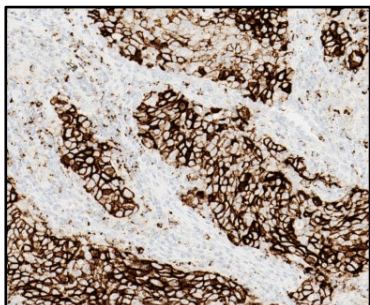


VENTANA PD-L1 (SP142) Assay

REF 741-4860

08008540001

IVD Σ 50



Slika 1 PD-L1 ekspresija u raku pluća nemalih stanica.

se temelji na veličini površine tumora na kojem su imunosne stanice koje se infiltriraju u tumor s ekspresijom proteina PD-L1 (% IC) bilo kojeg intenziteta ili postotku tumorskih stanica s ekspresijom proteina PD-L1 (% TC) bilo kojeg intenziteta.

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay indiciran je kao pomoć u prepoznavanju pacijenata za liječenje terapijama navedenim u tablici Tablici 1 za odgovarajuće indikacije i kritične vrijednosti sukladno odobrenom označavanju terapijskih proizvoda.

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay može biti povezan s poboljšanom koristi za pacijente s terapijama navedenim u tablici Tablici 2 za odgovarajuće indikacije i kritične vrijednosti sukladno odobrenom označavanju terapijskih proizvoda.

Tablici 1. VENTANA PD-L1 (SP142) Assay – prateće dijagnostičke indikacije.

Indikacija za upotrebu	Terapija	Kritična vrijednost
Urotelni karcinom	TECENTRIQ	≥ 5 % IC
Trostruki negativni karcinom dojke (TNBC)	TECENTRIQ	≥ 1 % IC

Tablici 2. VENTANA PD-L1 (SP142) Assay – komplementarna dijagnostička indikacija.

Indikacija za upotrebu	Terapija	Kritična vrijednost
Rak pluća nemalih stanica (NSCLC)	TECENTRIQ	≥ 50 % TC ili ≥ 10 % IC ≥ 1 % TC ili ≥ 1 % IC

Rezultate testa ovog proizvoda mora tumačiti kvalificirani patolog zajedno s histološkim nalazima, relevantnim kliničkim informacijama i odgovarajućim kontrolama.

Ovaj je proizvod namijenjen za uporabu u *in vitro* dijagnostici (IVD).

SAŽETAK I OBJAŠNJENJE

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay jest imunokemijski test koji koristi anti-PD-L1 zečje monoklonsko primarno antitijelo za prepoznavanje proteina PD-L1. Test su zajednički razvili Roche/Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana) i Roche/Genentech radi prepoznavanja pacijenata koji će najvjerojatnije pozitivno reagirati na liječenje lijekom TECENTRIQ®.

PD-L1 je transmembranski protein koji umanjuje imunوسي odgovor vezivanjem na dva receptora proteina programirane smrti stanica 1 (PD-1) i B7.1. PD-1 je inhibitor receptora s ekspresijom na T-stanicama nakon aktivacije T-stanica, koja se održava u stanjima kronične stimulacije, kao što je kronična infekcija ili rak.¹ Vezivanje proteina PD-L1 i PD-1 inhibira proliferaciju T-stanica, produkciju citokina i citotoksičnu aktivnost, što dovodi do funkcionalne deaktivacije ili iscrpljivanja T-stanica. B7.1 je molekula s ekspresijom na antigen-predstavljajućim stanicama i aktiviranim T-stanicama. Vezivanje proteina PD-L1 na B7.1 na T-stanicama i antigen-predstavljajućim stanicama može posredovati umanjeno imunوسي odgovora, uključujući inhibiranje aktivacije T-stanica i produkciju citokina.² Ekspresija proteina PD-L1 zabilježena je u imunosnim i malignim stanicama, a za aberantnu ekspresiju proteina PD-L1 u tumorskim stanicama (TC) zabilježeno je da sprječava protutumorsku imunost, što dovodi do izbjegavanja imunوسي učinka.^{1,3} Stoga prekid puta PD-L1/PD-1 predstavlja zanimljivu strategiju oživljavanja imunosti T-stanica specifične za tumor koju potiskuje ekspresija proteina PD-L1 u tumorskom mikrookruženju. Poveznica između ekspresije proteina PD-L1 u TC stanicama ili imunosnim stanicama koje se infiltriraju u tumor (IC) i kliničke koristi dobivene inhibitorima putova proteina PD-L1/PD-1 zabilježena je u raznim vrstama raka.³⁻¹⁰

