i rischi noti di ciascun trattamento dello studio. Non sono stati rilevati nuovi segnali di sicurezza.

Nel complesso, questi dati dimostrano che l'espressione di PD-L1 in TC o IC, rilevata da VENTANA PD-L1 (SP142) Assay nel NSCLC, può essere associata a un maggiore beneficio per i pazienti con TECENTRIQ (atezolizumab), in combinazione con la chemioterapia con bevacizumab, al cutoff di espressione di PD-L1 $\geq 1\%$ TC o $\geq 1\%$ IC.

Tabella 28. Risultati di efficacia per la popolazione intent-to-treat in IMpower150.

Endpoint di efficacia	Braccio A (atezolizumab + paclitaxel + carboplatino)	Braccio B (atezolizumab + bevacizumab + paclitaxel + carboplatino)	Braccio C (bevacizumab + paclitaxel + carboplatino)
Endpoint secondari^a			
PFS valutata dal ricercatore (RECIST v1.1)⁹	n = 402	n = 400	n = 400
Numero di eventi (%)	330 (82.1)	291 (72.8)	355 (88.8)
Durata mediana della PFS (mesi)	6.7	8.4	6.8
CI al 95%	(5.7, 6.9)	(8.0, 9.9)	(6.0, 7.0)
Rapporto di rischio stratificato ^{e,f} (CI al 95%)	0.91 (0.78, 1.06)	0.59 (0.50, 0.69)	---
Valore p ^{b,c}	0.2194	< 0.0001	
PFS a 12 mesi (%)	24	38	20
Analisi ad interim della OS⁹			
Numero di decessi (%)	206 (51.2)	192 (48.0)	230 (57.5)
Tempo mediano agli eventi (mesi)	19.5	19.8	14.9
CI al 95%	(16.3, 21.3)	(17.4, 24.2)	(13.4, 17.1)
Rapporto di rischio stratificato ^{e,f} (CI al 95%)	0.85 (0.71, 1.03)	0.76 (0.63, 0.93)	---
Valore p ^{b,c}	0.0983	0.006	
OS a 6 mesi (%)	84	85	81
OS a 12 mesi (%)	66	68	61
Migliore risposta globale valutata dal ricercatore^{d,9} (RECIST v1.1)			
N. di rispondenti (%)	163 (40.6)	224 (56.4)	158 (40.2)
CI al 95%	(35.8, 45.6)	(51.4, 61.4)	(35.3, 45.2)
N. di risposta completa (%)	8 (2.0)	11 (2.8)	3 (0.8)
N. di risposta parziale (%)	155 (38.7)	213 (53.7)	155 (39.4)
DOR valutata dal ricercatore⁹ (RECIST v1.1)			
Mediana in mesi	8.3	11.5	6.0
CI al 95%	(7.1, 11.8)	(8.9, 15.7)	(5.5, 6.9)

^a Gli endpoint di efficacia primari erano PFS e OS e sono stati analizzati nella popolazione ITT-nativa (WT), ossia con l'esclusione dei pazienti che presentavano mutazioni EGFR o riarrangiamenti ALK.

^b In base al log-rank test stratificato

^c A fini informativi; nella popolazione ITT, i confronti tra Braccio B e Braccio C così come tra Braccio A e Braccio C non sono stati ancora formalmente testati in conformità alla gerarchia di analisi prestabilita

^d Migliore risposta globale per risposta completa e risposta parziale

^e Stratificazione per sesso, presenza di metastasi epatiche ed espressione tumorale di PD-L1 su TC e IC

^f Il Braccio C è il gruppo di confronto per tutti i rapporti di rischio

⁹ Analisi aggiornata della PFS e analisi ad interim della OS al cutoff clinico del 22 gennaio 2018

PFS = sopravvivenza libera da progressione; RECIST = Response Evaluation Criteria in Solid Tumors v1.1.

CI = intervallo di confidenza; DOR = durata della risposta; OS = sopravvivenza globale.

