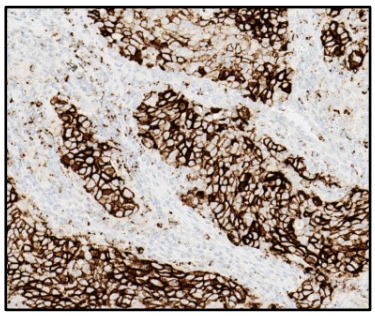
VENTANA PD-L1 (SP142) Assay

REF 741-4860

08008540001

IVD Σ 50



Obrázek 1. PD-L1 exprese na nemalobuněčném karcinomu plic.

URČENÉ POUŽITÍ

Test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay je určen pro imunohistochemické vyhodnocení proteinu ligandu programované smrti 1 (PD-L1) v nádorových buňkách a imunitních buňkách infiltrujících nádory v nádorových tkáních (uvedených níže) fixovaných formalínem a zalitých v parafínu (FFPE), které se barví pomocí detekční soupravy OptiView DAB IHC Detection Kit a amplifikační soupravy OptiView Amplification Kit na přístroji BenchMark IHC/ISH.

Určení stavu PD-L1 se odvíjí od indikací a vyhodnocení se zakládá buď na procentuální oblasti nádoru, ve které se nacházejí tumor infiltrující buňky imunitního systému exprimující PD-L1 (% IC) o jakékoliv intenzitě nebo na procentu nádorových buněk exprimujících PD-L1 (% TC) o jakékoliv intenzitě.

Test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay se indikuje jako pomůcka při identifikaci pacientů pro léčby, které uvádí Tabulka 1, při příslušných indikacích a mezních hodnotách v souladu se schváleným značením terapeutického produktu.

Test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay může mít souvislost s lepšími výsledky pacientů při terapiích, které uvádí Tabulka 2, při příslušných indikacích a mezních hodnotách v souladu se schváleným značením terapeutického produktu.

Tabulka 1. Doprovodné diagnostické indikace testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Indikace použití	Léčba	Mezní hodnota
Uroteliální karcinom	TECENTRIQ	≥ 5 % IC
Triple negativní karcinom prsu (TNBC)	TECENTRIQ	≥ 1 % IC

Tabulka 2. Doplňková diagnostická indikace testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Indikace použití	Léčba	Mezní hodnota
Nemalobuněčný karcinom plic (NSCLC)	TECENTRIQ	≥ 50 % TC nebo ≥ 10 % IC
		≥ 1 % TC nebo ≥ 1 % IC

Výsledky testu provedeného tímto produktem musí interpretovat kvalifikovaný patolog v kombinaci s histologickým vyšetřením, relevantními klinickými informacemi a správnými kontrolami.

Produkt je určený pro diagnostiku *in vitro* (IVD).

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay je imunohistochemický test využívající králičí monoklonální primární protilátku anti-PD-L1 pro rozpoznání proteinu PD-L1. Tento test společně vyvinuly společnosti Roche/Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana) a Roche/Genentech pro identifikaci pacientů, u nichž je nejpravděpodobnější reakce na léčbu přípravkem TECENTRIQ®.

PD-L1 je transmembránový protein, který reguluje imunitní odpověď pomocí vazby na své dva receptory programované smrti 1 (PD-1) a B7.1. PD-1 je inhibiční receptor exprimovaný na T-lymfocytech po jejich aktivaci, který je zachován ve stavu chronické stimulace, kterou může být například chronická infekce nebo nádorové onemocnění.[1] Vzájemná vazba PD-L1 a PD-1 inhibuje proliferaci T-lymfocytů, produkci cytokinů a cytolytickou aktivitu, což vede k funkční inaktivaci nebo vyčerpání T-lymfocytů. B7.1 je molekula exprimovaná buňkami prezentujícími antigen a aktivovanými T-buňkami. Vazba PD-L1 na B7.1 na T buňkách a antigen prezentujících buňkách může snížit imunitní odpověď, včetně inhibice aktivace T buněk a produkce cytokinů.[2] Exprese PD-L1 byla pozorována v imunitních buňkách a maligních buňkách a bylo popsáno, že abnormální exprese PD-L1 na nádorových buňkách (TC) brání protinádorové imunitě, čímž se nádor vyhne imunitní odpovědi.[1,3] Přerušení dráhy PD-L1/PD-1 proto představuje atraktivní strategii ke znovuoživení nádorově specifické T buněčné imunity, která je potlačená expresí PD-L1 v mikroprostředí tumoru. Asociace mezi expresí PD-L1 v TC nebo imunitních buňkách infiltrujících nádory (IC) a klinickým přínosem inhibitorů dráhy PD-L1/PD-1 byla hlášen u více rakovin.[3–10]

Atezolizumab je humanizovaná monoklonální protilátka s upraveným Fc fragmentem, která se váže na PD-L1 a brání jeho interakci s receptory PD-1 a B7.1. Atezolizumab je neglykosylovaný imunoglobulin IgG1 s řetězcem kappa a má vypočtenou molekulární hmotnosti 145 kDa.

PRINCIP PROCEDURY

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay využívá králičí monoklonální primární protilátku, která se váže na PD-L1 v tkáňových řezech zalitých do parafínu. Tuto specifickou protilátku lze vizualizovat pomocí soupravy OptiView DAB IHC Detection Kit (kat. č. 760-700 / 06396500001) a poté amplifikační soupravy OptiView Amplification Kit (kat. č. 760-099 / 06396518001 (50 testů) nebo 860-099 / 06718663001 (250 testů)). Další informace viz soupravu OptiView DAB IHC Detection Kit a příbalový leták OptiView Amplification Kit.

DODÁVANÁ REAGENCIE

Přípravek VENTANA PD-L1 (SP142) Assay obsahuje množství reagencie postačující na 50 testů.

Jeden 5 mL dávkovač přípravku VENTANA PD-L1 (SP142) Assay obsahuje přibližně 36 µg králičí monoklonální protilátky.

Protilátka je naředěna ve fyziologickém roztoku pufrovaném 0,05 M Tris obsahujícím 0,01 M EDTA, 0,05 % Brij-35 s 0,3 % proteinového nosiče a 0,05 % azidu sodného jako konzervační látky.

Celková koncentrace proteinu v reagencii je přibližně 3 mg/mL. Koncentrace specifické protilátky je přibližně 7 µg/mL.

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay obsahuje rekombinantní králičí monoklonální protilátku, vyráběnou jako purifikovaný supernatant buněčné kultury.

Další pokyny k interpretaci barvení testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay u konkrétních indikací naleznete v interpretační příručce:

- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for Urothelial Carcinoma (P/N 1015704EN)
- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for NSCLC ≥ 50 % TC nebo ≥ 10 % IC, postupný hodnoticí algoritmus (P/N 1015703EN)
- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for NSCLC ≥ 1 % TC nebo ≥ 1 % IC, postupný hodnoticí algoritmus (P/N 1015654EN)
- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for TNBC (P/N 1018231EN)

Podrobné popisy nalezete v příbalové informaci k příslušné detekční soupravě společnosti VENTANA: Princip procedury, Materiál a metody, Odběr vzorků a příprava na analýzu, Postup kontroly kvality, Řešení problémů, Interpretace výsledků a Obecná omezení.

POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY

Barvicí reagencie, například detekční soupravy VENTANA a doplňkové komponenty, včetně kontrolních sklíček pro negativní a pozitivní tkáň, nejsou součástí balení.

Všechny produkty uvedené v příbalové informaci nemusejí být dostupné ve všech zeměpisných oblastech. Obraťte se na místní servisní zastoupení.

Následující reagencie a materiály mohou být při barvení potřebné:

1. Benigní lidské tonzilární tkáně pro použití jako kontrolní tkáň
2. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (kat. č. 790-4795 / 06683380001)
3. Mikroskopická sklíčka, pozitivně nabitá
4. Štítky s čárovým kódem
5. Xylen (stupeň čistoty pro histologii)

6. Etanol nebo reagenční alkohol (čistoty pro histologii)
   - 100 % roztok: Nezředěný etanol nebo reagenční alkohol
   - 95 % roztok: Směs 95 dílů etanolu nebo reagenčního alkoholu s 5 díly deionizované vody
   - 80 % roztok: Směs 80 dílů etanolu nebo reagenčního alkoholu s 20 díly deionizované vody
7. Deionizovaná nebo destilovaná voda
8. OptiView DAB IHC Detection Kit (kat. č. 760-700 / 06396500001)
9. OptiView Amplification Kit (kat. No. 760-099 / 06396518001 (50 testů) nebo 860-099 / 06718663001 (250 testů))
10. EZ Prep Concentrate (10X) (kat. č. 950-102 / 05279771001)
11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat. č. 950-300 / 05353955001)
12. LCS (Predilute) (kat. č. 650-010 / 05264839001) pro přístroje BenchMark XT a GX
13. ULTRA LCS (Predilute) (kat. č. 650-210 / 05424534001) pro přístroj BenchMark ULTRA
14. Cell Conditioning Solution (CC1) (kat. č. 950-124 / 05279801001) pro přístroje BenchMark XT a GX
15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (kat. č. 950-224 / 05424569001) pro přístroj BenchMark ULTRA
16. Kontrastní barvivo Hematoxylin II (kat. č. 790-2208 / 05277965001)
17. Bluing Reagent (kat. č. 760-2037 / 05266769001)
18. Trvalé fixační médium (Permount Fisher kat. č. SP15-500 nebo ekvivalent)
19. Krycí sklíčko (dostatečně velké pro překrytí tkáně, např. VWR kat. No. 48393-060)
20. Automatické krycí sklíčko (jako např. Tissue-Tek SCA Automated Coverslipper)
21. Světelný mikroskop
22. Absorpční utěrky

SKLADOVÁNÍ

Po přijetí a mezi použitími uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Chraňte před mrazem.

Aby byla zajištěna správná funkčnost reagencie a stabilita protilátky, musí se dávkovač po každém použití uzavřít víčkem a okamžitě umístit ve svislé poloze do chladničky.

Každý dávkovač s protilátkou má stanovenou dobu expirace. Při řádném skladování zůstane reagencie stabilní do data uvedeného na štítku. Po uplynutí data expirace reagencii nepoužívejte.

PŘÍPRAVA VZORKŮ

Pro použití této primární protilátky s detekčními soupravami VENTANA a přístroji BenchMark IHC/ISH jsou vhodné tkáně zpracované běžným způsobem, fixované ve formalínu a zalité v parafínu (FFPE). Doporučuje se fixovat tkáň v 10 % neutrálním pufrovaném formalínu (NBF) po dobu minimálně 6 hodin a maximálně 72 hodin. Fixace po kratší dobu než 6 hodin může vést ke ztrátě intenzity barvení PD-L1. Použité množství NBF by mělo odpovídat 15- až 20násobku objemu tkáně. Během 24 hodin neproniknou fixativa do větší hloubky než 2 až 3 mm pevné tkáně nebo 5 mm porézní tkáně. Fixace může být provedena při pokojové teplotě (15–25 °C).[11,12]

Fixativa jako např. soustava alkohol-formalín-kyselina octová (AFA), fixativum PREFER a další fixativa na bázi alkoholu vykázala ztrátu intenzity specifického zabarvení u PD-L1 při všech testovaných dobách fixace (1–72 hodin); jejich použití se proto u tohoto testu nedoporučuje. Další informace o vlivu přípravy vzorků na intenzitu barvení PD-L1 jsou uvedeny v interpretačních příručkách.

Je třeba nařezat řezy silné zhruba 4 µm a fixovat je na pozitivně nabitá podložní sklíčka. Sklíčka je nutné obarvit okamžitě, neboť antigenní vlastnosti tkáňových řezů časem slábnou a po odkrojení z parafínového bločku by mohly být narušeny po 3 měsících pro vzorky uroteliálního karcinomu a po 2 měsících pro vzorky NSCLC, TNBC a mandlí (viz interpretační příručky a část Funkční charakteristiky níže).

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. K diagnostice *in vitro* (IVD).
2. Pouze k odbornému použití.
3. Sklíčka s kladným nábojem mohou být citlivá na zátěž prostředí, což může u kteréhokoliv testu IHC vést k neodpovídajícímu barvení (například na tkáni může být příliš málo primární protilátky nebo kontrastního barviva). Abyste lépe porozuměli tomu, jak tyto typy sklíček používat, vyžádejte si od zástupce společnosti Roche kopii dokumentu „Impacts of Environmental Stresses on IHC Positively Charged Slides“.
4. S materiálem lidského nebo živočišného původu je třeba nakládat jako s nebezpečným biologickým materiálem a likvidovat jej v souladu s platnými bezpečnostními opatřeními.
5. Zabraňte kontaktu reagencií s očima a sliznicemi. Jestliže se reagencie dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte zasažené oblasti vydatným množstvím vody.
6. Zabraňte mikrobiální kontaminaci reagencií, mohla by způsobit nepřesnost výsledků.
7. Doporučené metody likvidace jsou uvedeny v celostátních a místních předpisech.
8. Další informace o bezpečnosti naleznete v bezpečnostním listu a v příručce pro výklad symbolů a nebezpečnosti na adrese www.ventana.com

POSTUP BARVENÍ

Produkt VENTANA PD-L1 (SP142) Assay byl vyvinut pro použití na přístrojích BenchMark IHC/ISH v kombinaci s kontrolou Rabbit Monoclonal Negative Control Ig, soupravou OptiView DAB IHC Detection Kit, soupravou OptiView Amplification Kit a pomocnými reagenciemi. Postup barvení specifického pro test musí být použit s VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Doporučený barvicí protokol a vyžadovaný barvicí postup viz Tabulka 3. Jakákoli odchylka od doporučených postupů testu může vést k tomu, že očekávané výsledky budou neplatné. Je nutno používat a dokumentovat příslušné kontroly. Uživatel, který se od doporučených postupů odchýlí, na sebe musí vzít odpovědnost za interpretaci výsledků pacientů.

Tato protilátka byla optimalizována pro specifické inkubační doby, uživatel však musí výsledky získané pomocí této reagencie ověřit.

Parametry automatických postupů lze zobrazovat, tisknout a upravovat podle postupu uvedeného v návodu k obsluze přístroje. Další podrobné informace o postupech imunohistochemického barvení jsou uvedeny v příbalové informaci k příslušné detekční soupravě výrobce VENTANA.

Tabulka 3. Doporučený barvicí protokol a požadované barvicí postupy pro VENTANA PD-L1 (SP142) Assay a Rabbit Monoclonal Negative Control Ig s OptiView DAB IHC Detection Kit a OptiView Amplification Kit na přístroji BenchMark ULTRA, BenchMark XT nebo BenchMark GX.