Atezolizumab je humanizirano, monoklonsko antitijelo proizvedeno Fc-inženjeringom koje se veže na PD-L1 i blokira interakcije s receptorima PD-1 i B7.1. Atezolizumab je neglikolizirani imunoglobulin IgG1 kapa izračunate molekularne mase 145 kDa.

NAČELO POSTUPKA

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay koristi zečje monoklonsko primarno antitijelo koje se veže na PD-L1 u rezovima tkiva uklopljenima u parafin. Ovo se specifično antitijelo može vizualizirati s pomoću kompleta za detekciju OptiView DAB IHC Detection Kit (kat. br. 760-700 / 06396500001) pa zatim s pomoću kompleta za amplifikaciju OptiView Amplification Kit (kat. br. 760-099 / 06396518001 (50 testova) ili 860-099 / 06718663001 (250 testova)). Dodatne informacije potražite na odgovarajućim umecima u pakiranjima kompleta za detekciju OptiView DAB IHC Detection Kit i OptiView Amplification Kit.

PRILOŽENI REAGENS

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay sadrži dovoljno reagensa za 50 testova.

Jedan dozator od 5 mL testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay sadrži približno 36 µg zečjeg monoklonskog antitijela.

Antitijelo je razrijeđeno u 0,05 M Tris-puferiranoj fiziološkoj otopini, 0,01 M EDTA plazmi, 0,05 %-tnom sredstvu Brij-35 s 0,3 %-tnim nosivim proteinom i 0,05 %-tnim natrijevim azidom, konzervansom.

Ukupna proteinska koncentracija reagensa iznosi približno 3 mg/mL. Specifična koncentracija antitijela iznosi približno 7 µg/mL.

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay sadrži rekombinantno zečje monoklonsko antitijelo proizvedeno u obliku supematantne stanične kulture.

Detaljne upute za tumačenje bojenja testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay u specifičnim indikacijama potražite u odgovarajućem vodiču za tumačenje:

- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for Urothelial Carcinoma (kat. br. 1015704EN)
- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for NSCLC ≥ 50 % TC ili ≥ 10 % IC u koracima algoritma bodovanja (kat. br. 1015703EN)
- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for NSCLC ≥ 1 % TC ili ≥ 1 % IC u koracima algoritma bodovanja (kat. br. 1015654EN)
- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for TNBC (kat. br. 1018231EN)

Proučite odgovarajuće upute iz umetka u pakiranju kompleta za detekciju VENTANA za detaljni opis: načela postupka, materijala i metoda, prikupljanja i pripreme uzoraka za analizu, postupaka kvalitativnog nadzora, rješavanja problema, tumačenja rezultata i općih ograničenja.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU ISPORUČENI

Reagensi bojenja, kao što su kompleti za detekciju VENTANA i pomoćne komponente, uključujući stakalca s negativnim i pozitivnim kontrolama tkiva, nisu isporučeni.

Nisu svi proizvodi koji su navedeni u umetku u pakiranju dostupni u svim zemljopisnim područjima. Posavjetujte se sa svojim lokalnim predstavnikom za podršku.