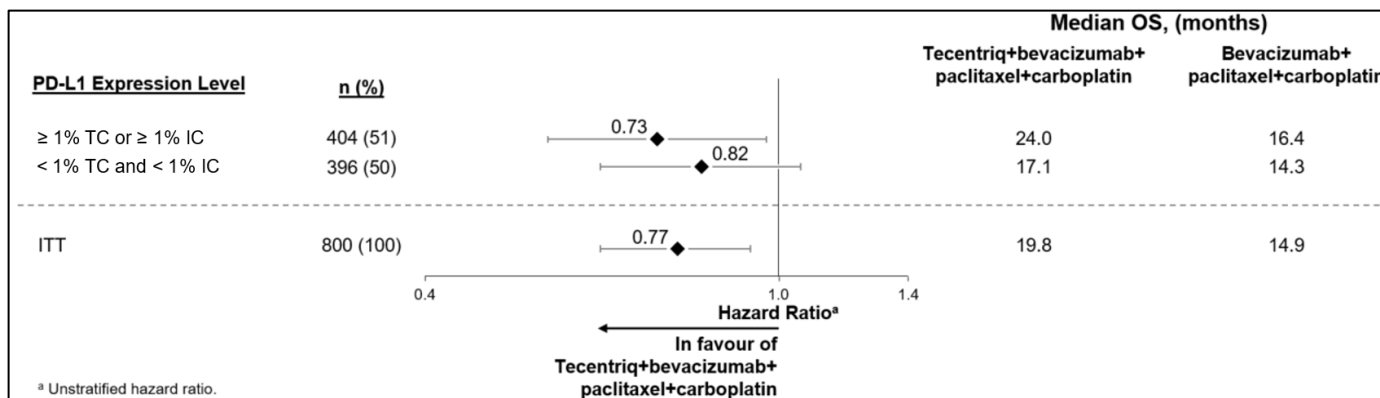


Figura 2. Forest plot della sopravvivenza globale nello studio IMpower150, Braccio B rispetto a C. (CCOD gen 2018)

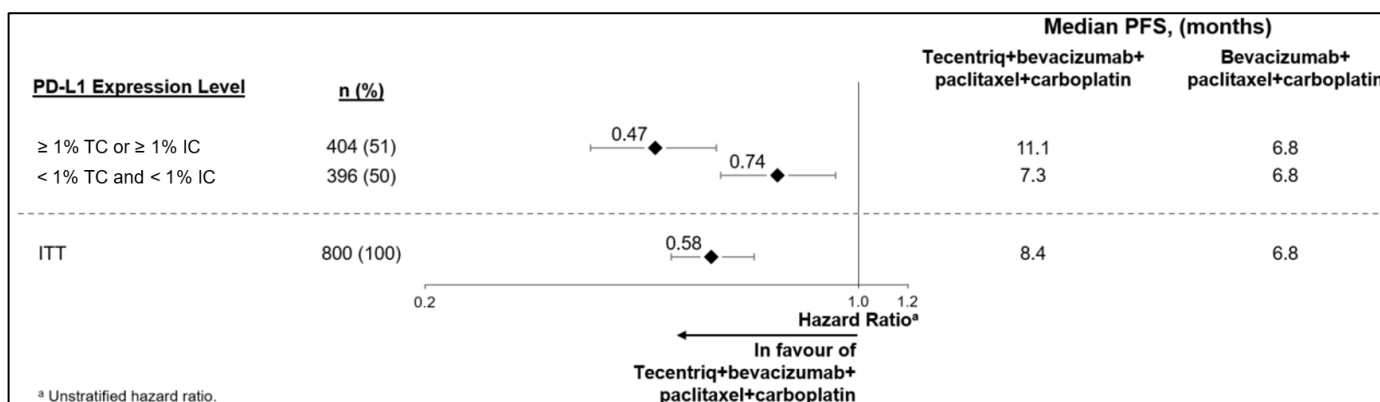


Figura 3. Forest plot della sopravvivenza libera da progressione nello studio IMpower150, Braccio B rispetto a C. (CCOD gen 2018)

Tabella 29. Sopravvivenza globale nella popolazione ITT e nei sottogruppi PD-L1 (CCOD sett 2019).

Sopravvivenza globale (OS) - CCOD sett 2019	Braccio A (atezolizumab + paclitaxel + carboplatino)	Braccio B (atezolizumab + bevacizumab + paclitaxel + carboplatino)	Braccio C (bevacizumab + paclitaxel + carboplatino)
Popolazione ITT^a	n = 402	n = 400	n = 400
Decessi, n (%)	290 (72.1)	284 (71.0)	309 (77.3)
Durata OS mediana, mesi (CI al 95%) ^b	19.0 (16.3, 21.5)	19.8 (18.2, 22.5)	15.0 (13.4, 17.1)
Rapporto di rischio stratificato (95% CI) ^{c,d}	0.86 (0.73, 1.01)	0.80 (0.68, 0.95)	---
Valore p del log-rank test stratificato ^f	0.0681	0.0081	---
Rapporto di rischio non stratificato (CI al 95%) ^c	0.84 (0.72, 0.99)	0.81 (0.69, 0.95)	---
Valore p del log-rank test non stratificato ^e	0.0366	0.0084	---
OS a 6 mesi, tasso di libertà da eventi (%)	83.5	84.8	80.8
OS a 1 anno, tasso di libertà da eventi (%)	65.7	68.0	60.1
OS a 2 anni, tasso di libertà da eventi (%)	41.7	43.4	33.5
Sottogruppo ITT ≥ 1% TC o ≥ 1% IC	n = 213	n = 209	n = 195
Decessi, n (%)	139 (65.3)	131 (62.7)	149 (76.4)
Durata OS mediana, mesi ^b	24.1	24.0	16.0
Rapporto di rischio stratificato (95% CI) ^{c,d}	0.729 (0.578, 0.92)	0.697 (0.55, 0.882)	---