Postup barvení:	**ULTRA VENTANA PDL1 (SP142) XT VENTANA PDL1 (SP142) GX VENTANA PDL1 (SP142)**
Postup protokolu	**Zadání parametru**
Sušení	Volitelné
Protilátka (primární)	Zvoleno VENTANA PD-L1 (SP142) nebo Zvoleno Negative Control
Kontrastní barvivo	Hematoxylin II, 4 minuty
Po kontrastním barvení	Bluing, 4 minuty

POSTUPY KONTROLY KVALITY

Rabbit Monoclonal Negative Control Ig

K usnadnění interpretace výsledků je třeba provést pro každý vzorek cyklus se sklíčkem obsahujícím negativní reagenční kontrolu. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig, protilátka pro negativní reagenční kontrolu, je určena výhradně pro tento test a je použita místo primární protilátky, aby se dalo vyhodnotit nespecifické zabarvení. Inkubační doba reagencie pro negativní reagenční kontrolu by měla odpovídat inkubační době primární protilátky. Použití jiné reagencie pro negativní kontrolu nebo nepoužití doporučených reagencií pro negativní kontrolu může vést k nesprávným výsledkům.

Kontrolní tonzilární tkáň

Kontrolní tkáň musí být testována při každém barvicím cyklu. Jako kontrolní tkáň se používá kvalifikovaná benigní lidská tonzilární tkáň. Kontrolní tkáň je třeba fixovat co nejdříve a zpracovat stejným způsobem jako tkáň pacienta. Tyto tkáně mohou sloužit k monitorování všech kroků analýzy, od přípravy tkáně až po její barvení. Tonzilární tkáň obsahuje pozitivně i negativně zabarvené části pro protein PD-L1, a je proto vhodná pro použití jako kontrolní tkáň. Pozitivně a negativně se zbarvující tkáňové složky se používají k ověření správné funkce testu.

Správné zbarvení složek tkáně mandlí popisují Tabulka 4 a interpretační příručky.

Ověření testu

Před prvním použitím protilátky nebo barvicího systému v diagnostickém postupu by se měla ověřit specificita protilátky pomocí testů na řadě tkání se známými IHC funkčními charakteristikami, které představují tkáně pozitivní i negativní na PD-L1 (viz předchozí část Postupy kontroly kvality v této příbalové informaci a doporučení ohledně kontroly kvality v dokumentu College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist[13] nebo schválených směrnicích CLSI[14]). Tyto postupy kontroly kvality musejí být provedeny vždy, když se změní šarže protilátky nebo když se změní parametry testu. Pro ověření testu jsou vhodné tkáně uroteliálního karcinomu, NSCLC a tkáně TNBC se známým stavem PD-L1 a vzorky benigní tkáně lidských mandlí.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Výsledkem postupu automatizovaného barvení VENTANA je hnědě zbarvený reakční produkt (DAB), který se vysráží v místech přítomnosti antigenu lokalizovaných protilátkou VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Interpretaci barvených preparátů provádí kvalifikovaný patolog za použití světelné mikroskopie. Kvalifikovaný patolog se zkušeností s imunohistochemickými postupy musí před interpretací výsledků nejprve vyhodnotit kontrolní tkáně a posoudit barvený produkt.

Interpretace kontrolní tonzilární tkáně

Zabarvenou kontrolní tonzilární tkáň je nutno vyšetřit pro zajištění vhodného barvení. Přítomnost zabarvení PD-L1 u makrofágů a lymfocytů v zárodečných centrech a retikulovaném epitelu krypt mandlí slouží jako pozitivní tkáňové části. Nepřítomnost zabarvení u povrchového dlaždicového epitelu a negativních imunitních buněk v interfolikulárních oblastech mandlí slouží jako negativní tkáňové části. Kritéria přijatelnosti uvádí Tabulka 4. (Další informace naleznete v interpretačních příručkách.)

Pokud se u kontrolní tkáně neprojeví správné zabarvení, je nutno považovat výsledky testovaných vzorků pacienta za neplatné a barvicí postup je nutno zopakovat.

Tabulka 4. Kritéria hodnocení kontrolní tkáně mandlí.

Přijatelné	Nepřijatelné
Pozitivní složky tkáně: Středně silné až silné barvení PD-L1 v lymfocytech a makrofázích v germinálních centrech a difuzní barvení buněk retikulovaného epitelu krypt.	Nadměrné nespecifické zabarvení pozadí zakrývající identifikaci buněk pozitivních na PD-L1.
Negativní složky tkáně: Imunitní buňky negativní na PD-L1 v interfolikulárních oblastech s negativním povrchovým skvamózním epitelem.	Slabé až žádné zabarvení PD-L1 zjištěné u lymfocytů a makrofágů v zárodečných centrech a v buňkách retikulovaného epitelu krypt.

Negativní reagenční kontrola

Pokud se vyskytuje nespecifické zabarvení, je většinou difúzní a lze ho vyhodnotit pomocí negativní reagenční kontroly barvené Rabbit Monoclonal Negative Control Ig. K interpretaci výsledků barvení je třeba používat pouze intaktní buňky, jelikož nekrotické nebo degenerované buňky často barví nespecificky. Pokud je zbarvení pozadí nadměrné, je nutné považovat výsledky testovacího vzorku za neplatné. Ukázky barvení pozadí u tohoto testu naleznete v interpretačních příručkách.

Tkáň pacienta

Nádorové buňky (TC) se vyhodnocují jako procenta nádorových buněk s přítomností rozlišitelného zabarvení membrány PD-L1 libovolné intenzity. Tumor infiltrující buňky imunitního systému (IC) se hodnotí jako poměr oblasti nádoru, včetně souvisejícího intratumorálního a přilehlého peritumorálního stroma, ve které se nachází IC buňky barvené na PD-L1 v jakékoli intenzitě. Tkáň pacienta je nutné hodnotit podle hodnoticího algoritmu pro specifickou indikaci testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, uvedeného v části Funkční charakteristiky pro danou indikaci. Další pokyny a reprezentativní snímky naleznete v interpretační příručce pro danou indikaci.

VŠEOBECNÁ OMEZENÍ

1. Imunohistochemie je několikastupňový diagnostický proces, který vyžaduje specializované vyškolení ve výběru vhodných reagencií, výběru tkání, fixaci a zpracování, přípravě imunohistochemického preparátu a interpretaci výsledků barvení.
2. Zbarvení tkáně závisí na způsobu zacházení s tkání a na jejím zpracování před barvením. Nesprávná fixace, zmrazení, rozmrazení, oplach, sušení, zahřívání, řezání nebo kontaminace jinými tkáněmi nebo tekutinami mohou vést ke vzniku artefaktů, záchytu protilátky nebo k falešně negativním výsledkům. V důsledku odchylek při fixaci a metodách zalévání či následkem stávajících nerovnoměrností ve tkáni mohou být výsledky nekonzistentní.
3. Nadměrné nebo neúplné kontrastní barvení může narušit správnou interpretaci výsledků.
4. Klinická interpretace jakéhokoli pozitivního zabarvení nebo jeho nepřítomnosti musí být vyhodnocena v kontextu anamnézy, morfologie a jiných histopatologických kritérií. Klinická interpretace jakéhokoli zabarvení nebo jeho nepřítomnosti musí být doplněna morfologickými studiemi a kontrolami úrovně systému a také dalšími diagnostickými testy. Je věcí kvalifikovaného patologa, aby byl dobře obeznámen s protilátkami, reagenciemi a metodami používanými při interpretaci barveného preparátu. Barvení se musí provádět v certifikované akreditované laboratoři pod dohledem patologa zodpovědného za hodnocení barvených podložních sklíček, který zajistí adekvátnost pozitivních a negativních kontrol.
5. Ventana Medical Systems, Inc. dodává protilátky a činidla pro použití optimálně naředěné, pokud jsou dodrženy pokyny, které jsou součástí produktu. Jakákoli odchylka od doporučených postupů testu může vést k tomu, že očekávané výsledky budou neplatné. Je nutno používat a dokumentovat příslušné kontroly. Uživatel, který se od doporučených postupů odchýlí, na sebe musí vzít odpovědnost za interpretaci výsledků pacientů.
6. Tento výrobek není určen k použití v průtokové cytometrii, neboť charakteristiky účinnosti nebyly stanoveny.
7. U tkání, které nebyly předem testovány, mohou reagencie vykazovat neočekávané reakce. V důsledku biologické variability exprese antigenu v neoplazmě nebo jiných patologických tkáních nelze zcela vyloučit možnost neočekávaných reakcí, dokonce i v testovaných skupinách tkání.[15, 16]
8. Tkáně osob infikovaných virem hepatitidy B, které obsahují povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg), mohou u křenové peroxidázy vykazovat nespecifické zabarvení.[17]
9. Falešně pozitivní výsledky se mohou vyskytovat v důsledku neimunologické vazby proteinů nebo produktů reakce se substrátem. Mohou být také způsobeny aktivitou pseudoperoxidázy (erytrocyty) a aktivitou endogenní peroxidázy (cytochrom C) nebo endogenním biotinem (příklad: játra, mozek, prs, ledvina) v závislosti na typu imunologického barvení.[18]
10. Jako u každého imunohistochemického testu znamená negativní výsledek pouze to, že antigen nebyl detekován, nikoli že antigen není v testovaných buňkách nebo tkáni přítomen.

SPECIFICKÁ OMEZENÍ

1. Produkt VENTANA PD-L1 (SP142) Assay byl schválen výhradně pro použití na přístrojích BenchMark IHC/ISH s detekční soupravou OptiView DAB IHC Detection Kit a amplifikační soupravou OptiView Amplification Kit a není schválen pro jiné způsoby detekce nebo jiné přístroje.
2. Sklíčko se vzorkem pacienta je třeba obarvit pomocí Rabbit Monoclonal Negative Control Ig. Jiná činidla negativní kontroly nejsou pro tento test vhodné.
3. Tento test nebyl validován pro použití s cytologickými vzorky nebo vzorky odvápněných kostí.
4. Tkáň NSCLC, TNBC a mandlí od pacientů je nutno obarvit do 2 měsíců od odříznutí z tkáňového bločku a tkáně uroteliálního karcinomu do 3 měsíců. Pokud byly barvené řezy uchovávány při pokojové teplotě déle než uvedenou dobu, byla u nich při barvení produktem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pozorována ztráta účinnosti zabarvení.
5. Doporučuje se fixovat vzorky v 10 % NBF po dobu 6 až 72 hodin. Jiné doby fixace nebo použití jiných než doporučených fixativ může vést k falešně negativním výsledkům. Fixativa jako AFA, PREFER a další fixativa s obsahem alkoholu vykázala ztrátu specifického barvení proteinu PD-L1. Další informace naleznete v interpretačních příručkách.
6. Pokud artefakty, jako např. skvrny DAB, prázdné skvrny, tečky DAB nebo skvrnité artefakty interferují s interpretací VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, může být zapotřebí barvicí postup zopakovat. Barvený preparát PD-L1 vždy porovnávejte s negativní reagenční kontrolou, aby bylo zajištěno, že pozadí je přijatelné. Další informace naleznete v interpretačních příručkách.

7. Příležitostně byly pozorovány tečky DAB u benigních lidských tonzilárních kontrolních tkání, tkání mozečku a varlat a fokální zabarvení jader bylo pozorováno u normální tkáně slinivky (acinární buňky) a hypofýzy (Tabulka 5). Zabarvení jader však není zahrnuto do vyhodnocení barvení VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY – VŠEOBECNÉ

Byly provedeny barvicí testy specificity, senzitivity, vlivu tloušťky tkáně, opakovatelnosti a přechodné přesnosti, jakož i testy přesnosti hodnotitele, mezilaboratorní reprodukovatelnosti a klinických výsledků. Výsledné hodnoty jsou uvedeny v následující části.

Obecné komentáře k analýze

Pokud není uvedeno jinak, oboustranný 95 % interval spolehlivosti (CI) u odhadů shody u všech studií (kromě studií klinické účinnosti) byly vypočteny pomocí metody percentilový bootstrap z 2 000 vzorků bootstrap. Pokud je pozitivní procentuální shoda (PPA), negativní procentuální shoda (NPA) nebo celková procentuální shoda (OPA) 0 % nebo 100 %, poté byl 95 % CI vypočten metodou Wilsonova skóre. Pokud je bodový odhad průměrné pozitivní shody (APA) a průměrné negativní shody (ANA) 0 % nebo 100 % pro párové porovnání, poté byl 95 % CI vypočten metodou transformace Wilsonova skóre.

Specificita

Řada různých normálních tkání byla barvena pomocí VENTANA PD-L1 (SP142) Assay a vyhodnocena na přítomnost zabarvení imunitních buněk (jakékoli zabarvení imunitních buněk, jakákoli intenzita), jak popisuje Tabulka 5.

Tabulka 5. Specificita testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay byla stanovena testováním normálních FFPE tkání.

Tkáň	Počet pozitivních[a]/ celkový počet	Tkáň	Počet pozitivních[a]/ celkový počet
Nadledvinka	1/3	Sval, srdce	0/3
Močový měchýř	3/36[b]	Sval, kostra	0/2
Prs	1/66	Myeloidní tkáň	0/2
Mozeček	0/3[c]	Nerv, periferní	0/3
Velký mozek	0/3	Vaječník	0/3
Děložní hrdlo	0/2	Slinivka břišní	0/3[d]
Tlusté střevo	2/3	Příštítná žláza	0/2
Endometrium	2/3	Prostata	0/3
Jícen	0/3	Slinná žláza	2/3
Hypofýza	0/3[d]	Kůže	0/3
Střevo, tenké	1/3	Slezina	3/3
Ledvina	2/3	Žaludek	0/3
Jazyková žláza	0/1	Varle	0/3[c]
Játra	0/3	Brzlík	3/3
Plíce	1/25	Štítná žláza	1/3
Lymfatická uzlina	3/3	Mandle	3/3[c]
Mezotel	0/3		

[a] Zabarvení imunitních buněk libovolné intenzity.

[b] Fokální zabarvení imunitních buněk.

[c] Fokální tečky DAB byly pozorovány u 1/3 tkání mozečku a 1/3 tkání varlat a u normálních mandlí jako kontroly.

[d] Zabarvení jader bylo pozorováno u 1/3 tkání slinivky a 1/3 tkání hypofýzy.

Senzitivita

Řada neoplastických tkání byla vyhodnocena na zabarvení imunitních buněk a nádorových buněk za použití VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, jak popisuje Tabulka 6.

Tabulka 6. Senzitivita barvení testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay byla stanovena testováním řady neoplastických FFPE tkání.