Sljedeći reagensi i materijali mogu biti potrebni za bojenje:

1. Benigna tkiva ljudskog krajnika kao kontrolno tkivo
2. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (kat. br. 790-4795 / 06683380001)

3. Mikroskopska stakalca, pozitivno nabijena
4. Najlepnice za crtični kod
5. Ksilen (histološki stupanj)
6. Etanol ili reagensni alkohol (histološki stupanj)
 - 100-postotna otopina: nerazrijeđeni etanol ili reagensni alkohol
 - 95-postotna otopina: Pomiješajte 95 dijelova etanola ili reagensnog alkohola s 5 dijelova deionizirane vode
 - 80 %-tna otopina: Pomiješajte 80 dijelova etanola ili reagensnog alkohola s 20 dijelova deionizirane vode
7. Deionizirana ili destilirana voda
8. OptiView DAB IHC Detection Kit (kat. br. 760-700 / 06396500001)
9. OptiView Amplification Kit (kat. No. 760-099 / 06396518001 (50 testova) ili 860-099 / 06718663001 (250 testova))
10. EZ Prep Concentrate (10X) (kat. br. 950-102 / 05279771001)
11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat. br. 950-300 / 05353955001)
12. LCS (Predilute) (kat. br. 650-010 / 05264839001) za BenchMark XT i instrumente GX
13. ULTRA LCS (Predilute) (kat. br. 650-210 / 05424534001) za instrument BenchMark ULTRA
14. Cell Conditioning Solution (CC1) (kat. br. 950-124 / 05279801001) za BenchMark XT i instrumente GX
15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (kat. br. 950-224 / 05424569001) za instrument BenchMark ULTRA
16. Hematoxylin II protubojenje (kat. br. 790-2208 / 05277965001)
17. Bluing Reagent (kat. br. 760-2037 / 05266769001)
18. Trajno sredstvo za fiksiranje (Permunt Fisher, kat. br. SP15-500 ili jednakovrijedno)
19. Pokrovno stakalce (dovoljno za pokrivanje tkiva, poput VWR, kat. br. 48393-060)
20. Automatizirani uređaj za postavljanje pokrovnih stakalca (kao što je Tissue-Tek SCA Automated Coverslipper)
21. Svjetlosni mikroskop
22. Upijajuće maramice

POHRANA

Pohranite na 2 – 8 °C nakon zaprimanja i dok nije u uporabi. Ne zamrzavati.

Kako bi se osigurala odgovarajuća dostava reagensa i stabilnost antitijela, nakon svake upotrebe vratite poklopac na dozator te dozator odmah stavite u hladnjak u uspravnom položaju.

Svaki dozator antitijela ima vijek trajanja. Ako se pravilno uskladišti, reagens je stabilan do datuma koji je naveden na oznaci. Reagens nemojte upotrebljavati nakon isteka roka valjanosti.

PRIPREMA UZORKA

Rutinski obrađena FFPE tkiva pogodna su za korištenje s ovim primarnim antitijelom kad se koristi s kompletima za detekciju VENTANA i instrumentima BenchMark IHC/ISH. Preporučuje se fiksacija tkiva u 10-postotnom neutralnom puferiranom formalinu (NBF) najmanje 6 sati, a najviše 72 sata. Vrijeme fiksacije kraće od 6 sati može uzrokovati gubitak intenziteta bojenja za PD-L1. Korištena količina NBF-a treba biti od 15 do 20 volumena tkiva. Fiksativ neće prodirati u više od 2 do 3 mm čvrstog tkiva ili 5 mm poroznog tkiva u razdoblju od 24 sata. Fiksiranje se može provesti na sobnoj temperaturi (15 – 25 °C).^{11,12}

Fiksativi kao što su alkohol-formalin-octena kiselina (AFA), fiksativ PREFER i drugi koji sadrže alkohol pokazali su gubitak specifičnog bojenja za PD-L1 pri svim testiranim vremenima za fiksaciju (1 – 72 h). Takva se sredstva ne preporučuju za upotrebu s ovim testom. Daljnju raspravu o utjecaju pripreme uzorka na intenzitet bojenja za PD-L1 potražite u vodičima za tumačenje.

Izrežuju se uzorci prosječne debljine 4 µm i postavljaju se na stakalca pozitivnog naboja. Stakalca treba odmah obojiti jer se antigenost rezova tkiva može smanjiti tijekom vremena te kompromitirati u roku od tri mjeseca nakon rezanja iz parafinskog bloka za uzorke urotelnog karcinoma i dva mjeseca za NSCLC i TNBC uzorke te uzorke krajnika (pogledajte vodiče za tumačenje i odjeljak Radne karakteristike u nastavku).