Sopravvivenza globale (OS) - CCOD sett 2019	Braccio A (atezolizumab + paclitaxel + carboplatino)	Braccio B (atezolizumab + bevacizumab + paclitaxel + carboplatino)	Braccio C (bevacizumab + paclitaxel + carboplatino)
Valore -p del log-rank test stratificato ^e	0.0074	0.0026	---
Rapporto di rischio non stratificato (Wald 95% CI) ^c	0.72 (0.57, 0.91)	0.692 (0.547, 0.876)	---
Valore p del log-rank test non stratificato ^e	0.0058	0.0021	---
OS a 6 mesi, tasso di libertà da eventi (%)	86.3	86.3	81.5
OS a 1 anno, tasso di libertà da eventi (%)	70.6	71.2	55.9
OS a 2 anni, tasso di libertà da eventi (%)	50.3	50.5	37.1
Sottogruppo ITT < 1% TC o < 1% IC	n = 188	n = 191	n = 205
Decessi, n (%)	150 (79.8)	153 (80.1)	160 (78.0)
Durata OS mediana, mesi (CI al 95%) ^b	15.3 (13.1, 18.7)	17.0 (14.1, 19.8)	14.4 (13.4, 17.1)
Rapporto di rischio stratificato (95% CI) ^{c,d}	1.00 (0.80, 1.25)	0.94 (0.75, 1.17)	---
Valore -p del log-rank test stratificato ^e	0.9849	0.5670	---
Rapporto di rischio non stratificato (CI al 95%) ^c	1.00 (0.80, 1.26)	0.95 (0.76, 1.19)	---
Valore p del log-rank test non stratificato ^e	0.9739	0.6628	---
OS a 6 mesi, tasso di libertà da eventi (%)	80.2	83.2	80.2
OS a 1 anno, tasso di libertà da eventi (%)	60.4	64.6	64.1
OS a 2 anni, tasso di libertà da eventi (%)	32.2	35.8	30.0

^a La popolazione Intent-to-Treat (ITT) comprende tutti i pazienti randomizzati allo studio GO29436 (che abbiano ricevuto o meno il trattamento dello studio).

^b I risultati del tempo all'evento (mediana, percentili) sono stime di Kaplan-Meier. CI al 95% per la mediana sono calcolati con il metodo di Brookmeyer e Crowley.

^c Il Braccio C è il gruppo di confronto per tutti i rapporti di rischio

^d Stratificazione per sesso, presenza di metastasi epatiche ed espressione tumorale di PD-L1 su TC e IC.

^e I risultati sono mostrati solo a scopo informativo.

CCOD = data del cutoff dei dati clinici; ITT = Intent-to-treat

PRESTAZIONI ANALITICHE - TNBC

Algoritmo di valutazione - TNBC

Il tessuto TNBC deve essere valutato in base all'algoritmo di valutazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per TNBC fornito nella Tabella 30. Fare riferimento alla guida all'interpretazione (P/N 1018231) per ulteriori informazioni e immagini rappresentative.

Tabella 30. Algoritmo di valutazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per TNBC.

Valutazione della colorazione delle cellule immunitarie (IC) ^a	Espressione di PD-L1
Assenza di qualsiasi colorazione PD-L1 percettibile OPPURE Presenza di colorazione PD-L1 percettibile di qualsiasi intensità nelle cellule immunitarie infiltranti il tumore su una percentuale < 1% dell'area tumorale occupata da cellule tumorali, stroma intratumorale associato e stroma peritumorale contiguo	< 1% IC
Presenza di colorazione PD-L1 percettibile di qualsiasi intensità nelle cellule immunitarie infiltranti il tumore su una percentuale ≥ 1% dell'area tumorale occupata da cellule tumorali, stroma intratumorale associato e stroma peritumorale contiguo	≥ 1% IC

^a La colorazione PD-L1 nelle cellule tumorali non deve essere inclusa nella determinazione della valutazione del tessuto TNBC del paziente.

Spessore del tessuto - TNBC

Lo spessore del tessuto è stato valutato utilizzando 10 campioni TNBC unici (5 PD-L1 ≥ 1% IC e 5 PD-L1 < 1% IC). Per ciascun caso sono state testate sezioni duplicate a 2, 3, 4, 5, 6 e 7 micron. Tutti gli spessori di tessuto hanno evidenziato un'adeguata colorazione specifica per PD-L1 e livelli di fondo accettabili per la colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Nessuna sezione ha presentato una variazione nello stato PD-L1 nell'intervallo di spessore testato. Per eseguire la colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay i campioni devono essere tagliati a 4 µm.