Původ	Patologie	Počet pozitivních[a] / celkový počet případů	
		Imunitní buňky	Nádorové buňky
Dutina břišní	Maligní mezoteliom	1/1	0/1
Záda	Neurofibrom	1/1	0/1
Močový měchýř	Maligní leiomyosarkom nízkého stupně	0/1	0/1
Močový měchýř	Karcinom z přechodových buněk	1/1	0/1
Kost	Osteosarkom	0/1	0/1
Prs	Invazivní duktální karcinom	1/2	0/2
Prs	Intraduktální karcinom s časným infiltrátem	1/1	0/1
Velký mozek	Glioblastom	1/1	0/1
Velký mozek	Atypický meningeom	0/1	0/1
Velký mozek	Maligní ependymom	0/1	0/1
Velký mozek	Oligodendrogliom	0/1	0/1
Tlusté střevo	Adenokarcinom	1/1	0/1
Tlusté střevo	Intersticialom	0/1	0/1
Jícen	Neuroendokrinní karcinom	0/1	0/1
Jícen	Adenokarcinom	1/1	0/1
Střevo	Adenokarcinom	1/1	0/1
Střevo	Stromální sarkom	1/1	0/1
Ledvina	Karcinom z jasných buněk	1/1	0/1
Játra	Hepatocelulární karcinom	0/1	0/1
Játra	Hepatoblastom	1/1	0/1
Plíce	Adenokarcinom	0/1	0/1
Plíce	Malobuněčný nediferencovaný karcinom	1/1	1/1
Plíce	Karcinom z dlaždicových buněk	1/1	0/1
Lymfatická uzlina	Difuzní lymfom z B-buněk	1/1[b]	1/1[b]
Lymfatická uzlina	Hodgkinův lymfom	1/1	1/1
Mediastinum	Difuzní lymfom z B-buněk	1/1[b]	1/1[b]
Sval, hladký	Středně závažný maligní leiomyosarkom	1/1	0/1
Sval, příčně pruhovaný	Embryonální rhabdomyosarkom	0/1	0/1
Vaječník	Serózní adenokarcinom	1/1	0/1

Původ	Patologie	Počet pozitivních[a] / celkový počet případů	
		Imunitní buňky	Nádorové buňky
Vaječník	Adenokarcinom	1/1	0/1
Slinivka břišní	Nádor ostrůvkových buněk	0/1	0/1
Slinivka břišní	Adenokarcinom	1/1	0/1
Pánevní dutina	Anaplastický velkobuněčný lymfom	1/1[b]	1/1[b]
Prostata	Adenokarcinom	0/2	0/2
Rektum	Adenokarcinom	1/1	1/1
Rektum	Středně závažný maligní intersticialom	0/1	0/1
Rektum	Maligní melanom	1/1	0/1
Retroperitoneum	Neuroblastom	1/1	0/1
Retroperitoneum	Rhabdomyosarkom z vřetenovitých buněk	0/1	0/1
Kůže	Karcinom z bazálních buněk	1/1	0/1
Kůže	Karcinom z dlaždicových buněk	1/1	0/1
Slezina	Difuzní lymfom z B-buněk	1/1[a]	1/1[a]
Žaludek	Karcinomy buněk typu pečetního prstenu	1/1	0/1
Varle	Seminom	1/1	0/1
Varle	Embryonální karcinom	0/1	0/1
Štítná žláza	Medulární karcinom	0/1	0/1
Štítná žláza	Papilární karcinom	0/1	1/1
Děložní čípek	Karcinom z dlaždicových buněk	2/2	0/2
Děloha	Leiomyom	0/1	0/1
Děloha	Adenokarcinom	1/1	0/1
Děloha	Karcinom endometria z jasných buněk	1/1	1/1

[a] Zabarvení imunitních nebo nádorových buněk libovolné intenzity.
[b] Zabarvení nádorových a imunitních buněk nebylo možné rozlišit.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY – UROTELIÁLNÍ KARCINOM

Algoritmus hodnocení – uroteliální karcinom

Tkáň uroteliálního karcinomu musí být hodnocena podle hodnoticího algoritmu testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pro uroteliální karcinom, viz Tabulka 7. Další pokyny a reprezentativní obrázky jsou uvedeny v interpretační příručce (P/N 1015704EN).

Tabulka 7. Hodnoticí algoritmus testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pro uroteliální karcinom.

Vyhodnocení barvení imunitních buněk (IC)[a]	Exprese PD-L1
Nepřítomnost jakéhokoli rozlišitelného zabarvení PD-L1 NEBO Přítomnost rozlišitelného zabarvení PD-L1 libovolné intenzity v imunitních buňkách infiltrujících nádory pokrývající < 5 % plochy nádoru pokryté nádorovými buňkami, včetně souvisejícího intratumorálního a přilehlého peritumorálního stromatu	< 5 % IC
Přítomnost rozlišitelného zabarvení PD-L1 libovolné intenzity v imunitních buňkách infiltrujících nádory pokrývající ≥ 5 % plochy nádoru pokryté nádorovými buňkami, včetně souvisejícího intratumorálního a přilehlého peritumorálního stromatu	≥ 5 % IC

[a] Barvení PD-L1 v nádorových buňkách nepoužívejte při hodnocení pacientské tkáně uroteliálního karcinomu.

Tloušťka tkáně – uroteliální karcinom

Tloušťka tkáně byla hodnocena pomocí 5 jedinečných vzorků uroteliálního karcinomu (3 PD-L1 ≥ 5 % IC a 2 PD-L1 < 5 % IC). U každého případu se testovaly duplikáty řezů o tloušťce 2, 3, 4, 5, 6 a 7 mikronů. Všechny tloušťky tkání prokázaly správné specifické zabarvení PD-L1 a přijatelné zabarvení pozadí pro barvení VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. U žádného řezu nebyla pozorována žádná změna v expresi PD-L1 mezi jednotlivými testovanými tloušťkami. Společnost Ventana doporučuje vzorky pro barvení testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay řezat na 4 mikrony.

Opakovatelnost a mezilehlá přesnost – uroteliální karcinom

Byly provedeny studie barvení VENTANA PD-L1 (SP142) Assay vzorků uroteliálního karcinomu za účelem prokázání:

- Opakovatelnost v rámci jednoho dne – 5 kopií sklíček od každého z 24 jedinečných vzorků uroteliálního karcinomu (12 PD-L1 ≥ 5 % IC a 12 PD-L1 < 5 % IC) bylo barveno testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na jediném přístroji BenchMark ULTRA během jediného dne.
- Preciznost mezi jednotlivými dny – 10 sklíček z 24 jedinečných vzorků uroteliálního karcinomu (12 PD-L1 ≥ 5 % IC a 12 PD-L1 < 5 % IC) bylo barveno testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na jediném přístroji BenchMark ULTRA během 5 po sobě nenásledujících dní.
- Preciznost mezi přístroji a mezi šaržemi – 27 sklíček od každého z 24 jedinečných vzorků uroteliálního karcinomu (12 PD-L1 ≥ 5 % IC a 12 PD-L1 < 5 % IC) bylo barveno testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay s použitím tří šarží protilátky VENTANA PD-L1 (SP142) a tří párů šarží OptiView DAB IHC Detection Kit a OptiView Amplification Kit na třech přístrojích BenchMark ULTRA.
- Preciznost v rámci platformy – 2 kopie sklíček od každého z 10 jedinečných vzorků uroteliálního karcinomu (3 PD-L1 ≥ 5 % IC a 7 PD-L1 < 5 % IC) byly barveny testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na třech přístrojích BenchMark ULTRA, třech BenchMark XT a třech BenchMark GX. Pro každou platformu a ve vztahu k módu vzorku byla vypočtena míra shody.

Všechna sklíčka byla zaslepena a randomizována a poté vyhodnocena hodnoticím algoritmem testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pro uroteliální karcinom (Tabulka 7). Výsledky shrnuje Tabulka 8.

Tabulka 8. Opakovatelnost a mezilehlá preciznost barvení testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay u vzorků uroteliálního karcinomu.

Parametr opakovatelnosti / přechodné přesnosti	Shoda v % (95 % CI)[a]
Opakovatelnost v rámci jednoho dne (během jednoho dne)	PPA: 98,2 (90,4–99,7) NPA: 100,0 (94,4–100,0) OPA: 99,2 (95,4–99,9)
Přesnost mezi jednotlivými dny (5 po sobě nenásledujících dnů)	PPA: 91,8 (85,2–95,6) NPA: 100,0 (97,1–100,0) OPA: 96,3 (93,0–98,0)

Parametr opakovatelnosti / přechodné přesnosti	Shoda v % (95 % CI)[a]
Přesnost mezi přístroji a mezi šaržemi (3 přístroje, 3 šarže protilátky a 3 šarže detekční a amplifikační soupravy)	PPA: 99,4 (97,8–99,8) NPA: 99,7 (98,3–99,9) OPA: 99,5 (98,6–99,8)
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark ULTRA)	PPA: 83,3 (60,8–94,2) NPA: 100,0 (91,2–100,0) OPA: 94,8 (85,9–98,2)
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark XT)	PPA: 94,4 (74,2–99,0) NPA: 100,0 (91,6–100,0) OPA: 98,3 (91,1–99,7)
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark GX)	PPA: 94,4 (74,2–99,0) NPA: 100,0 (91,4–100,0) OPA: 98,3 (91,0–99,7)

[a] Oboustranný interval CI podle metody Wilsonova skóre.

Shoda mezi platformami – uroteliální karcinom

Jedno sklíčko od každého ze 44 jedinečných vzorků uroteliálního karcinomu (22 PD-L1 ≥ 5 % IC a 22 PD-L1 < 5 % IC) bylo obarveno testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na jednom přístroji BenchMark ULTRA (referenční), jednom BenchMark XT a jednom BenchMark GX. Všechna sklíčka byla zaslepena a randomizována a poté vyhodnocena hodnoticím algoritmem testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pro uroteliální karcinom (Tabulka 7). Výsledky shrnuje Tabulka 9.

Tabulka 9. Shoda mezi platformami při barvení vzorků uroteliálního karcinomu testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Shoda mezi platformami	Shoda v % (95 % CI) [a]
BenchMark ULTRA: BenchMark XT	PPA: 100,0 (84,5–100,0) NPA: 100,0 (85,1–100,0) OPA: 100,0 (91,8–100,0)
BenchMark ULTRA: BenchMark GX	PPA: 95,2 (77,3–99,2) NPA: 100,0 (85,1–100,0) OPA: 97,7 (87,9–99,6)

[a] Oboustranný interval CI podle metody Wilsonova skóre.

Přesnost hodnotitelů – uroteliální karcinom

Ke zjištění preciznosti mezi hodnotiteli a v rámci jednoho hodnotitele vyhodnocovali tři patologové 60 jedinečných vzorků uroteliálního karcinomu (30 PD-L1 ≥ 5 % IC a 30 PD-L1 < 5 % IC), které byly obarveny testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Vzorky byly před vyhodnocením stavu PD-L1 za použití hodnoticího algoritmu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na uroteliální karcinom zaslepeny a randomizovány (Tabulka 7). Hodnotitelé hodnotili všechny vzorky dvakrát s minimálně dvoutýdenním intervalem mezi jednotlivými hodnoceními. Míry shody mezi jednotlivými hodnotiteli a mezi výsledky každého jednotlivého patologa shrnuje Tabulka 10.

Tabulka 10. Preciznost mezi hodnotiteli a v rámci jednoho hodnotitele při barvení vzorků uroteliálního karcinomu testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Přesnost hodnotitele	Shoda v % (95 % CI)
Přesnost mezi hodnotiteli (průměr párových porovnání mezi hodnotiteli z prvního vyhodnocení)	APA: 92,7 (85,9–97,6) ANA: 93,9 (88,1–98,1) OPA: 93,3 (87,8–97,8)
Přesnost v rámci jednoho hodnotitele (průměr míry shody všech tří hodnotitelů mezi prvním a druhým hodnocením)	APA: 93,4 (87,3–97,7) ANA: 94,2 (88,9–98,1) OPA: 93,9 (88,8–97,8)

Studie reprodukovatelnosti mezi laboratořemi – uroteliální karcinom

Byla provedena studie reprodukovatelnosti mezi laboratořemi pro test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay s cílem prokázat reprodukovatelnost testu při stanovení stavu PD-L1 ve vzorcích tkáně uroteliálního karcinomu. Dvacet osm jedinečných vzorků uroteliálního karcinomu (14 PD-L1 ≥ 5 % IC a 14 PD-L1 < 5 % IC) bylo obarveno ve 3 externích laboratořích v každém z 5 po sobě nenásledujících dní v období o délce alespoň 20 dní. Před barvením byly vzorky zaslepeny a randomizovány. Na každém z pracovišť byly barvené vzorky nezávisle vyhodnoceny 2 patology (hodnotiteli). Výsledky shrnuje Tabulka 11.

Tabulka 11. Reprodukovatelnost barvení vzorků uroteliálního karcinomu mezi laboratořemi pomocí testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Reprodukovatelnost mezi laboratořemi	Shoda v % (95 % CI)
Celková shoda (v porovnání s konsenzuálním skóre, mezi pracovišti, dny a hodnotiteli)	PPA: 98,3 (96,6–99,2)[a] NPA: 87,4 (83,8–90,2)[a] OPA: 92,8 (90,9–94,4)[a]
Shoda mezi pracovišti (průměr párových porovnání mezi pracovišti)	APA: 90,7 (81,2–96,3) ANA: 88,3 (78,5–94,9) OPA: 89,6 (82,5–95,5)
Shoda mezi hodnotiteli (průměr párových porovnání mezi hodnotiteli v rámci jednotlivých pracovišť)	APA: 89,3 (78,1–96,0) ANA: 86,6 (75,1–94,6) OPA: 88,1 (84,6–90,8)[a]

[a] Oboustranný interval CI podle metody Wilsonova skóre.

Studie klinického výsledku – uroteliální karcinom

Funkční charakteristiky testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay byly zkoumány ve studii IMvigor210 (NCT02108652), multicentrické, otevřené studii fáze II se dvěma kohortami, které mělo za cíl vyhodnotit účinnost přípravku TECENTRIQ u pacientů s lokálně pokročilým nebo metastatickým uroteliálním karcinomem.

Vzorky pacientů byly barvené testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay a vyhodnocené z hlediska přijatelnosti barvení a exprese PD-L1 podle hodnoticího algoritmu, viz Tabulka 7. Vzorky pacientů byly FFPE tkáně uroteliálního karcinomu získané biopsií (21,2 %), resekcí (46,6 %), transuretrální resekcí nádoru močového měchýře (TURBT, 30,5 %) nebo neznámým způsobem (1,6 %); 74,9 % pocházelo z primárních nádorů a 25,1 % z metastatických nádorů.

Tabulka 12 popisuje celkovou přijatelnost barvení testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay u všech vzorků uroteliálního karcinomu vyšetřovaných ve studii IMvigor210. Je rovněž popsána míra přijatelné morfologie a přijatelného pozadí pro obarvené preparáty PD-L1. Z celkového počtu 650 vzorků 25 vzorků neprošlo prvním pokusem o barvení a bylo třeba barvení opakovat. U posledního pokusu o barvení zůstávalo 13 z 25 vzorků stále nepřijatelných (7 kvůli nepřijatelné negativní reagenční kontrole, 5 kvůli nepřijatelné morfologii a 1 kvůli nepřijatelnému pozadí i morfologii). Test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay vykazoval vysokou prvotní (96,2 %) i konečnou celkovou (98,0 %) přijatelnost barvení. Konečné míry přijatelnosti morfologie a pozadí byly vyšší než 99 %.