UPOZORENJA I MJERE OPREZA

1. Za upotrebu u *in vitro* dijagnostici (IVD).
2. Samo za profesionalnu upotrebu.

3. Stakalca pozitivnog naboja mogu biti podložna utjecajima iz okoline koji mogu dovesti do neprikladnog bojenja bilo kojeg imunohistokemijskog (IHC) testa (primjerice, izostanka primarnog antitijela ili protubojenja na tkivu). Od predstavnika tvrtke Roche zatražite primjerak publikacije „Impacts of Environmental Stresses on IHC Positively Charged Slides” („Utjecaj okoline na stakalca pozitivnog naboja IHC”) da biste bolje razumjeli kako koristiti te vrste stakalca.
4. Materijali ljudskog ili životinjskog porijekla moraju se tretirati kao biološki opasni materijali te odlagati u otpad uz odgovarajuće mjere opreza.
5. Izbjegavajte kontakt reagensa s očima i sluznicama. Ako reagensi dođu u kontakt s osjetljivim dijelovima tijela, isperite ih obilnom količinom vode.
6. Izbjegavajte mikrobnu kontaminaciju reagensa jer to može prouzročiti netočnost rezultata.
7. Savjetujte se s lokalnim i/ili državnim organima o preporučenoj metodi odlaganja.
8. Za dodatne sigurnosne informacije proučite list sa sigurnosnim podacima te vodič simbola i izraza opasnosti koji se nalaze na www.ventana.com

POSTUPAK BOJENJA

Test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay razvijen je za upotrebu na instrumentima BenchMark IHC/ISH u kombinaciji s proizvodima Rabbit Monoclonal Negative Control Ig, OptiView DAB IHC Detection Kit, OptiView Amplification Kit i pomoćnim reagensima. Uz VENTANA PD-L1 (SP142) Assay mora se primjenjivati postupak bojenja specifičan za taj test. Proučite Tablici 3 za preporučeni protokol bojenja i potreban postupak bojenja. Bilo koje odstupanje od preporučenih postupaka testiranja može poništiti očekivane rezultate. Potrebno je upotrebljavati i dokumentirati prikladne kontrole. Korisnici koji odstupaju od preporučenih postupaka moraju prihvatiti odgovornost za interpretaciju rezultata pacijenata. Ovo je antitijelo optimizirano za određeno vrijeme inkubacije, ali korisnik mora potvrditi rezultate dobivene s pomoću ovog reagensa.

Parametri za automatizirane postupke mogu se prikazati, ispisati i urediti u skladu s postupkom u priručniku za upotrebu instrumenta. Proučite odgovarajući umetak u pakiranju kompleta za detekciju VENTANA za više detalja koji se odnose na imunohistokemijske postupke bojenja.

Tablici 3. Preporučeni protokol bojenja i obavezni postupci bojenja za VENTANA PD-L1 (SP142) Assay uz Rabbit Monoclonal Negative Control Ig s pomoću kompleta OptiView DAB IHC Detection Kit i OptiView Amplification Kit na instrumentu BenchMark ULTRA, BenchMark XT ili BenchMark GX.

Postupak bojenja:		ULTRA VENTANA PDL1 (SP142) XT VENTANA PDL1 (SP142) GX VENTANA PDL1 (SP142)
Korak protokola	Unos parametara	
Pečenje	Neobavezno	
Antitijelo (primamo)	odabrano: VENTANA PD-L1 (SP142) ili odabrano: Negative Control	
Protubojenje	Hematoxylin II, 4 minute	
Naknadno protubojenje	Bluing, 4 minute	

POSTUPCI KONTROLE KVALITETE

Rabbit Monoclonal Negative Control Ig

Za svaki uzorak treba pokrenuti podudarni reagens za negativna kontrolna stakalca kao pomoć u interpretaciji rezultata. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig, antitijelo negativne kontrole reagensa, posebno se podudara za ovaj test i upotrebljava se umjesto primarnog antitijela radi procjene nespecifičnog bojenja. Postupak bojenja za reagens za negativnu kontrolu treba biti jednak razdoblju inkubacije primarnog antitijela. Upotreba drugog reagensa za negativnu kontrolu ili izostanak uporabe preporučenog reagensa za negativnu kontrolu mogu uzrokovati lažne rezultate.