Ripetibilità e precisione intermedia - TNBC

Sono stati completati studi della colorazione con VENTANA PD-L1 Assay di campioni TNBC al fine di dimostrare quanto segue:

- Ripetibilità all'interno dello stesso giorno - 5 vetrini replicati ciascuno da 24 campioni unici TNBC (12 PD-L1 ≥ 1% IC e 12 PD-L1 < 1% IC) sono stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay su un solo strumento BenchMark ULTRA in un unico giorno.
- Precisione tra un giorno e l'altro - 10 vetrini ottenuti ciascuno da 24 campioni unici di TNBC (12 PD-L1 ≥ 1% IC e 12 PD-L1 < 1% IC) sono stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay su un solo strumento BenchMark ULTRA in 5 giorni non consecutivi.
- Precisione inter-strumentale e tra lotti - 27 vetrini ottenuti ciascuno da 24 campioni unici di TNBC (12 PD-L1 ≥ 1% IC e 12 PD-L1 < 1% IC) sono stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay utilizzando tre lotti di anticorpo VENTANA PD-L1 (SP142) e tre lotti accoppiati di OptiView DAB IHC Detection Kit e OptiView Amplification Kit, su tre strumenti BenchMark ULTRA.

- Precisione all'interno della piattaforma - 2 vetrini replicati ciascuno da 10 campioni di TNBC (5 PD-L1 \geq 1% IC e 5 PD-L1 < 1% IC) sono stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay su tre strumenti BenchMark ULTRA e tre strumenti BenchMark GX. I tassi di concordanza sono stati calcolati in relazione alla modalità del campione per ciascuna piattaforma.

Tutti i vetrini erano in cieco, randomizzati e sono stati valutati utilizzando l'algoritmo di valutazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per il TNBC (Tabella 30). I risultati sono riassunti nella Tabella 31.

Tabella 31. Ripetibilità e precisione intermedia della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni TNBC.

Parametro di ripetibilità/precisione intermedia	Concordanza % (CI al 95%)
Ripetibilità all'interno dello stesso giorno (in un unico giorno)	PPA: 100.0 (94.0–100.0) NPA: 95.0 (87.2–100.0) OPA: 97.5 (93.3–100.0)
Precisione tra un giorno e l'altro (5 giorni non consecutivi)	PPA: 100.0 (96.9–100.0) NPA: 96.7 (92.7–100.0) OPA: 98.3 (96.3–100.0)
Precisione inter-strumentale e tra lotti (3 strumenti, 3 lotti di anticorpi e 3 lotti di kit di rilevazione e kit di amplificazione)	PPA: 98.3 (96.0–100.0) NPA: 99.2 (97.2–100.0) OPA: 98.6 (97.1–99.8)
Precisione all'interno della piattaforma (tre strumenti BenchMark ULTRA)	PPA: 100.0 (88.6–100.0) NPA: 96.7 (88.9–100.0) OPA: 98.3 (95.0–100.0)
Precisione all'interno della piattaforma (tre strumenti BenchMark GX)	PPA: 93.3 (83.3–100.0) NPA: 96.7 (88.9–100.0) OPA: 95.0 (90.0–100.0)

Concordanza tra piattaforme - TNBC

Vetrini singoli ciascuno da 44 campioni unici di TNBC (22 PD-L1 \geq 1% IC e 22 PD-L1 < 1% IC) sono stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay su uno strumento BenchMark ULTRA (riferimento) e uno strumento BenchMark GX. Tutti i vetrini erano in cieco, randomizzati e sono stati valutati utilizzando l'algoritmo di valutazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per il TNBC (Tabella 30). I risultati sono riassunti nella Tabella 32.

Tabella 32. Concordanza tra piattaforme della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni TNBC.

Concordanza tra piattaforme	Concordanza % (CI al 95%) ^a
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 CI con il metodo del punteggio di Wilson bilaterale

Precisione del patologo - TNBC

Per valutare la precisione inter-patologo e intra-patologo, tre patologi hanno esaminato 60 campioni TNBC unici (30 PD-L1 \geq 1% IC e 30 PD-L1 < 1% IC) che erano stati colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. I campioni erano in cieco e sono stati randomizzati prima della valutazione dello stato di PD-L1 utilizzando l'algoritmo di valutazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per il TNBC (Tabella 30). I patologi hanno valutato tutti i campioni due volte, lasciando trascorrere un minimo di due settimane tra le letture. I tassi di concordanza tra i patologi e tra le diverse letture di ciascun patologo sono riassunti nella Tabella 33.