Tabulka 12. Funkční charakteristiky testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay při barvení vzorků uroteliálního karcinomu v klinické studii IMvigor210.

Atribut	Míra přijatelnosti v % (n/N) (95 % CI)[a]	
	První[b]	Konečná[c]
Celková míra přijatelnosti barvení	96,2 (625/650) (94,4–97,4)	98,0 (637/650) (96,6–98,8)
Morfologie	98,1 (628/640) (96,8–98,9)	99,1 (637/643) (98,0–99,6)
Pozadí	98,9 (625/632) (97,7–99,5)	99,8 (637/638) (99,1–100,0)

[a] Oboustranný interval CI podle metody Wilsonova skóre.

[b] První pokus o barvení. [c] Konečný pokus o barvení.

V 2. kohortě studie IMvigor210 bylo 310 pacientů s lokálně pokročilým nebo metastatickým uroteliálním karcinomem, u kterých došlo k progresi onemocnění během

chemoterapeutické léčby s obsahem platiny či po ní nebo u kterých došlo k progresi onemocnění do 12 měsíců od neoadjuvantní nebo adjuvantní chemoterapeutické léčby s obsahem platiny, léčeno přípravkem TECENTRIQ. Ze studie byli vyloučeni pacienti, kteří: měli anamnézu autoimunitního onemocnění, aktivních či kortikosteroid-dependentních mozkových metastáz, aplikace živé atenuované vakcíny méně než 28 dní před vstupem do studie nebo aplikace systémových imunostimulačních látek či systémových imunosupresivních léčiv. Pacienti dostávali nitrožilní infuzi 1 200 mg přípravku TECENTRIQ každé 3 týdny do té doby, než dle zkoušejícího nastala ztráta léčebných přínosů. Každých 9 týdnů po dobu prvních 54 týdnů a poté každých 12 týdnů se provádělo hodnocení nádorové odpovědi. Mezi hlavní způsoby hodnocení účinnosti patřila potvrzená míra objektivní odpovědi (ORR) vyhodnocená nezávislou kontrolní skupinou (IRF) podle kritérií Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST v1.1; Kritéria hodnocení odpovědi solidního nádoru na léčbu) a délka trvání odpovědi (DOR).

V této kohortě byl medián věku 66 let, 78 % pacientů byli muži a 91 % bylo běloošského původu. Dvacet šest procent pacientů mělo uroteliální karcinom nezasahující do močového měchýře a 78 % pacientů mělo viscerální metastázy. Šedesát dva procent pacientů mělo skóre 1 dle ECOG a 35 % pacientů mělo clearance kreatininu ve výchozím stavu < 60 mL/min. U devatenácti procent pacientů nastala po předchozí neoadjuvantní či adjuvantní chemoterapii s obsahem platiny progrese onemocnění. Čtyřicet jedna procent pacientů obdrželo ≥ 2 předchozí systémové léčby proti metastatickým stavům. Sedmdesát tři procent pacientů obdrželo předchozí léčbu přípravkem cisplatin, 26 % bylo dříve léčeno karboplatinou a 1 % bylo léčeno jinou metodou na bázi platiny.

Vzorky nádoru byly hodnoceny prospektivně pomocí testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay v centrální laboratoři a výsledky byly použity k definování podskupin pro předem specifikované analýzy. Z 310 pacientů bylo 32 % klasifikováno jako pacienti s expresí PD-L1 ≥ 5 % IC a zbývajících 68 % pacientů bylo klasifikováno jako pacienti s expresí PD-L1 < 5 % IC.

Potvrzenou ORR u všech pacientů a u dvou podskupin PD-L1 shrnuje Tabulka 13. Medián doby následného sledování pro tuto kohortu byl 14,4 měsíce. U 59 pacientů s progresí onemocnění po neoadjuvantní či adjuvantní terapii byla ORR 22,0 % (95 % CI: 12,3 %, 34,7 %).

Tabulka 13. Souhrn účinnosti z 2. kohortu studie IMvigor210 (uroteliální karcinom).

	Všichni pacienti (N = 310)	Podskupiny exprese PD-L1	
		< 5 %[a] (N = 210)	≥ 5 %[a] (N = 100)
Počet potvrzených respondentů ověřených skupinou IRF	46	20	26
ORR % (95 % CI)	14,8 (11,1, 19,3)	9,5 (5,9, 14,3)	26,0 (17,7, 35,7)
Úplná odpověď (CR) (%)	5,5	2,4	12,0
Částečná odpověď (PR) (%)	9,4	7,1	14,0
Medián DOR, v měsících (rozsah)	NR (2,1+, 13,8+)	12,7 (2,1+, 12,7)	NR (4,2, 13,8+)

NR = nedosaženo + Označuje cenzurovanou hodnotu CI = interval spolehlivosti

[a] Exprese PD-L1 v tumor infiltrujících imunitních buňkách (IC)

IMvigor130 (NCT02807636) je probíhající multicentrická randomizovaná studie u dříve neléčených pacientů s metastatickým uroteliálním karcinomem, kteří jsou vhodní pro chemoterapii s obsahem platiny. Studie se skládá ze tří sekcí: monoterapie přípravkem TECENTRIQ, přípravek TECENTRIQ s chemoterapií založenou na platině (tj. cisplatin nebo carboplatin s gemcitabine) a terapie založená jenom na platině (porovnávací). V této studii jsou zahnuti pacienti vhodní pro léčbu přípravkem cisplatin i ti, kteří vhodní nejsou. Vzorky nádorů byly vyhodnoceny prospektivně v centrální laboratoři použitím testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Nezávislá komise pro monitorování dat (iDMC) dané studie provedla kontrolu časných dat a zjistila, že pacienti klasifikovaní s expresí PD-L1 < 5 % s monoterapií přípravkem TECENTRIQ měli sníženou míru přežití v porovnání s těmi, kteří byli léčeni chemoterapií na bázi platiny. iDMC doporučila, aby do sekce monoterapie nebyly přidáváni noví pacienti s nízkou expresí PD-L1; nebyly však doporučeny žádné jiné změny studie, a to včetně změn terapie pacientů, kteří již byly randomizováni a byli léčeni v sekci pacientů s monoterapií.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY – NSCLC

Hodnotící algoritmus – NSCLC

Tkáň NSCLC musí být hodnocena podle hodnoticího algoritmu testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pro NSCLC, viz Tabulka 14 a Tabulka 15. Vzorek se považuje za vzorek s expresí PD-L1, pokud vykazuje obarvení ≥ 1 % TC nebo ≥ 1 % IC, a za vzorek se silnou expresí PD-L1, pokud vykazuje obarvení ≥ 50 % TC nebo ≥ 10 % IC. Další pokyny a reprezentativní obrázky jsou uvedeny v interpretační příručce (P/N 1015703EN a 1015654EN).

Tabulka 14. Hodnoticí algoritmus testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pro NSCLC ≥ 50 % TC nebo ≥ 10 % IC.

KROK 1 Hodnocení zabarvení nádorových buněk (TC)	Exprese PD-L1
Přítomnost rozlišitelného zabarvení membrány PD-L1 libovolné intenzity u ≥ 50 % nádorových buněk	≥ 50 % TC
Nepřítomnost jakéhokoli rozlišitelného zabarvení PD-L1 NEBO Přítomnost rozlišitelného zabarvení membrány PD-L1 libovolné intenzity u < 50 % nádorových buněk	Přejděte na Krok 2
KROK 2 Hodnocení zabarvení imunitních buněk infiltrujících nádory (IC)	**Exprese PD-L1**
Přítomnost rozlišitelného zabarvení PD-L1 libovolné intenzity v imunitních buňkách infiltrujících nádory pokrývající ≥ 10 % plochy nádoru pokryté nádorovými buňkami, včetně souvisejícího intratumorálního a přilehlého peritumorálního stromatu	≥ 10 % IC
Nepřítomnost jakéhokoli rozlišitelného zabarvení PD-L1 NEBO Přítomnost rozlišitelného zabarvení PD-L1 libovolné intenzity v imunitních buňkách infiltrujících nádory pokrývající < 10 % plochy nádoru pokryté nádorovými buňkami, včetně souvisejícího intratumorálního a přilehlého peritumorálního stromatu	< 50 % TC a < 10 % IC

Tabulka 15. Hodnoticí algoritmus testu VENTANA PD-L1 (SP142) pro NSCLC ≥ 1 % TC nebo ≥ 1 % IC.

KROK 1 Hodnocení zabarvení nádorové buňky (TC)	Exprese PD-L1
Přítomnost rozlišitelného zabarvení membrány PD-L1 libovolné intenzity u ≥ 1% nádorových buněk	≥ 1 % TC
Nepřítomnost jakéhokoli rozlišitelného zabarvení PD-L1 NEBO Přítomnost rozlišitelného zabarvení membrány PD-L1 libovolné intenzity u < 1% nádorových buněk	Přejděte na Krok 2
KROK 2 Hodnocení zabarvení imunitních buněk infiltrujících nádory (IC)	**Exprese PD-L1**
Přítomnost rozlišitelného zabarvení PD-L1 libovolné intenzity v imunitních buňkách infiltrujících nádory pokrývající ≥ 1 % plochy nádoru pokryté nádorovými buňkami, včetně souvisejícího intratumorálního a přilehlého peritumorálního stromatu	≥ 1 % IC
Nepřítomnost jakéhokoli rozlišitelného zabarvení PD-L1 NEBO Přítomnost rozlišitelného zabarvení PD-L1 libovolné intenzity v imunitních buňkách infiltrujících nádory pokrývající < 1 % plochy nádoru pokryté nádorovými buňkami, včetně souvisejícího intratumorálního a přilehlého peritumorálního stromatu	< 1 % TC a < 1 % IC

Tloušťka tkáně – NSCLC

Tloušťka tkáně byla vyhodnocena pomocí vzorků NSCLC. Dvojice řezů o tloušťce 3, 4, 5, 6 a 7 mikronů byly barveny testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay a byla u nich vyhodnocena exprese PD-L1 TC a IC. Celkem bylo vyhodnoceno 42 vzorků NSCLC s rozsahem exprese PD-L1 pro každou hladinu IC a TC.

Všechny tloušťky tkání prokázaly správné specifické zabarvení PD-L1 a přijatelné zabarvení pozadí pro barvení VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. U žádného řezu nebyla pozorována žádná změna v hladině PD-L1 v TC ani IC mezi jednotlivými testovanými tloušťkami. Společnost Ventana doporučuje vzorky NSCLC pro barvení testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay řezat na 4 mikrony.

Opakovatelnost a přechodná přesnost – NSCLC

Byly provedeny studie barvení VENTANA PD-L1 (SP142) Assay vzorků NSCLC za účelem prokázání:

- Opakovatelnost v rámci jednoho dne – 5 opakovaných sklíček z každého vzorku NSCLC bylo barveno testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na jediném přístroji BenchMark ULTRA během jediného dne a byla u nich vyhodnocena exprese PD-L1 TC a IC. Celkem bylo vyhodnoceno 66 vzorků NSCLC s rozsahem exprese PD-L1 pro každou hladinu TC a IC.
- Preciznost mezi jednotlivými dny – 10 sklíček od každého vzorku NSCLC bylo barveno testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na jediném přístroji BenchMark ULTRA během 5 po sobě nenásledujících dní. Celkem bylo vyhodnoceno 66 vzorků NSCLC s rozsahem exprese PD-L1 pro každou hladinu exprese TC a IC.
- Preciznost přístroje, protilátky a detekční šarže – minimálně 9 sklíček z každého vzorku NSCLC bylo barveno testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za použití tří šarží protilátky VENTANA PD-L1 (SP142) a tří párů šarží OptiView DAB IHC Detection Kit a OptiView Amplification Kit na třech přístrojích BenchMark ULTRA. Celkem bylo vyhodnoceno 92 vzorků NSCLC s rozsahem exprese PD-L1 pro každou skupinu TC a IC.
- Preciznost v rámci platformy – 2 kopie sklíček z každého vzorku NSCLC byly barveny testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na třech přístrojích BenchMark ULTRA, třech přístrojích BenchMark XT a třech přístrojích BenchMark GX. Celkem bylo vyhodnoceno 38 vzorků NSCLC s rozsahem exprese PD-L1 pro každou hladinu exprese TC a IC. Míra shody byla vypočítána vzhledem k režimu vzorku pro každou platformu.

Všechna sklíčka byla zaslepena, randomizována a poté u nich byla vyhodnocena úroveň exprese PD-L1 v TC nebo IC. Výsledky shrnuje Tabulka 16, Tabulka 17, Tabulka 18 a Tabulka 19.

Tabulka 16. Opakovatelnost a mezilehlá preciznost barvení testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay u vzorků NSCLC (exprese PD-L1 na ≥ 50 % TC)

Parametr opakovatelnosti / přechodné přesnosti	Shoda v % (95 % CI)[a]
Opakovatelnost v rámci jednoho dne (během jednoho dne), 24 vzorků NSCLC	PPA: 100,0 (94,4–100,0) NPA: 100,0 (93,5–100,0) OPA: 100,0 (96,9–100,0)
Přesnost mezi jednotlivými dny (5 po sobě nenásledujících dní), 24 vzorků NSCLC	PPA: 100,0 (97,1–100,0) NPA: 100,0 (96,5–100,0) OPA: 100,0 (98,4–100,0)
Přesnost mezi přístroji a mezi šaržemi (v porovnání s modem úrovně případů, mezi přístroji a šaržemi), 18 vzorků NSCLC	PPA: 99,7 (98,1–99,9) NPA: 95,2 (91,2–97,5) OPA: 97,9 (96,2–98,9)
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark ULTRA), 10 vzorků NSCLC	PPA: 100,0 (88,6–100,0) NPA: 100,0 (88,6–100,0) OPA: 100,0 (94,0–100,0)
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark XT), 10 vzorků NSCLC	PPA: 96,7 (83,3–99,4) NPA: 100,0 (88,6–100,0) OPA: 98,3 (91,1–99,7)
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark GX), 10 vzorků NSCLC	PPA: 100,0 (88,6–100,0) NPA: 100,0 (88,6–100,0) OPA: 100,0 (94,0–100,0)

[a] Oboustranný interval CI podle metody Wilsonova skóre.