Kontrola tkiva krajnika

U svaki ciklus bojenja mora se uključiti jedna kontrola tkiva. Benigno tkivo ljudskog krajnika koje ispunjava kriterije upotrebljava se kao kontrola. Kontrolna tkiva moraju se fiksirati što je prije moguće i obraditi na jednak način kao i tkiva pacijenata. Takvim se tkivom mogu nadzirati sve faze analize, od pripreme tkiva do bojenja. Tkivo krajnika sadrži pozitivne i negativne elemente bojenja za PD-L1 te je stoga prikladno za uporabu kao kontrola tkiva. Pozitivne i negativne komponente bojenja tkiva rabe se za potvrdu da je test pravilno proveden.

Odgovarajuće bojenje komponenti tkiva krajnika opisano je u Tablici 4 i vodičima za tumačenje.

Provjera testa

Prije prve upotrebe antitijela ili sustava bojenja u dijagnostičkom postupku potrebno je provjeriti specifičnost antitijela testiranjem na nizu tkiva s poznatim imunohistokemijskim radnim karakteristikama koje predstavljaju tkiva pozitivna i negativna na PD-L1 (pogledajte poglavlje o postupcima kontrole kvalitete koji su prethodno opisani u ovom odjeljku umetka u pakiranju i preporuke za kontrolu kvalitete navedene u sljedećim dokumentima: College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist¹³ ili smjernici koju je odobrio CLSI¹⁴). Navedene postupke kontrole kvalitete treba ponavljati za svaku novu seriju antitijela ili kad god se događa promjena u parametrima testa. Tkiva urotelnog karcinoma, NSCLC i TNBC tkiva s poznatim statusom proteina PD-L1 te uzorci benignog ljudskog krajnika prikladni su za provjeru testa.

TUMAČENJE REZULTATA

Postupak automatskog imunobojenja VENTANA uzrokuje taloženje smeđe obojenog DAB reaktivnog proizvoda na mjestima antigena lokaliziranih s pomoću antitijela VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Obojena stakalca mora protumačiti kvalificirani patolog pomoću svjetlosne mikroskopije. Kvalificirani patolog iskusan u imunohistokemijskim (IHC) postupcima treba procijeniti kontrole tkiva i opisati obojeni proizvod prije tumačenja rezultata.

Tumačenje kontrole tkiva krajnika

Obojenu kontrolu tkiva krajnika treba pregledati da bi se utvrdilo je li prikladno obojena. Prisutnost bojenja proteina PD-L1 u makrofagima i limfocitima u germinativnim centrima i retikularnim epitelnim stanicama kripti krajnika služi kao pozitivni element bojenja. Izostanak bojenja površinskog pločastog epitela i negativnih imunskih stanica u interfolikularnim regijama krajnika služi kao negativni element bojenja. Kriteriji prihvatljivosti navedeni su u Tablici 4. (Proučite vodiče za tumačenje za daljnju raspravu). Ako kontrola tkiva ne pokaže odgovarajuće bojenje, svi rezultati uzoraka pacijenata trebaju se smatrati neprocjenjivima te se treba izvršiti ponovljeno bojenje.

Tablici 4. Kriteriji za ocjenu kontrolnog tkiva krajnika.

Prihvatljivo	Neprihvatljivo
Elementi pozitivnog tkiva: Umjereno do jako bojenje proteina PD-L1 primijećeno u limfocitima i makrofagima u germinativnim centrima s difuznim bojenjem u retikularnim epitelnim stanicama kripti.	Prekomjerno nespecifično pozadinsko bojenje koje onemogućuje prepoznavanje stanica pozitivnih na PD-L1.
Elementi negativnog tkiva: Imunosne stanice negativne na PD-L1 u interfolikularnim regijama s negativnim površinskim pločastim epitelom.	Slabo bojenje ili izostanak bojenja proteina PD-L1 u limfocitima i makrofagima u germinativnim centrima i u retikularnim epitelnim stanicama kripti.