Tabella 33. Precisione inter- e intra-patologo della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni TNBC.

Precisione del patologo	Concordanza % (CI al 95%)
Precisione inter-patologo (media dei confronti a coppie, patologo con patologo, dalla prima lettura)	APA: 91.1 (84.2–96.6) ANA: 91.1 (84.1–96.7) OPA: 91.1 (85.6–96.7)
Precisione intra-patologo (media dei tassi di concordanza dei tre patologi tra la prima e la seconda lettura)	APA: 93.8 (89.5–97.1) ANA: 93.9 (89.2–97.3) OPA: 93.9 (89.9–97.2)

Studio di riproducibilità inter-laboratorio - TNBC

È stato condotto uno studio di riproducibilità inter-laboratorio per VENTANA PD-L1 (SP142) Assay per dimostrare la riproducibilità dell'analisi nella determinazione dello stato PD-L1 in campioni TNBC. Ventotto campioni TNBC unici (14 PD-L1 \geq 1% IC e 14 PD-L1 < 1% IC) sono stati colorati presso 3 laboratori esterni in ciascuno di 5 giorni non consecutivi su un periodo di almeno 20 giorni. Prima della colorazione, i vetrini sono stati messi in cieco e randomizzati. Presso ciascun sito, i vetrini colorati sono stati valutati indipendentemente da 2 patologi (operatori). In questo studio il tasso di accettabilità finale della colorazione per VENTANA PD-L1 (SP142) Assay è risultato pari a 98.6%. I risultati sono riassunti nella Tabella 34.

Tabella 34. Riproducibilità inter-laboratorio della colorazione con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay di campioni TNBC.

Riproducibilità inter-laboratorio	Concordanza % (CI al 95%)
Concordanza complessiva (confrontata con un punteggio di consenso, in tutti i siti, i giorni e per tutti i patologi)	PPA: 93.2 (90.4–95.2) ^a NPA: 96.6 (94.4–98.0) ^a OPA: 94.8 (93.1–96.1) ^a
Concordanza inter-sito (media dei confronti a coppie, sito con sito)	APA: 91.5 (84.0–96.6) ANA: 91.3 (83.6–96.4) OPA: 91.4 (90.7–92.0) ^a
Concordanza inter-patologo (media dei confronti a coppie, patologo con patologo, per ciascun sito)	APA: 93.6 (88.2–97.0) ANA: 93.3 (87.8–96.7) OPA: 93.4 (90.6–95.4) ^a

^a CI con il metodo del punteggio di Wilson bilaterale

PRESTAZIONI CLINICHE - TNBC

Le prestazioni di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay sono state esaminate nello studio IMpassion130 (NCT02425891), uno studio multicentrico, internazionale, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, a due bracci di fase III condotto per valutare l'efficacia e la sicurezza di TECENTRIQ (atezolizumab) in combinazione con nab-paclitaxel in pazienti con TNBC non resecabile localmente avanzato o metastatico che non avevano ricevuto una precedente chemioterapia per la malattia metastatica.

IMpassion130 ha arruolato 902 pazienti; i pazienti idonei sono stati stratificati per la presenza di metastasi epatiche, trattamento precedente con taxano e per lo stato di espressione di PD-L1 nelle IC (IC < 1% dell'area tumorale rispetto a \geq 1% dell'area tumorale) valutato da VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. I pazienti sono stati randomizzati a ricevere TECENTRIQ (atezolizumab) (840 mg) o placebo tramite infusioni endovenose i giorni 1 e 15 di ogni ciclo da 28 giorni, più nab-paclitaxel (100 mg/m²) somministrato tramite infusioni endovenose i giorni 1, 8 e 15 di ogni ciclo da 28 giorni. I pazienti sono stati trattati fino a progressione di malattia radiografica secondo RECIST v1.1 o a tossicità inaccettabile.

Le caratteristiche demografiche e le caratteristiche della patologia al basale della popolazione oggetto dello studio erano ben bilanciate tra i bracci del trattamento. I pazienti erano in maggioranza donne (99.6%), il 67.5% erano bianchi e il 17.8% asiatici. L'età mediana era di 55 anni (intervallo: 20–86). Lo stato di performance ECOG al basale era 0 (58.4%) o 1 (41.3%). Complessivamente, il 41% dei pazienti arruolati presentava un'espressione di PD-L1 \geq 1% IC, il 27% aveva metastasi epatiche e il 7% metastasi

cerebrali asintomatiche al basale. Circa la metà dei pazienti aveva ricevuto un taxano (51%) o antraciclina (54%) con la terapia (neo)adiuvante. Le caratteristiche demografiche dei pazienti e la patologia tumorale al basale nei pazienti con espressione di PD-L1 ≥ 1% IC erano generalmente rappresentative della popolazione più ampia dello studio.