Tabulka 17. Opakovatelnost a mezilehlá preciznost barvení testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay u vzorků NSCLC (exprese PD-L1 na ≥ 10 % IC)

Parametr opakovatelnosti / přechodné přesnosti	Shoda v % (95 % CI)
Opakovatelnost v rámci dne (během jediného dne), 24 vzorků 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]
Přesnost mezi jednotlivými dny (5 po sobě nenásledujících dní), 24 vzorků 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]
Shoda mezi protilátkami a mezi detekcemi (párové porovnání), 28 vzorků NSCLC	APA: 95,1 (91,1–98,1) ANA: 90,2 (82,3–96,2) OPA: 93,4 (88,7–97,5)
Shoda mezi přístroji a mezi šaržemi detekčních souprav (párové porovnání), 28 vzorků NSCLC	APA: 96,3 (93,2–98,8) ANA: 92,7 (86,0–97,7) OPA: 95,1 (91,2–98,4)
Shoda mezi přístroji a mezi protilátkami (párové porovnání), 28 vzorků NSCLC	APA: 96,3 (93,1–98,8) ANA: 92,6 (85,9–97,8) OPA: 95,1 (91,1–98,4)
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark ULTRA), 8 vzorků 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]
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark XT), 8 vzorků 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]
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark GX), 8 vzorků 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] Oboustranný interval CI podle metody Wilsonova skóre.

Tabulka 18. Opakovatelnost a mezilehlá preciznost barvení testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay u vzorků NSCLC (exprese PD-L1 na ≥ 1 % TC)

Parametr opakovatelnosti / přechodné přesnosti	Shoda v % (95 % CI)[a]
Opakovatelnost v rámci jednoho dne (během jednoho dne), 10 vzorků NSCLC	PPA: 100,0 (86,7–100,0) NPA: 100,0 (86,7–100,0) OPA: 100,0 (92,9–100,0)
Přesnost mezi jednotlivými dny (5 po sobě nenásledujících dní), 10 vzorků NSCLC	PPA: 100,0 (92,9–100,0) NPA: 100,0 (92,9–100,0) OPA: 100,0 (96,3–100,0)
Preciznost mezi přístroji a mezi šaržemi (v porovnání s modem úrovně případů, mezi přístroji a šaržemi), 18 vzorků NSCLC	PPA: 99,2 (97,0–99,8) NPA: 100,0 (98,4–100,0) OPA: 99,6 (98,5–99,9)
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark ULTRA), 12 vzorků NSCLC	PPA: 100,0 (86,2–100,0) NPA: 95,8 (86,0–98,8) OPA: 97,2 (90,4–99,2)
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark XT), 12 vzorků NSCLC	PPA: 100,0 (86,2–100,0) NPA: 100,0 (92,6–100,0) OPA: 100,0 (94,0–100,0)
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark GX), 12 vzorků NSCLC	PPA: 100,0 (86,2–100,0) NPA: 100,0 (92,6–100,0) OPA: 100,0 (94,0–100,0)

[a] Oboustranný interval CI podle metody Wilsonova skóre.

Tabulka 19. Opakovatelnost a mezilehlá preciznost barvení testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay u vzorků NSCLC (exprese PD-L1 na ≥ 1 % IC)

Parametr opakovatelnosti / přechodné přesnosti	Shoda v % (95 % CI)
Opakovatelnost v rámci jednoho dne (během jednoho dne), 8 vzorků 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]
Přesnost mezi jednotlivými dny (5 po sobě nenásledujících dní), 8 vzorků 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]
Shoda mezi protilátkami a mezi detekcemi (párové porovnání), 28 vzorků NSCLC	APA: 98,4 (95,7–100,0) ANA: 98,3 (95,6–100,0) OPA: 98,4 (95,9–100,0)
Shoda mezi přístroji a mezi detekčními soupravami (párové porovnání), 28 vzorků NSCLC	APA: 98,4 (95,8–100,0) ANA: 98,3 (95,4–100,0) OPA: 98,4 (95,8–100,0)
Shoda mezi přístroji a mezi protilátkami (párové porovnání), 28 vzorků NSCLC	APA: 98,4 (95,9–100,0) ANA: 98,3 (95,5–100,0) OPA: 98,4 (95,8–100,0)
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark ULTRA), 8 vzorků 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]
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark XT), 8 vzorků 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]
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark GX), 8 vzorků 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] Oboustranný interval CI podle metody Wilsonova skóre.

Shoda mezi platformami – NSCLC

Pomocí testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay bylo na jednom přístroji BenchMark ULTRA (referenční), na jednom přístroji BenchMark XT a na jednom přístroji BenchMark GX obarveno jedno sklíčko od každého ze 44 vzorků NSCLC s expresí PD-L1 ve ≥ 50 % TC nebo ≥ 10 % IC (21 PD-L1 ve ≥ 50 % TC nebo ≥ 10 % IC a 23 PD-L1 v < 50 % TC a < 10 % IC) a ze 44 vzorků NSCLC s expresí PD-L1 ve ≥ 1 % TC nebo ≥ 1 % IC (23 PD-L1 ve ≥ 1 % TC nebo ≥ 1 % IC a 21 PD-L1 v < 1 % TC a < 1 % IC).

Všechna sklíčka byla zaslepena a randomizována a následně vyhodnocena pomocí hodnoticího algoritmu testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pro NSCLC (Tabulka 14 pro NSCLC ≥ 50 % TC nebo ≥ 10 % IC a Tabulka 15 pro NSCLC ≥ 1 % TC nebo ≥ 1 % IC). Výsledky shrnuje Tabulka 20 a Tabulka 21.

Tabulka 20. Shoda mezi platformami při barvení vzorků NSCLC testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (exprese PD-L1 ve ≥ 50 % TC nebo ≥ 10 % IC).

Shoda mezi platformami	Shoda v % (95 % CI) [a]
BenchMark ULTRA: BenchMark XT	PPA: 95,2 (77,3–99,2) NPA: 100,0 (85,7–100,0) OPA: 97,7 (88,2–99,6)
BenchMark ULTRA: BenchMark GX	PPA: 95,2 (77,3–99,2) NPA: 100,0 (85,1–100,0) OPA: 97,7 (87,9–99,6)

[a] Oboustranný interval CI podle metody Wilsonova skóre.

Tabulka 21. Shoda mezi platformami při barvení vzorků NSCLC testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (exprese PD-L1 ve ≥ 1 % TC nebo ≥ 1 % IC).

Shoda mezi platformami	Shoda v % (95 % CI) [a]
BenchMark ULTRA: BenchMark XT	PPA: 100,0 (85,7–100,0) NPA: 100,0 (84,5–100,0) OPA: 100,0 (92,0–100,0)
BenchMark ULTRA: BenchMark GX	PPA: 100,0 (85,7–100,0) NPA: 100,0 (84,5–100,0) OPA: 100,0 (92,0–100,0)

[a] Oboustranný interval CI podle metody Wilsonova skóre.

Studie přesnosti hodnotitele – NSCLC

Pro hodnocení přesnosti mezi hodnotiteli a v rámci jednoho hodnotitele vyhodnotili tři patologové 80 jedinečných případů NSCLC s řadou expresí PD-L1, které byly barveny pomocí VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Vzorky byly zaslepeny a randomizovány a následně vyhodnoceny na stav PD-L1 pomocí hodnoticího algoritmu testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pro NSCLC (Tabulka 14 pro NSCLC ≥ 50 % TC nebo ≥ 10 % IC a Tabulka 15 pro NSCLC ≥ 1 % TC nebo ≥ 1 % IC). Hodnotitelé hodnotili všechny vzorky dvakrát s minimálně dvoutýdenním intervalem mezi jednotlivými hodnoceními. Míry shody mezi jednotlivými hodnotiteli a mezi hodnoceními každého jednotlivého patologa shrnuje Tabulka 22 a Tabulka 23.

Tabulka 22. Preciznost hodnotitelů při barvení vzorků NSCLC testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (exprese PD-L1 ve ≥ 50 % TC nebo ≥ 10 % IC).

Přesnost hodnotitele	Shoda v % (95 % CI)
Přesnost mezi hodnotiteli (průměr párových porovnání mezi hodnotiteli z prvního vyhodnocení)	APA: 88,8 (82,0–94,1) ANA: 89,0 (82,2–94,4) OPA: 88,9 (82,8–94,1)
Přesnost v rámci jednoho hodnotitele (průměr míry shody všech tří hodnotitelů mezi prvním a druhým hodnocením)	APA: 93,7 (89,9–96,6) ANA: 93,6 (89,8–96,7) OPA: 93,6 (90,3–96,6)

Tabulka 23. Preciznost hodnotitelů při barvení vzorků NSCLC testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (exprese PD-L1 ve ≥ 1 % TC nebo ≥ 1 % IC).

Přesnost hodnotitele	Shoda v % (95 % CI)
Přesnost mezi hodnotiteli (průměr párových porovnání mezi hodnotiteli z prvního vyhodnocení)	APA: 93,7 (88,8–97,3) ANA: 90,7 (83,3–96,2) OPA: 92,5 (87,5–96,7)
Přesnost v rámci jednoho hodnotitele (průměr míry shody všech tří hodnotitelů mezi prvním a druhým hodnocením)	APA: 95,4 (92,0–98,1) ANA: 93,4 (88,3–97,2) OPA: 94,6 (90,8–97,5)

Studie reprodukovatelnosti mezi laboratořemi – NSCLC

Byla provedena studie reprodukovatelnosti mezi laboratořemi pro barvení VENTANA PD-L1 (SP142) Assay s cílem prokázat reprodukovatelnost testu při stanovení stavu PD-L1 ve vzorcích tkáně NSCLC. Dvacet osm unikátních vzorků NSCLC s řadou expresí PD-L1 bylo barveno ve 3 externích laboratořích, a to vždy po dobu 5 po sobě nenásledujících dnů během minimálně 20 dní. Před barvením byly vzorky zaslepeny a randomizovány. Na každém pracovišti byla obarvená sklíčka nezávisle vyhodnocena 2 patology (hodnotiteli) za použití hodnotícího algoritmu testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pro NSCLC (Tabulka 14 pro NSCLC ≥ 50 % TC nebo ≥ 10 % IC a Tabulka 15 pro NSCLC ≥ 1 % TC nebo ≥ 1 % IC). Výsledky shrnuje Tabulka 24 a Tabulka 25.

Tabulka 24. Reprodukovatelnost mezi laboratořemi při barvení vzorků NSCLC testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (exprese PD-L1 ve ≥ 50 % TC nebo ≥ 10 % IC).

Reprodukovatelnost mezi laboratořemi	Shoda v % (95 % CI)
Celková shoda (v porovnání s konsenzuálním skóre, mezi pracovišti, dny a hodnotiteli)	PPA: 86,6 (83,0–89,5)[a] NPA: 99,8 (98,7–100,0)[a] OPA: 93,2 (91,3–94,7)[a]
Shoda mezi pracovišti (průměr párových porovnání mezi pracovišti)	APA: 89,5 (80,9–95,5) ANA: 92,1 (84,4–97,1) OPA: 91,0 (90,3–91,6)[a]
Shoda mezi hodnotiteli (průměr párových porovnání mezi hodnotiteli v rámci jednotlivých pracovišť)	APA: 93,9 (89,3–97,4) ANA: 95,4 (90,6–98,2) OPA: 94,7 (92,2–96,5)[a]

[a] Oboustranný interval CI podle metody Wilsonova skóre.

Tabulka 25. Reprodukovatelnost mezi laboratořemi při barvení vzorků NSCLC testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (exprese PD-L1 ve ≥ 1 % TC nebo ≥ 1 % IC).

Reprodukovatelnost mezi laboratořemi	Shoda v % (95 % CI)
Celková shoda (v porovnání s konsenzuálním skóre, mezi pracovišti, dny a hodnotiteli)	PPA: 97,1 (94,9–98,3)[a] NPA: 89,9 (86,6–92,5)[a] OPA: 93,5 (91,6–95,0)[a]
Shoda mezi pracovišti (průměr párových porovnání mezi pracovišti)	APA: 88,4 (78,9–94,1) ANA: 86,6 (79,6–92,2) OPA: 87,6 (86,8–88,3)[a]
Shoda mezi hodnotiteli (průměr párových porovnání mezi hodnotiteli v rámci jednotlivých pracovišť)	APA: 89,2 (80,8–94,3) ANA: 87,5 (81,3–92,5) OPA: 88,4 (84,9–91,2)[a]

[a] Oboustranný interval CI podle metody Wilsonova skóre.

Studie klinického výsledku – NSCLC ≥ 50 % TC nebo ≥ 10 % IC

Funkční charakteristiky testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay byly zkoumány ve studii OAK (NCT02008227), multicentrické, mezinárodní, randomizované, otevřené studii fáze III navržené k vyhodnocení účinnosti a bezpečnosti léčby přípravkem TECENTRIQ u pacientů s lokálně pokročilým nebo metastatickým NSCLC, u nichž došlo k progresi během léčby s obsahem platiny nebo následně po ní.

Vzorky pacientů byly obarveny testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay a byla u nich vyhodnocena přijatelnost barvení a exprese PD-L1. Vzorky pacientů byly FFPE tkáně NSCLC z jehlové biopsie (34,5 %), punch biopsie (16,3 %), resekce (28,7 %) nebo jiných zdrojů (20,5 %); 66,6 % pocházelo z primárních nádorů a 33,4 % metastatických nádorů.

Tabulka 26 popisuje celkovou míru přijatelnosti barvení testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay mezi všemi vzorky NSCLC sledovanými pro účely studie. Je rovněž popsána míra přijatelné morfologie a přijatelného pozadí pro obarvené preparáty PD-L1. Z celkového počtu 1185 vzorků 72 vzorků neprošlo prvním pokusem o barvení a bylo třeba barvení opakovat. 26 ze 72 vzorků bylo nepřijatelných (1 kvůli nepřijatelné kontrolní tkáni mandlí, 19 kvůli nepřijatelné negativní reagenční kontrole a 6 kvůli nepřijatelnému pozadí či morfologii). Test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay vykazoval vysokou prvotní (tj. na první pokus) a konečnou celkovou přijatelnost barvení: 93,9 %, resp. 97,8 %. Konečné míry přijatelnosti morfologie a pozadí byly vyšší než 99 %.

Tabulka 26. Funkční charakteristiky testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay při barvení vzorků NSCLC pro studii OAK (NCT02008227).

Atribut	Míra přijatelnosti v % (n/N) (95 % CI)[a]	
	První[b]	Konečná[c]
Celková míra přijatelnosti barvení	93,9 (1 113/1 185) (92,4–95,1)	97,8 (1 159/1 185) (96,8–98,5)
Morfologie	98,5 (1 122/1 139) (97,6–99,1)	99,6 (1 160/1 165) (99,0–99,8)
Pozadí	98,2 (1 119/1 139) (97,3–98,9)	99,7 (1 161/1 165) (99,1–99,9)

[a] Oboustranný interval CI podle metody Wilsonova skóre.

[b] První pokus o barvení. [c] Konečný pokus o barvení.