Negativna kontrola reagensa

Nespecifično bojenje, ako je prisutno, imat će difuzan izgled i može se procijeniti pomoću stakalca s reagensom za negativnu kontrolu obojenog sredstvom Rabbit Monoclonal Negative Control Ig. Netaknute stanice upotrebljavaju se za tumačenje rezultata bojenja, dok se nekrotične ili degenerirane stanice često boje nespecifično. Ako je pozadinsko bojenje prekomjerno, rezultati testnog uzorka smatraju se nevaljanima. Primjere pozadinskog bojenja za ovaj test možete pronaći u vodičima za tumačenje.

Tkivo pacijenta

Tumorske stanice (TC) boduju se kao postotak tumorskih stanica s prisutnošću vidljivog bojenja membrane proteina PD-L1 bilo kojeg intenziteta. Imunosne stanice koje se infiltriraju u tumor (IC) boduju se kao dio površine tumora, uključujući povezane intratumorske i susjedne peritumorske strome, na kojem je bojenje proteina PD-L1 u IC stanicama bilo kojeg intenziteta. Tkivo pacijenta mora se procijeniti u skladu s algoritmom bodovanja testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay specifičnim za indikaciju, koji je naveden u odjeljku Karakteristike učinkovitosti za odgovarajuću indikaciju. Dodatne upute i ogledne slike potražite u vodiču za tumačenje specifičnim za indikaciju.

OPĆA OGRANIČENJA

- IHC je višefazni dijagnostički proces koji zahtijeva specijaliziranu obuku u odabiru odgovarajućih reagensa, tkiva, fiksacije, obrade, pripreme imunohistokemijskog stakalca te interpretacije rezultata bojenja.
- Bojenje tkiva ovisi o rukovanju i obradi tkiva prije bojenja. Nepravilna fiksacija, zamrzavanje, otapanje, pranje, sušenje, zagrijavanje, rezanje ili kontaminacija s drugim tkivima ili tekućinama može uzrokovati artefakte, zarobljavanje antitijela ili lažno negativne rezultate. Nedosljedni rezultati mogu nastati iz varijacija u fiksaciji i metodama uklapanja ili iz inherentnih nepravilnosti unutar tkiva.
- Prekomjerno ili nepotpuno protubojenje može ugroziti pravilnu interpretaciju rezultata.
- Klinička interpretacija bilo kojeg pozitivnog bojenja ili njegove odsutnosti mora se procijeniti unutar konteksta kliničke anamneze, morfologije i drugih histopatoloških kriterija. Klinička interpretacija bilo kojeg bojenja ili njegove odsutnosti mora se nadopuniti morfološkim ispitivanjima i kontrolama sustavne razine kao i drugim dijagnostičkim testovima. Kvalificirani patolog odgovoran je za upoznavanje s antitijelima, reagensima i metodama koje se rabe za interpretaciju obojenih preparata. Bojenje se mora provoditi u ovlaštenom laboratoriju s dozvolom, pod nadzorom patologa nadležnog za pregledavanje obojenih stakalaca i uz osiguravanje ispravnosti pozitivnih i negativnih kontrola.
- Ventana Medical Systems, Inc. protutijela i reagentse isporučuje optimalno razrijeđene za upotrebu prema priloženim uputama. Bilo koje odstupanje od preporučenih postupaka testiranja može poništiti očekivane rezultate. Potrebno je upotrebljavati i dokumentirati prikladne kontrole. Korisnici koji odstupaju od preporučenih postupaka moraju prihvatiti odgovornost za interpretaciju rezultata pacijenata.
- Proizvod nije namijenjen za upotrebu u protočnoj citometriji jer njegove radne karakteristike nisu utvrđene.
- Reagensi mogu pokazati neočekivane reakcije u prethodno netestiranim tkivima. Mogućnost neočekivanih reakcija, čak i u testiranim grupama tkiva ne može se u potpunosti otkloniti zbog biološke različitosti ekspresije antigena u neoplazmima ili drugim patološkim tkivima.^{15, 16}
- Tkiva osoba zaraženih virusom hepatitisa B koja sadrže površinski antigen hepatitisa B (HBsAg) mogu iskazati nespecifično obojenje hrenovom peroksidazom.¹⁷
- Lažno pozitivni rezultati mogu se pojaviti zbog neimunološkog vezanja proteina ili reakcijskih proizvoda supstrata. Također ih mogu uzrokovati pseudoperoxidazna aktivnost (eritrociti) i endogena peroksidazna aktivnost (citokrom C) ili endogeni biotin (primjeri: jetra, mozak, dojka, bubreg), ovisno o vrsti korištenog imunobojenja.¹⁸
- Kao u bilo kojem imunohistokemijskom ispitivanju, negativan rezultat znači da antigen nije otkriven, a ne da antigen nije prisutan u testiranim stanicama ili tkivu.