Gli endpoint di efficacia co-primari includevano la sopravvivenza libera da progressione (PFS) valutata dal ricercatore nella popolazione ITT e in pazienti con espressione di PD-L1 ≥ 1% IC secondo RECIST v1.1 così come la sopravvivenza globale (OS) nella popolazione ITT e in pazienti con espressione di PD-L1 ≥ 1% IC. Gli endpoint di efficacia secondari includevano il tasso di risposta obiettiva (ORR) e la durata della risposta (DOR) secondo RECIST v1.1.

I risultati di PFS, ORR e DOR dello studio IMpassion130 per i pazienti con espressione di PD-L1 ≥ 1% CI al momento dell'analisi finale per la PFS con un follow-up di sopravvivenza mediano di 13 mesi sono riassunti nella Tabella 35. I pazienti con espressione di PD-L1 < 1% IC non hanno mostrato un miglioramento della PFS in seguito all'aggiunta di TECENTRIQ (atezolizumab) a nab-paclitaxel (HR di 0.94, CI al 95% 0.78, 1.13).

È stata eseguita un'analisi della OS aggiornata con un follow-up mediano di 18 mesi; i risultati relativi alla OS sono presentati nella Tabella 35. I pazienti con espressione di PD-L1 < 1% IC non hanno mostrato un miglioramento della OS in seguito all'aggiunta di TECENTRIQ (atezolizumab) a nab-paclitaxel (HR di 0.97, CI al 95% 0.78, 1.20). Al momento dell'analisi della OS aggiornata, è stata eseguita un'analisi della PFS esplorativa così come riportato nella Tabella 35.

Tabella 35. Risultati di efficacia dallo studio IMpassion130 in pazienti con espressione di PD-L1 ≥ 1% IC.

Endpoint di efficacia principali	Atezolizumab + nab-paclitaxel	Placebo + nab-paclitaxel
Endpoint di efficacia primari	n = 185	n = 184
PFS valutata dal ricercatore (RECIST v1.1)^c		
Numero di eventi (%)	138 (74.6)	157 (85.3)
Durata mediana della PFS (mesi)	7.5	5.0
CI al 95%	(6.7, 9.2)	(3.8, 5.6)
Rapporto di rischio stratificato ^e (CI al 95%)	0.62 (0.49, 0.78)	
Valore p ^a	< 0.0001	
PFS a 12 mesi (%)	29.1	16.4
PFS valutata dal ricercatore (RECIST v1.1) - analisi esplorativa aggiornata^d		
Numero di eventi (%)	149 (80.5%)	163 (88.6%)
Durata mediana della PFS (mesi)	7.5	5.3
CI al 95%	(6.7, 9.2)	(3.8, 5.6)
Rapporto di rischio stratificato ^e (CI al 95%)	0.63 (0.50–0.80)	
Valore p ^a	< 0.0001	
PFS a 12 mesi (%)	30.3	17.3
OS^{a,b,d}		
Numero di decessi (%)	94 (50.8)	110 (59.8)
Tempo mediano agli eventi (mesi)	25.0	18.0
CI al 95%	(19.55, 30.65)	(13.63, 20.07)
Rapporto di rischio stratificato ^e (CI al 95%)	0.71 (0.54, 0.93)	
Endpoint secondari ed esplorativi		
ORR valutato dal ricercatore (RECIST v1.1)^c	n = 185	n = 183
N. di rispondenti (%)	109 (58.9)	78 (42.6)
CI al 95%	(51.5, 66.1)	(35.4, 50.1)

Endpoint di efficacia principali	Atezolizumab + nab-paclitaxel	Placebo + nab-paclitaxel
N. di risposta completa (%)	19 (10.3)	2 (1.1%)
N. di risposta parziale (%)	90 (48.6)	76 (41.5)
N. di malattia stabile	38 (20.5)	49 (26.8)
DOR valutata dal ricercatore^c	n = 109	n = 78
Mediana in mesi	8.5	5.5
CI al 95%	(7.3, 9.7)	(3.7, 7.1)

^a In base al log-rank test stratificato.

^b I confronti della OS tra i bracci di trattamento in pazienti con espressione di PD-L1 ≥ 1% non sono stati formalmente testati, in conformità alla gerarchia di analisi prestabilita.

^c All'analisi finale per PFS, ORR, DOR e alla prima analisi ad interim per OS al cutoff clinico del 17 aprile 2018

^d Alla seconda analisi ad interim per OS e all'analisi PFS esplorativa al cutoff clinico del 2 gennaio 2019

^e Stratificazione in base alla presenza di metastasi epatiche e al trattamento precedente con taxano.