Studie OAK zahrnovala 1 225 pacientů a primární analyzovaná populace byla tvořena prvními 850 randomizovanými pacienty. Vhodní pacienti byli stratifikováni dle stavu exprese PD-L1 v buňkách IC, dle počtu předešlých chemoterapeutických léčeb a dle histologie. Pacienti byli randomizováni (1:1), přičemž obdrželi buď TECENTRIQ podávaný nitrožilně v množství 1 200 mg každé 3 týdny až do stavu nepřijatelné toxicity nebo radiografické nebo klinické progrese, nebo docetaxel podávaný nitrožilně v množství 75 mg/m^2 každé 3 týdny až do ztráty klinického přínosu podle posouzení zkoušejícího. Vzorky nádoru byly hodnoceny prospektivně pro expresi PD-L1 na TC a IC za použití VENTANA PD-L1 (SP142) Assay a výsledky byly použity pro definování podskupin exprese PD-L1 pro předem specifikované analýzy popsané níže.

Ve studii OAK byl u pacientů v primární analyzované skupině medián věku 64 let (rozsah: 33 až 85) a 61 % pacientů byli muži. Většina pacientů byli běloši (70 %). Přibližně tři čtvrtiny pacientů mělo neskvamózní onemocnění (74 %), 10 % mělo známou mutaci v EGFR, 0,2 % mělo známé přestavby v ALK a většina pacientů byla stále nebo v minulosti kuřáky (82 %). Výkonnostní stav výchozí úrovně ECOG byl 0 (37 %) nebo 1 (63 %). Sedmdesát pět procent pacientů předtím podstoupilo pouze jedu léčbu založenou na platině. Hlavním měřítkem účinnosti studie OAK bylo celkové přežití (OS) v primární analyzované populaci (prvních 850 randomizovaných pacientů). Výsledky studie OAK s mediánem doby následného sledování 21 měsíců uvádí Tabulka 27 a obrázek 2.

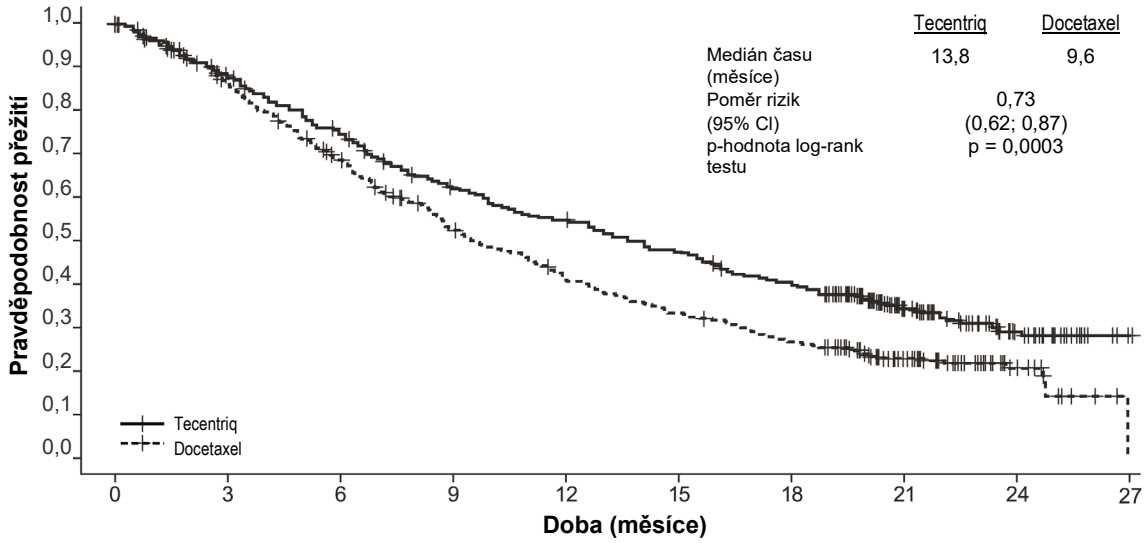
Vzorky nádoru byly hodnoceny prospektivně pomocí VENTANA PD-L1 (SP142) Assay v centrální laboratoři a výsledky byly použity pro definování podskupin exprese PD-L1 pro předem specifikované analýzy. Z 850 pacientů bylo 16 % klasifikováno jako pacienti s vysokou expresí PD-L1, která byla definovaná jako exprese PD-L1 na ≥ 50 % TC nebo ≥ 10 % IC. Při průzkumné analýze úspěšnosti OS u podskupin na základě exprese PD-L1 byl poměr rizik 0,41 (95% CI: 0,27, 0,64) u podskupiny s vysokou expresí PD-L1 a 0,82 (95% CI: 0,68, 0,98) u pacientů, u kterých nebyla vysoká exprese PD-L1.

Tabulka 27. Výsledky účinnosti v primární analyzované populaci ze studie OAK (NCT02008227).

Celkové přežití (OS)	Atezolizumab (N = 425)	Docetaxel (N = 425)
Úmrtí (%)	271 (64)	298 (70)
Medián, měsíce (95% CI)	13,8 (11,8; 15,7)	9,6 (8,6; 11,2)
Poměr rizik[a] (95% CI)	0,73 (0,62; 0,87)	
p-hodnota[b]	0,0003	
OS 12 měsíců (%)	218 (55)	151 (41)
OS 18 měsíců (%)	157 (40)	98 (27)

[a] Stratifikováno podle exprese PD-L1 v imunitních buňkách infiltrujících nádory, počtu léčeb před chemoterapií a histologie.

[b] Založeno na stratifikovaném log-rank testu. CI = interval spolehlivosti.



Počet ohrožených pacientů

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

Poměr rizik je odhadnutý na základě stratifikovaného Coxova modelu; p-hodnota je odhadnutá na základě stratifikovaného log-rank testu.

Obrázek 2. Kaplan-Meierova křivka celkového přežití v primární analyzované populaci studie OAK (NCT02008227).

Studie klinického výsledku – NSCLC ≥ 1 % TC nebo ≥ 1 % IC

Účinnost přípravku TECENTRIQ byla zkoumána ve studii IMpower150 (NCT02366143), multicentrické, mezinárodní, randomizované, otevřené studii u pacientů s metastatickým neskvamózním NSCLC, kteří dosud nebyli léčeni chemoterapií. Zahrnuto bylo celkem 1 202 pacientů, kteří byli stratifikováni podle pohlaví, přítomnosti jaterních metastáz a exprese PD-L1 na buňkách TC a IC. Pacienti byli náhodně rozděleni (v poměru 1:1:1) do následujících tří terapeutických sekcí:

- 1 200 mg přípravku TECENTRIQ (atezolizumab) s paclitaxelem a karboplatinou každé 3 týdny po dobu čtyř až šesti cyklů a následně 1 200 mg atezolizumabu každé 3 týdny až do ztráty klinického přínosu (sekce A).
- 1 200 mg přípravku TECENTRIQ (atezolizumab) s bevacizumabem, paclitaxelem a karboplatinou každé 3 týdny po dobu čtyř až šesti cyklů a následně 1 200 mg atezolizumabu až do ztráty klinického přínosu a bevacizumab každé 3 týdny až do progrese onemocnění nebo nepřijatelné toxicity (sekce B).
- Bevacizumab s paclitaxelem a karboplatinou každé 3 týdny po dobu čtyř až šesti cyklů a následně bevacizumab každé 3 týdny až do progrese onemocnění nebo nepřijatelné toxicity (sekce C).

Demografické údaje a výchozí charakteristiky onemocnění ve studované populaci byly mezi těmito terapeutickými sekcemi rovnoměrně rozložené. Medián věku byl 63 let (rozsah: 31 až 90) a 60% pacientů byli muži. Většina pacientů byli běloši (82 %).

U přibližně 10 % pacientů byla známa mutace EGFR, u 4 % pacientů přestavby v ALK, 14 % pacientů mělo jaterní metastázi ve výchozím stavu a většina pacientů byli kuřáci nebo bývalí kuřáci (80 %). Výkonnostní stav výchozí úrovně ECOG byl 0 (43 %) nebo 1 (57 %). V 51 % nádorů pacientů byla exprese PD-L1 ve ≥ 1 % TC nebo ≥ 1 % IC a v 49 % nádorů pacientů byla exprese PD-L1 v < 1 % TC a < 1 % IC.

V době finální analýzy parametru PFS měli pacienti medián následného sledování 15,3 měsíců. V populaci ITT, včetně pacientů s mutacemi EGFR nebo přestavbami v ALK, kteří měli být dříve léčeni inhibitory tyrozinkináz, se projevilo klinicky významné zlepšení parametru PFS v sekcí B v porovnání se sekcí C (HR 0,61, 95% CI: 0,52, 0,72; medián PFS 8,3 vs. 6,8 měsíců).

V době předběžné analýzy parametru OS měli pacienti medián následného sledování 19,7 měsíců. Klíčové výsledky z této analýzy, stejně jako aktualizovanou analýzu parametru PFS v populaci ITT, shrnuje Tabulka 28. Kaplan-Meierova křivka pro OS v populaci ITT je uvedena na obrázku 3. Obrázek 5 shrnuje výsledky parametru OS v podskupinách ITT a PD-L1. Aktualizované výsledky PFS jsou rovněž uvedeny na obrázcích 4 a 6.

Tabulka 28. Výsledky účinnosti pro populaci původního léčebného záměru (Intent-to-Treat, ITT) ve studii IMpower150.

Cílové parametry účinnosti	Sekce A (atezolizumab + paclitaxel + karboplatina)	Sekce B (atezolizumab + bevacizumab + paclitaxel + karboplatina)	Sekce C (bevacizumab + paclitaxel + karboplatina)
Sekundární cílové parametry[a]			
PFS stanovené zkoušejícím (RECIST v1.1)[g]	n = 402	n = 400	n = 400
Počet událostí (%)	330 (82,1)	291 (72,8)	355 (88,8)
Medián doby trvání PFS (měsíce)	6,7	8,4	6,8
95 % CI	(5,7; 6,9)	(8,0; 9,9)	(6,0; 7,0)
Stratifikovaný poměr rizik[e],[f] (95 % CI) p-hodnota[b],[c]	0,91 (0,78; 1,06) 0,2194	0,59 (0,50; 0,69) < 0,0001	---
PFS 12 měsíců (%)	24	38	20
OS Předběžná analýza[g]	n = 402	n = 400	n = 400
Počet úmrtí (%) Medián doby do událostí (měsíce) 95 % CI	206 (51,2) 19,5 (16,3; 21,3)	192 (48,0) 19,8 (17,4; 24,2)	230 (57,5) 14,9 (13,4; 17,1)
Stratifikovaný poměr rizik[e],[f] (95 % CI) p-hodnota[b],[c]	0,85 (0,71; 1,03) 0,0983	0,76 (0,63; 0,93) 0,006	---
OS 6 měsíců (%)	84	85	81
OS 12 měsíců (%)	66	68	61
Celková nejlepší odezva stanovená zkoušejícím[d],[g] (RECIST 1.1)	n = 401	n = 397	n = 393
Počet respondentů (%)	163 (40,6)	224 (56,4)	158 (40,2)
95 % CI	(35,8; 45,6)	(51,4; 61,4)	(35,3; 45,2)
Počet úplných odpovědí (%)	8 (2,0)	11 (2,8)	3 (0,8)
Počet částečných odpovědí (%)	155 (38,7)	213 (53,7)	155 (39,4)
DOR stanovená zkoušejícím[g] (RECIST v1.1)	n = 163	n = 224	n = 158
Medián v měsících	8,3	11,5	6,0
95 % CI	(7,1; 11,8)	(8,9; 15,7)	(5,5; 6,9)

[a] Primární cílové parametry účinnosti byly parametry PFS a OS a byly analyzovány v populaci divokého typu ITT (WT), tj. bez pacientů s mutacemi EGFR nebo přestavbami v ALK.

[b] Založeno na stratifikovaném log-rank testu.

[c] Pro informativní účely. V populaci ITT nebylo zatím oficiálně testováno porovnání sekce B a sekce C ani sekce A a sekce C vzhledem k předem určené hierarchii analýzy.

[d] Celková nejlepší odpověď pro úplnou odpověď a částečnou odpověď.

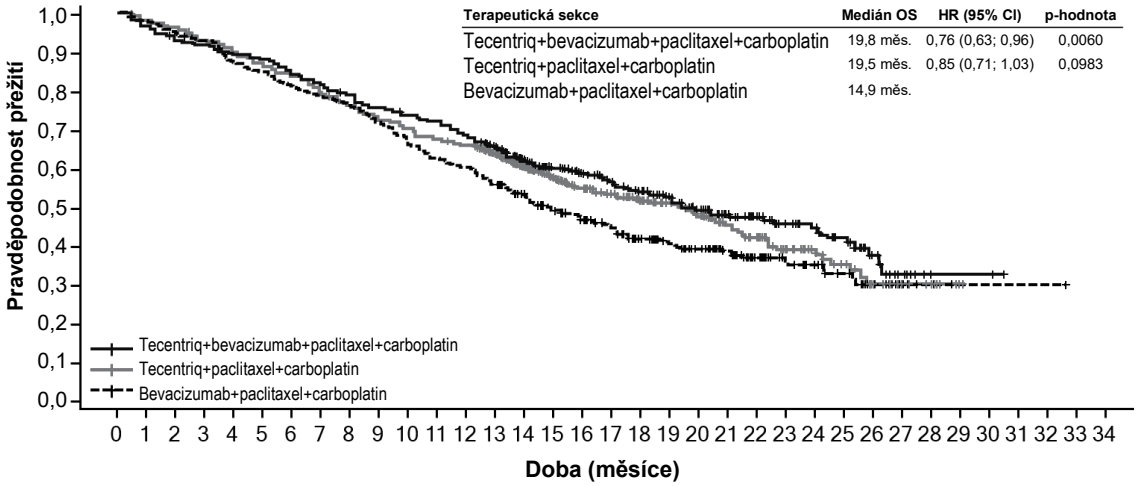
[e] Stratifikováno podle pohlaví, přítomnosti jaterních metastáz a exprese PD-L1 v nádoru na TC a IC.

[f] Sekce C je porovnávací skupina pro všechny poměry rizik.

[g] Aktualizovaná analýza parametru PFS a předběžná analýza parametru OS 22. ledna 2018.

PFS = přežití bez progrese; RECIST = Response Evaluation Criteria in Solid Tumors v1.1.