SPECIFIČNA OGRANIČENJA

- Test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay odobren je za upotrebu isključivo na instrumentima BenchMark IHC/ISH s kompletom za detekciju OptiView DAB IHC Detection Kit i OptiView Amplification Kit te nije odobren ni za koji drugi komplet za detekciju ili instrument.
- Stakalce s uzorkom pacijenta potrebno je obojiti reagensom Rabbit Monoclonal Negative Control Ig. Drugi reagensi za negativnu kontrolu nisu prikladni za ovaj test.
- Ovaj test nije namijenjen za upotrebu s citološkim uzorcima ni dekalificiranim koštanim uzorcima.
- Tkivo pacijenta trebalo bi obojiti u roku od dva mjeseca od rezanja iz bloka tkiva za NSCLC i TNBC te tkiva krajnika i u roku od tri mjeseca za tkiva urotelnog karcinoma. Gubitak intenziteta bojenja uočen je pri bojenju testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na rezovima tkiva pohranjenima na sobnoj temperaturi dulje od toga.
- Preporučuje se da uzorci budu fiksirani od 6 do 72 sata u 10-postotnom NBF-u. Upotreba vremena fiksacije ili vrste fiksativa različitih od preporučenih mogu uzrokovati lažno negativne rezultate. Fiksativi kao što su AFA, fiksativ PREFER i drugi koji sadrže alkohol pokazali su gubitak specifičnog bojenja proteina PD-L1. Proučite vodiče za tumačenje za daljnju raspravu.
- Artefakti kao što su DAB mjesta, prazna mjesta, DAB točke i/ili mrljice mogu zahtijevati ponovljeno bojenje ako utječu na tumačenje testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Obavezno usporedite stakalce obojeno proteinom PD-L1 s negativnom kontrolom reagensa da biste bili sigurni da je pozadina prihvatljiva. Proučite vodiče za tumačenje za daljnju raspravu.

7. Povremene su DAB točke uočene u kontrolama benignog tkiva ljudskog krajnika, malog mozga i testisa, a fokalno bojenje jezgre uočeno je u normalnim tkivima gušterače (acinarne stanice) i hipofize (Tablici 5), no bojenje jezgre nije uključeno u bodovanje bojenja testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

KARAKTERISTIKE UČINKOVITOSTI – OPĆENITO

Provedeni su testovi specifičnosti bojenja, osjetljivosti, utjecaja debljine tkiva, ponovljivosti i neposredne preciznosti, kao i testovi preciznosti očitača, obnovljivosti među laboratorijima i kliničkog ishoda, a rezultati su navedeni u sljedećem dijelu.