PFS = sopravvivenza libera da progressione; RECIST = Response Evaluation Criteria in Solid Tumors v1.1.; CI = intervallo di confidenza; ORR = tasso di risposta obiettiva; DOR = durata della risposta; OS = sopravvivenza globale; NE = non valutabile

PRESTAZIONI DI VENTANA PD-L1 (SP142) ASSAY SULLO STRUMENTO BENCHMARK ULTRA PLUS

Concordanza tra strumenti BenchMark ULTRA PLUS e BenchMark ULTRA per carcinoma uroteliale, NSCLC e TNBC

Tre laboratori di istituzioni distinte degli Stati Uniti hanno partecipato a uno studio di concordanza tra lo strumento BenchMark ULTRA PLUS e lo strumento BenchMark ULTRA. Vi erano 135 campioni unici di carcinoma uroteliale, NSCLC e TNBC (45 campioni per indicazione) che rappresentavano l'intervallo di colorazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, con una distribuzione approssimativamente uguale tra campioni positivi per PD-L1 e negativi per PD-L1 per ciascuna indicazione. I vetrini con tessuto di tutti i campioni sono stati colorati con H&E e VENTANA PD-L1 (SP142) Assay su uno strumento BenchMark ULTRA usando il protocollo di colorazione raccomandato. Vetrini di tessuto non colorati da tutti i campioni sono stati randomizzati e distribuiti in pari misura (45 campioni per sito in modo tale che ciascun sito ricevesse un campione rappresentativo dei campioni dello studio) per la colorazione su uno strumento BenchMark ULTRA PLUS utilizzando il protocollo di colorazione consigliato per VENTANA PD-L1 (SP142). Due patologi per sito, in cieco rispetto allo stato dei campioni, hanno valutato i vetrini colorati sullo strumento BenchMark ULTRA PLUS corrispondente e hanno determinato lo stato di PD-L1. Trascorso un periodo di due settimane per evitare il bias da rievocazione, i vetrini dei campioni corrispondenti, precedentemente colorati presso Roche sullo strumento BenchMark ULTRA, sono stati distribuiti ai centri pertinenti per la valutazione clinica. Inoltre, un patologo ha rivisto tutti i vetrini dello studio ed è stato incluso come terzo patologo per ciascuno dei centri. I risultati sono stati analizzati da Roche. I tassi OPA, PPA ed NPA sono risultati pari rispettivamente a 91.6% (359/392), 90.3% (176/195) e 92.9% (183/197). I risultati sono riassunti nella Tabella 36.

Tabella 36. Concordanza riunita dello stato PD-L1 per i campioni di carcinoma uroteliale, NSCLC e TNBC colorati con VENTANA PD-L1 (SP142) Assay sullo strumento BenchMark ULTRA PLUS rispetto a BenchMark ULTRA.

Stato di PD-L1 su BenchMark ULTRA PLUS	Stato di PD-L1 su BenchMark ULTRA		Totale
	Positivo	Negativo	
Positivo	176	14	190
Negativo	19	183	202
Totale	195	197	392

Stato di PD-L1 su BenchMark ULTRA PLUS	Stato di PD-L1 su BenchMark ULTRA		Totale
	Positivo	Negativo	
	n/N	% (CI al 95%)	
PPA	176/195	90.3 (85.2, 94.7)	
NPA	183/197	92.9 (89.0, 96.2)	
OPA	359/392	91.6 (88.4, 94.6)	

Nota: gli CI al 95% bilaterali sono stati calcolati usando il metodo bootstrap a percentili con 2000 replicati selezionati in base alla stratificazione mediante lo stato di qualifica clinica di PD-L1 (positivo, negativo, borderline) e all'indicazione.

Studio di riproducibilità inter-laboratorio dello strumento BenchMark ULTRA PLUS con carcinoma uroteliale, NSCLC e TNBC

È stato condotto uno studio di riproducibilità inter-laboratorio (ILR) per valutare la riproducibilità di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay nella determinazione dello stato PD-L1 in tessuti di carcinoma uroteliale, NSCLC e TNBC colorati sullo strumento BenchMark ULTRA PLUS in abbinamento a OptiView DAB IHC Detection Kit e OptiView Amplification Kit.

Quarantadue campioni unici di carcinoma uroteliale, NSCLC e TNBC (14 campioni per indicazione), che rappresentavano l'intervallo di colorazione di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, sono stati usati con una distribuzione approssimativamente uguale tra campioni positivi per PD-L1 e negativi per PD-L1 per ciascuna indicazione.