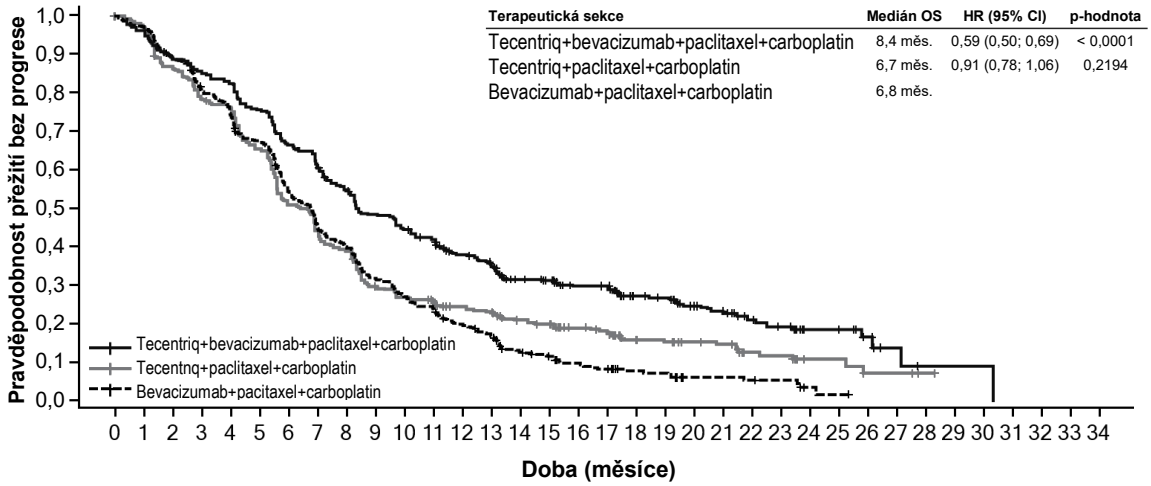
CI = interval spolehlivosti; DOR = délka trvání odpovědi; OS = celkové přežití.



Počet ohrožených pacientů

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

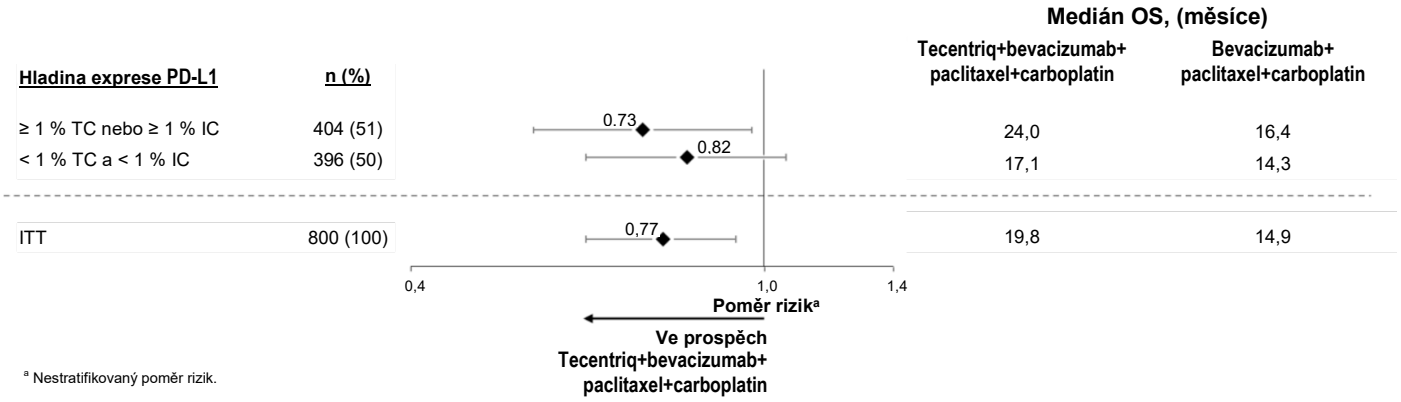
Obrázek 3. Kaplan-Meierova křivka celkového přežití ve studii IMpower150.



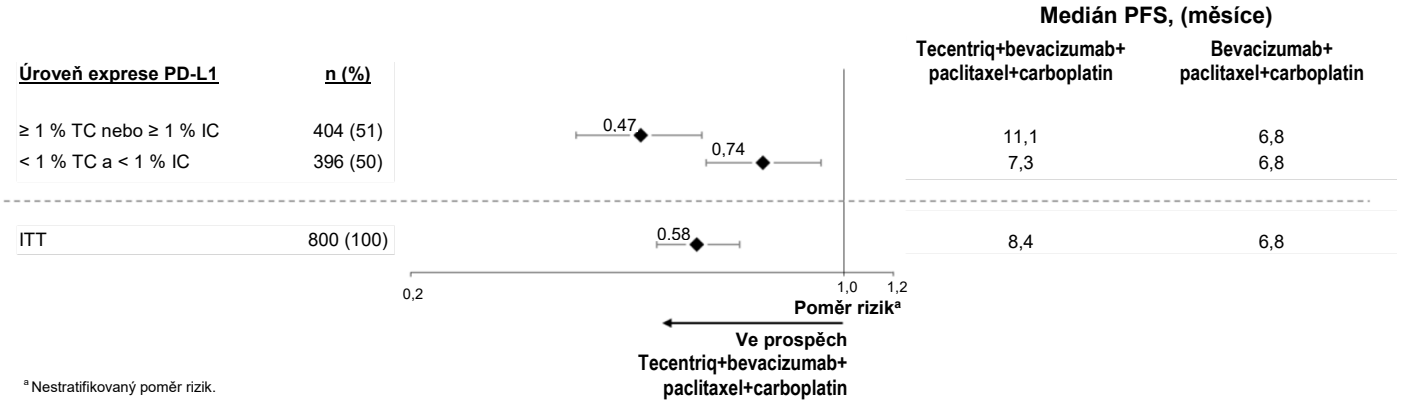
Počet ohrožených pacientů

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

Obrázek 4. Kaplan-Meierova křivka přežití bez progrese ve studii IMpower150.



Obrázek 5. Graf typu forest pro celkové přežití ve studii IMpower150, sekce B vs. sekce C.



Obrázek 6. Graf typu forest pro přežití bez progrese ve studii IMpower150, sekce B vs. sekce C.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY – TNBC

Hodnotící algoritmus – TNBC

Tkáň TNBC musí být hodnocena podle hodnoticího algoritmu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pro TNBC, viz Tabulka 29. Další pokyny a reprezentativní obrázky jsou uvedeny v interpretační příručce (P/N 1018231EN).

Tabulka 29. Hodnoticí algoritmus VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pro TNBC.

Vyhodnocení barvení imunitních buněk (IC)[a]	Exprese PD-L1
Nepřítomnost jakéhokoli rozlišitelného zabarvení PD-L1 NEBO Přítomnost rozlišitelného zabarvení PD-L1 libovolné intenzity v imunitních buňkách infiltrujících nádory pokrývající < 1 % plochy nádoru pokryté nádorovými buňkami, včetně souvisejícího intratumorálního a přilehlého peritumorálního stromatu	< 1% IC
Přítomnost rozlišitelného zabarvení PD-L1 libovolné intenzity v imunitních buňkách infiltrujících nádory pokrývající ≥ 1 % plochy nádoru pokryté nádorovými buňkami, včetně souvisejícího intratumorálního a přilehlého peritumorálního stromatu	≥ 1% IC

[a] Barvení PD-L1 v nádorových buňkách nepoužívejte při hodnocení pacientské tkáně TNBC.

Tloušťka tkáně – TNBC

Tloušťka tkáně byla hodnocena pomocí 10 jedinečných vzorků TNBC (5 PD-L1 ≥ 1 % IC a 5 PD-L1 < 1 % IC). U každého případu se testovaly duplikáty řezů o tloušťce 2, 3, 4, 5, 6 a 7 mikronů. U všech tlouštěk tkání došlo ke správnému specifickému zabarvení PD-L1 a přijatelnému zabarvení pozadí při barvení testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. U žádného řezu nebyla pozorována žádná změna ve stavu PD-L1 mezi jednotlivými testovanými tloušťkami. Společnost Ventana doporučuje vzorky pro barvení testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay řezat na 4 mikrony.

Opakovatelnost a přechodná přesnost – TNBC

Byly provedeny studie barvení VENTANA PD-L1 Assay vzorků TNBC za účelem prokázání:

- Opakovatelnost v rámci jednoho dne – 5 kopií sklíček od každého z 24 jedinečných vzorků TNBC (12 PD-L1 ≥ 1 % IC a 12 PD-L1 < 1 % IC) bylo barveno testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na jediném přístroji BenchMark ULTRA během jediného dne.
- Preciznost mezi jednotlivými dny – 10 sklíček od každého z 24 jedinečných vzorků TNBC (12 vzorků s expresí PD-L1 na ≥ 1 % IC a 12 vzorků s expresí PD-L1 na < 1 % IC) bylo barveno testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na jediném přístroji BenchMark ULTRA během 5 po sobě nenásledujících dní.
- Preciznost mezi přístroji a mezi šaržemi – 27 sklíček od každého z 24 jedinečných vzorků TNBC (12 PD-L1 ≥ 1 % IC a 12 PD-L1 na < 1 % IC) bylo barveno testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay s použitím tří šarží protilátky VENTANA PD-L1 (SP142) a tří párů šarží OptiView DAB IHC Detection Kit a OptiView Amplification Kit na třech přístrojích BenchMark ULTRA.

Všechna sklíčka byla zaslepena a randomizována a poté vyhodnocena podle hodnoticího algoritmu testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pro TNBC (Tabulka 29). Výsledky shrnuje Tabulka 30.

Tabulka 30. Opakovatelnost a mezilehlá preciznost barvení testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay u vzorků TNBC.

Parametr opakovatelnosti / přechodné přesnosti	Shoda v % (95 % CI)
Opakovatelnost v rámci jednoho dne (během jednoho dne)	PPA: 100,0 (94,0–100,0) NPA: 95,0 (87,2–100,0) OPA: 97,5 (93,3–100,0)
Přesnost mezi jednotlivými dny (5 po sobě nenásledujících dnů)	PPA: 100,0 (96,9–100,0) NPA: 96,7 (92,7–100,0) OPA: 98,3 (96,3–100,0)
Přesnost mezi přístroji a mezi šaržemi (3 přístroje, 3 šarže protilátky a 3 šarže detekční a amplifikační soupravy)	PPA: 98,3 (96,0–100,0) NPA: 99,2 (97,2–100,0) OPA: 98,6 (97,1–99,8)
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark ULTRA)	PPA: 100,0 (88,6–100,0) NPA: 96,7 (88,9–100,0) OPA: 98,3 (95,0–100,0)
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark XT)	PPA: 100,0 (88,6–100,0) NPA: 100,0 (88,6–100,0) OPA: 100,0 (94,0–100,0)
Přesnost v rámci platformy (tři přístroje BenchMark GX)	PPA: 93,3 (83,3–100,0) NPA: 96,7 (88,9–100,0) OPA: 95,0 (90,0–100,0)

Shoda mezi platformami – TNBC

Jedno sklíčko od každého ze 44 jedinečných vzorků TNBC (22 PD-L1 ≥ 1 % IC a 22 PD-L1 < 1 % IC) bylo obarveno testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na jednom přístroji BenchMark ULTRA (referenční), jednom BenchMark XT a jednom BenchMark GX. Všechna sklíčka byla zaslepena a randomizována a poté vyhodnocena podle hodnoticího algoritmu testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pro TNBC (Tabulka 29). Výsledky shrnuje Tabulka 31.

Tabulka 31. Shoda mezi platformami při barvení vzorků TNBC testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Shoda mezi platformami	Shoda v % (95 % CI)[a]
BenchMark ULTRA: BenchMark XT	PPA: 100,0 (86,2–100,0) NPA: 90,0 (69,9–97,2) OPA: 95,5 (84,9–98,7)
BenchMark ULTRA: BenchMark GX	PPA: 100,0 (86,2–100,0) NPA: 85,0 (64,0–94,8) OPA: 93,2 (81,8–97,7)

[a] Oboustranný interval CI podle metody Wilsonova skóre.

Preciznost hodnotitelů – TNBC

Ke zjištění preciznosti mezi hodnotiteli a v rámci jednoho hodnotitele vyhodnocovali tři patologové 60 jedinečných vzorků TNBC (30 PD-L1 ≥ 1 % IC a 30 PD-L1 < 1 % IC), které byly obarveny testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Vzorky byly před vyhodnocením stavu PD-L1 za použití hodnoticího algoritmu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na TNBC zaslepeny a randomizovány (Tabulka 29). Hodnotitelé hodnotili všechny vzorky dvakrát s minimálně dvoutýdenním intervalem mezi jednotlivými hodnoceními. Míry shody mezi jednotlivými hodnotiteli a mezi výsledky každého jednotlivého patologa shrnuje Tabulka 32.

Tabulka 32. Preciznost mezi hodnotiteli a v rámci jednoho hodnotitele při barvení vzorků TNBC testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Přesnost hodnotitele	Shoda v % (95 % CI)
Přesnost mezi hodnotiteli (průměr párových porovnání mezi hodnotiteli z prvního vyhodnocení)	APA: 91,1 (84,2–96,6) ANA: 91,1 (84,1–96,7) OPA: 91,1 (85,6–96,7)
Přesnost v rámci jednoho hodnotitele (průměr míry shody všech tří hodnotitelů mezi prvním a druhým hodnocením)	APA: 93,8 (89,5–97,1) ANA: 93,9 (89,2–97,3) OPA: 93,9 (89,9–97,2)

Studie reprodukovatelnosti mezi laboratořemi – TNBC

Byla provedena studie reprodukovatelnosti mezi laboratořemi pro test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay s cílem prokázat reprodukovatelnost testu při stanovení stavu PD-L1 ve vzorcích TNBC. Dvacet osm jedinečných vzorků TNBC (14 PD-L1 ≥ 1 % IC a 14 PD-L1 < 1 % IC) bylo barveno ve 3 externích laboratořích v každém z 5 po sobě nenásledujících dní v období o délce alespoň 20 dní. Před barvením byly vzorky zaslepeny a randomizovány. Na každém z pracovišť byly barvené vzorky nezávisle vyhodnoceny 2 patology (hodnotiteli). Konečná procentuální hodnota přijatelnosti barvení pro test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay byla v této studii 98,6%. Výsledky shrnuje Tabulka 33.

Tabulka 33. Reprodukovatelnost mezi laboratořemi při barvení vzorků TNBC testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Reprodukovatelnost mezi laboratořemi	Shoda v % (95 % CI)
Celková shoda (v porovnání s konsenzuálním skóre, mezi pracovišti, dny a hodnotiteli)	PPA: 93,2 (90,4–95,2)[a] NPA: 96,6 (94,4–98,0)[a] OPA: 94,8 (93,1–96,1)[a]
Shoda mezi pracovišti (průměr párových porovnání mezi pracovišti)	APA: 91,5 (84,0–96,6) ANA: 91,3 (83,6–96,4) OPA: 91,4 (90,7–92,0)[a]
Shoda mezi hodnotiteli (průměr párových porovnání mezi hodnotiteli v rámci jednotlivých pracovišť)	APA: 93,6 (88,2–97,0) ANA: 93,3 (87,8–96,7) OPA: 93,4 (90,6–95,4)[a]

[a] Oboustranný interval CI podle metody Wilsonova skóre.

Studie klinických výsledků – TNBC

Funkční charakteristiky testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay byly zkoumány ve studii IMpassion130 (NCT02425891), dvojitě zaslepené, multicentrické, mezinárodní, randomizované, placebem kontrolované studie fáze III se dvěma sekcemi, která byla provedena za účelem zhodnocení účinnosti a bezpečnost přípravku TECENTRIQ v kombinaci s nab-paclitaxelem u pacientů s neresekovatelným lokálně pokročilým nebo metastatickým TNBC, kteří nebyli dříve léčení chemoterapií na metastatické onemocnění.