Sono state tagliate diverse sezioni di tessuto per ciascun campione, fornite a 3 centri di studio esterni. Tutti i 42 campioni sono stati colorati su uno strumento BenchMark ULTRA PLUS in ciascuno di 5 giorni non consecutivi in un periodo di almeno 20 giorni presso ciascun centro. I campioni erano randomizzati e sono stati valutati da un totale di 6 patologi (2 patologi/sito).

I risultati sono riassunti nella Tabella 37 e nella Tabella 38. I dati sono stati analizzati relativamente ad PPA, NPA e OPA nella Tabella 37 e ad APA, ANA e OPA nella Tabella 38 su tutte le osservazioni. Per ciascun campione, tutte le osservazioni valutabili (positive o negative) sono state confrontate con il risultato modale di ciascun campione. Tali confronti sono stati riuniti tra centri e giorni e i risultati sono stati quindi aggregati tra i campioni.

Tabella 37. ILR: tassi di concordanza con lo stato modale sullo strumento BenchMark ULTRA PLUS per carcinoma uroteliale, NSCLC e TNBC

Riproducibilità inter-laboratorio	Concordanza			
	Tipo	n/N	%	CI al 95%
Complessiva	PPA	571/629	90.8	(85.8, 95.7)
	NPA	595/630	94.4	(90.7, 98.8)
	OPA	1166/1259	92.6	(89.8, 95.3)
Intra-centro (3 centri)	PPA	586/629	93.2	(89.4, 96.6)
	NPA	610/630	96.8	(95.3, 98.5)
	OPA	1196/1259	95.0	(93.2, 96.6)
Intra-patologo	PPA	589/614	95.9	(94.3, 97.4)
	NPA	628/645	97.4	(96.1, 98.7)
	OPA	1217/1259	96.7	(95.5, 97.7)

Nota: gli CI al 95% bilaterali sono stati calcolati usando il metodo bootstrap a percentili con 2000 replicati stratificati sia in base alle indicazioni (carcinoma uroteliale, NSCLC, TNBC) sia in base ai gruppi di screening (positivo, negativo, borderline).

Tabella 38. ILR: tassi di concordanza a coppie sullo strumento BenchMark ULTRA PLUS per carcinoma uroteliale, NSCLC e TNBC

Riproducibilità inter-laboratorio	Concordanza			
	Tipo	n/N	%	CI al 95%
Tra centri (3 centri)	APA	10640/12108	87.9	(82.5, 92.4)
	ANA	11584/13052	88.8	(85.4, 92.2)
	OPA	11112/12580	88.3	(84.1, 92.2)
Tra patologi	APA	550/605	90.9	(86.9, 94.1)
	ANA	598/653	91.6	(89.1, 93.9)
	OPA	574/629	91.3	(88.2, 94.0)
Tra giorni (5 giorni non consecutivi)	APA	2280/2420	94.2	(92.0, 96.0)
	ANA	2472/2612	94.6	(92.9, 96.1)
	OPA	2376/2516	94.4	(92.6, 96.0)

Nota: gli CI al 95% bilaterali sono stati calcolati usando il metodo bootstrap a percentili con 2000 replicati stratificati sia in base alle indicazioni (carcinoma uroteliale, NSCLC, TNBC) sia in base ai gruppi di screening (positivo, negativo, borderline).

BIBLIOGRAFIA

- 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.
- 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.
- 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.
- Bellmunt J, Mulane 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Carson FL, Cappellano C. *Histotechnology; A Self-Instructional Text*, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
- Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances*. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- 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.

15. Anatomic Pathology Checklist. College of American Pathologists. Jul 28, 2015.
16. CLSI. Quality assurance for design control and implementation of immunohistochemistry assay: approved guidelines. 2nd edition Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011.

NOTA: nel presente documento si utilizza sempre un punto come separatore decimale per separare la parte intera di un numero decimale da quella frazionaria. I separatori per le migliaia non sono utilizzati.

Un riepilogo dei dati su sicurezza e prestazioni è disponibile qui:

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

Simboli

Ventana usa i seguenti simboli e segni in aggiunta a quelli elencati nello standard ISO 15223-1 (per gli USA: visitare il sito elabdoc.roche.com/symbols per maggiori informazioni).



Global Trade Item Number (numero prodotto globale)

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Rev	Aggiornamenti
D	Correzioni alla sezione Prestazioni di VENTANA PD-L1 (SP142) Assay sullo strumento BenchMark ULTRA PLUS. Rimozione di strumento BenchMark XT. Aggiornato all'attuale modello.

PROPRIETÀ INTELLETTUALE

VENTANA, BENCHMARK e OPTIVIEW sono marchi commerciali di Roche. Tutti gli altri nomi di prodotto e marchi commerciali sono di proprietà dei rispettivi titolari.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMAZIONI DI CONTATTO



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