Vzorky pacientů byly obarveny testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay a byla u nich vyhodnocena přijatelnost barvení a exprese PD-L1. Vzorky pacientů byly FFPE tkáně TNBC z biopsií (66,8 %), resekcí (29,3 %) nebo jiných zdrojů (3,9 %); 64,7 % pocházelo z primárních nádorů a 35,3 % metastatických nádorů.

Tabulka 34 popisuje celkovou míru přijatelnosti barvení testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay mezi všemi vzorky TNBC sledovanými pro účely studie. Rovněž jsou uvedena procenta přijatelné morfologie a přijatelného pozadí u sklíček barvených na PD-L1. 52 vzorků z celkového počtu 1 284 vzorků neprošlo prvním pokusem o barvení a u 49 vzorků bylo barvení zopakováno. Zůstalo 23 nepřijatelných vzorků (17 z těchto 23 vzorků bylo způsobeno nepřijatelnou negativní reagenční kontrolou a 6 nepřijatelným pozadím nebo morfologií). Test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay vykazoval vysokou prvotní (tj. na první pokus) a konečnou celkovou přijatelnost barvení: 96,0 %, resp. 98,0 %. Konečné míry přijatelnosti morfologie a pozadí byly vyšší než 98%.

Tabulka 34. Funkční charakteristiky testu VENTANA PD-L1 (SP142) Assay při barvení TNBC.

Atribut	Míra přijatelnosti v % (n/N) (95 % CI)[a]	
	První[b]	Konečná[c]
Celková míra přijatelnosti barvení	96,0 (1 232/1 284) (94,7–96,9)	98,0 (1 258/1 284) (97,0–98,6)
Morfologie	98,4 (1 232/1 252) (97,5–99,0)	99,5 (1 258/1 264) (99,0–99,8)
Pozadí	100,0 (1 232/1 232) (99,7–100,0)	100,0 (1 258/1 258) (99,7–100,0)

[a] Oboustranný interval CI podle metody Wilsonova skóre.

[b] První pokus o barvení. [c] Konečný pokus o barvení.

Studie IMpassion130 zahrnovala 902 pacientů; vyhovující pacienti byli stratifikováni podle přítomnosti jaterních metastáz, dřívější léčby taxanem a exprese PD-L1 v buňkách IC (IC < 1 % plochy tumoru vs. ≥ 1 % plochy tumoru) stanovené testem VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Pacienti byli randomizováni pro užívání atezolizumabu (840 mg) nebo placeba v intravenózních infuzích 1. a 15. den každého 28 denního cyklu plus nab-paclitaxelu (100 mg/m^2) podávaného v intravenózních infuzích 1., 8. a 15. den každého 28deního cyklu. Pacienti podstupovali léčbu až do radiografického potvrzení progrese onemocnění podle RECIST v1.1 nebo do dosažení nepřijatelné toxicity.

Demografické údaje a výchozí charakteristiky onemocnění ve studované populaci byly mezi těmito terapeutickými sekcemi rovnoměrně rozložené. Většina pacientů byli ženy (99,6 %), 67,5 % byli běloši a 17,8 % Asiaté. Medián věku byl 55 let (rozsah: 20–86). Výkonnostní stav výchozí úrovně ECOG byl 0 (58,4 %) nebo 1 (41,3%). Celkem 41 % zúčastněných pacientů mělo expresi PD-L1 na ≥ 1 % IC, 27 % mělo jaterní metastázy a 7 % asymptomatické mozkové metastázy při začátku studie. Přibližně polovina pacientů dříve dostávala taxan (51 %) nebo antracyklin (54 %) v (neo)adjuvantní léčbě. Demografické údaje o pacientech a výchozí stav nádorového onemocnění pacientů s expresí PD-L1 ≥ 1 % IC obecně charakterizovaly širší studovanou populaci.

Společné primární cílové parametry účinnosti zahrnovaly přežití bez progrese stanovenou zkoušejícím (PFS) v populaci ITT a u pacientů s expresí PD-L1 ≥ 1 % IC podle RECIST v1.1 a celkové přežití (OS) v populaci ITT a u pacientů s expresí PD-L1 ≥ 1 % IC. Sekundární cílové parametry účinnosti zahrnovaly míru objektivní odpovědi (ORR) a dobu trvání odpovědi (DOR) podle RECIST v1.1.

Výsledky PFS, ORR a DOR pro IMpassion130 u pacientů s PD-L1 expresí IC ≥ 1 % v době závěrečné analýzy PFS při mediánu doby následného sledování 13 měsíců jsou shrnuty v Tabulce 35 spolu s Kaplan-Meierovými křivkami pro PFS na Obrázku 7. U pacientů s expresí PD-L1 na < 1 % IC nedošlo ke zlepšení parametru PFS, když byl atezolizumab podáván s nab-paclitaxelem (HR 0,94, 95% CI 0,78, 1,13).

Byla provedena aktualizována analýza OS s mediánem následného sledování 18 měsíců a výsledky OS uvádí tabulka Tabulka 35 a Kaplan-Meierova křivka na obrázku 8. U pacientů s expresí PD-L1 na < 1 % IC nedošlo ke zlepšení parametru OS, když byl atezolizumab podáván s nab-paclitaxelem (HR 0,97, 95% CI 0,78, 1,20). V době aktualizované analýzy OS byla provedena průzkumná analýza PFS, tak jak popisuje Tabulka 35.

Tabulka 35. Výsledky účinnosti ze studie IMpassion130 u pacientů s expresí PD-L1 ≥ 1 % IC.

Klíčové cílové parametry	Atezolizumab + nab-paclitaxel	Placebo + nab-paclitaxel
Primární cílové parametry	n = 185	n = 184
PFS stanovená zkoušejícím (RECIST v1.1)[c]		
Počet událostí (%)	138 (74,6)	157 (85,3)
Medián doby trvání PFS (měsíce)	7,5	5,0
95 % CI	(6,7; 9,2)	(3,8; 5,6)
Stratifikovaný poměr rizik[c] (95 % CI)	0,62 (0,49; 0,78)	
p-hodnota[a]	< 0,0001	
PFS 12 měsíců (%)	29,1	16,4
Zkoušejícím hodnocený PFS (RECIST v1.1) – Aktualizovaná průzkumná analýza[d]		
Počet událostí (%)	149 (80,5 %)	163 (88,6%)
Medián trvání PFS (měsíce)	7,5	5,3
95 % CI	(6,7; 9,2)	(3,8; 5,6)
Stratifikovaný poměr rizik[e] (95 % CI)	0,63 (0,50–0,80)	
p-hodnota[a]	< 0,0001	
12 měsíců PFS (%)	30,3	17,3
OS[a,b,d]		
Počet úmrtí (%)	94 (50,8)	110 (59,8)
Medián doby do události (měsíce)	25,0	18,0
95 % CI	(19,55; 30,65)	(13,63; 20,07)
Stratifikovaný poměr rizik[e] (95 % CI)	0,71 (0,54; 0,93)	
Sekundární a explorační cílové parametry		
ORR stanovená zkoušejícím (RECIST 1.1)[c]	n = 185	n = 183
Počet respondentů (%)	109 (58,9)	78 (42,6)
95 % CI	(51,5; 66,1)	(35,4; 50,1)
Počet úplných odpovědí (%)	19 (10,3)	2 (1,1 %)
Počet částečných odpovědí (%)	90 (48,6)	76 (41,5)
Počet stabilních onemocnění	38 (20,5)	49 (26,8)
DOR stanovená zkoušejícím	n = 109	n = 78
Medián v měsících	8,5	5,5
95 % CI	(7,3; 9,7)	(3,7; 7,1)

[a] Založeno na stratifikovaném log-rank testu.

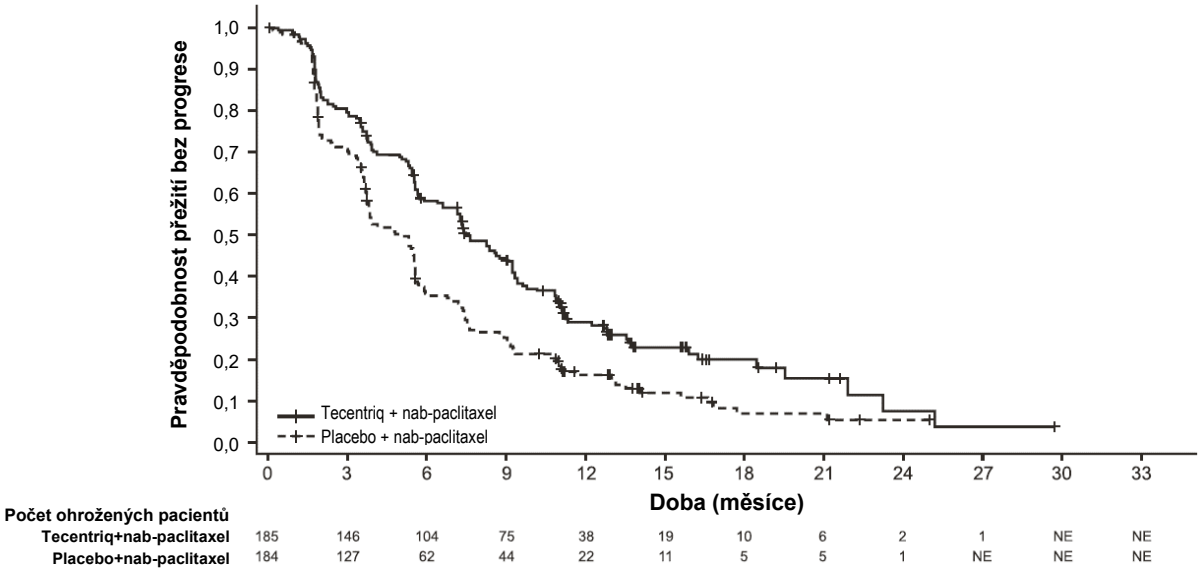
[b] Porovnání OS mezi terapeutickými sekcemi u pacientů s expresí PD-L1 ≥ 1 % nebyly oficiálně testovány vzhledem k předem určené hierarchii analýzy.

[c] Podle závěrečné analýzy pro PFS, ORR, DOR a první předběžné analýzy pro OS v klinickém mezním (cut off) bodě 17· dubna 2018

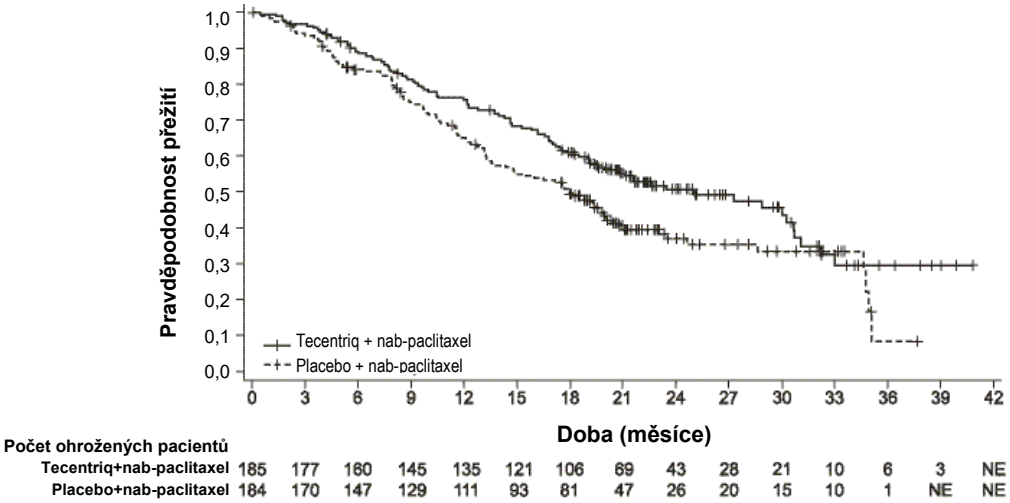
[d] Podle druhé předběžné analýzy OS a průzkumné PFS analýzy v klinickém mezním (cut off) bodě 2· ledna 2019

[e] Stratifikováno podle přítomnosti jaterních metastáz a dřívější léčbou taxanem.

PFS = přežití bez progrese; RECIST = Response Evaluation Criteria in Solid Tumors v1.1.; CI = interval spolehlivosti; ORR = míra objektivní odpovědi; DOR = délka trvání odpovědi; OS = celkové přežití, NE = nelze odhadnout.



Obrázek 7. Kaplan-Meierova křivka přežití bez progrese ve studii IMpassion130 u pacientů s expresí PD-L1 ≥ 1 % IC.



Obrázek 8. Kaplan-Meierova křivka celkového přežití ve studii IMpassion130 u pacientů s expresí PD-L1 ≥ 1 % IC.

LITERATURA

1. Blank C, Mackensen A. Contribution of the PD-L1/PD-1 pathway to T-cell exhaustion: an update on implications for chronic infections and tumor evasion. Cancer Immunol Immunother. 2007;56(5):739-745.
2. Butte MJ, Keir ME, Phamduy TB, et al. Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T cell responses. Immunity. 2007;27(1):111-122.
3. Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. Nature. 2014;515(7528):563-567.
4. Bellmunt J, Mullane SA, Werner L, et al. Association of PD-L1 expression on tumor-infiltrating mononuclear cells and overall survival in patients with urothelial carcinoma. Ann Oncol. 2015;26(4):812-817.
5. Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. J Clin Oncol. 2010;28(19):3167-3175.
6. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. Lancet. 2016;387(10030):1837-1846.
7. Powles T, Eder JP, Fine GD, et al. MPDL3280A (anti-PD-L1) treatment leads to clinical activity in metastatic bladder cancer. Nature. 2014;515(7528):558-562.
8. Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. Lancet. 2016;387(10031):1909–20.
9. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. N Engl J Med. 2012;366(26):2443-2454.
10. Schmid P, Adams S, Rugo HS, et al. Atezolizumab and Nab-Paclitaxel in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. N Engl J Med. 2018;379(22):2108-2121.
11. Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
12. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
13. Anatomic Pathology Checklist. College of American Pathologists. Jul 28, 2015.
14. CLSI. Quality assurance for design control and implementation of immunohistochemistry assay: approved guidelines. 2nd edition Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011.
15. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194-199.
16. Hautzer NW, Wittkuhn JF, McCaughey WT. Trypsin digestion in immunoperoxidase staining. J Histochem Cytochem. 1980;28(1):52-53.
17. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen. A possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Pathol. 1980;73(5):626-632.
18. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. Lab Med. 1983;14:767.

DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

VENTANA, BENCHMARK, OPTIVIEW and the VENTANA logo are trademarks of Roche. Všechny další ochranné známky patří příslušným vlastníkům.

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

KONTAKTNÍ INFORMACE

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

www.ventana.com