Komentari opće analize

Ako nije drukčije navedeno, dvostrani 95-postotni interval pouzdanosti (CI) oko procjena podudarnosti svih ispitivanja (uz iznimku ispitivanja kliničke djeletvornosti) izračunati su metodom percentile bootstrap iz 2000 bootstrap uzoraka. Ako je točka procjene pozitivne postotne podudarnosti (PPA), negativne postotne podudarnosti (NPA) ili ukupne postotne podudarnosti (OPA) 0 % ili 100 %, 95-postotni CI izračunat je pomoću Wilsonove metode bodovanja. Ako je točka procjene prosječne pozitivne podudarnosti (APA) i prosječne negativne podudarnosti (ANA) 0 % ili 100 % usporedbe parova, 95-postotni CI izračunat je pomoću transformacijske Wilsonove metode bodovanja.

Specifičnost

Nizovi različitih normalnih tkiva obojeni su testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay te procijenjeni u svrhu određivanja prisutnosti bojenja imunskih stanica (bilo kakvo bojenje imunskih stanica, bilo kojeg intenziteta), kao što je opisano u Tablici 5.

Tablici 5. Testiranjem FFPE normalnih tkiva određena je specifičnost bojenja VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Tkivo	Broj pozitivnih slučajeva [a]/ ukupno slučajeva	Tkivo	Broj pozitivnih slučajeva [a]/ ukupno slučajeva
Nadbubrežna žlijezda	1/3	Mišić, srčani	0/3
Mjehur	3/36[b]	Mišić, koštani	0/2
Dojka	1/66	Mijeloid	0/2
Mali mozak	0/3[c]	Živac, periferni	0/3
Veliki mozak	0/3	Jajnik	0/3
Cerviks	0/2	Gušterača	0/3[d]
Debelo crijevo	2/3	Doštitna žlijezda	0/2
Endometrij	2/3	Prostata	0/3
Jednjak	0/3	Žlijezda slinovnica	2/3
Hipofiza	0/3[d]	Koža	0/3
Crijevo, tanko	1/3	Slezena	3/3
Bubreg	2/3	Želudac	0/3
Jezična žlijezda	0/1	Testis	0/3[c]
Jetra	0/3	Prsna žlijezda	3/3
Pluća	1/25	Štitna žlijezda	1/3
Limfni čvor	3/3	Krajnik	3/3[c]
Mezotel	0/3		

[a] Bojenje imunskih stanica bilo kojeg intenziteta

[b] Fokalno bojenje imunskih stanica

[c] Fokalne DAB točke primijećene su u kontroli 1/3 tkiva malog mozga te 1/3 tkiva testisa i normalnog krajnika

[d] Obojenje jezgre uočeno je u 1/3 tkiva gušterače i 1/3 tkiva hipofize

Osjetljivost

Niz neoplastičnih tkiva procijenjen je na temelju bojenja imunskih stanica i tumorskih stanica testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, kao što je opisano u Tablici 6.

Tablici 6. Testiranjem raznih FFPE neoplastičnih tkiva određena je osjetljivost bojenja VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Podrijetlo	Patologija	Broj pozitivnih slučajeva[a]/ ukupno slučajeva	
		Imunosne stanice	Tumorske stanice
Trbuh	Zloćudni mezoteliom	1/1	0/1
Leda	Neurofibrom	1/1	0/1
Mjehur	Zloćudni leiomijsarkom niskog stupnja	0/1	0/1
Mjehur	Karcinom tranzicijskih stanica	1/1	0/1
Kosti	Osteosarkom	0/1	0/1
Dojka	Invazivni duktalni karcinom	1/2	0/2
Dojka	Intraduktalni karcinom s ranim infiltratom	1/1	0/1
Veliki mozak	Glioblastom	1/1	0/1
Veliki mozak	Atipični meningeom	0/1	0/1
Veliki mozak	Zloćudni ependimom	0/1	0/1
Veliki mozak	Oligodendrogliom	0/1	0/1
Debelo crijevo	Adenokarcinom	1/1	0/1
Debelo crijevo	Intersticijski karcinom	0/1	0/1
Jednjak	Neuroendokrini karcinom	0/1	0/1
Jednjak	Adenokarcinom	1/1	0/1
Crijevo	Adenokarcinom	1/1	0/1
Crijevo	Stromalni sarkom	1/1	0/1
Bubreg	Karcinom svijetlih stanica	1/1	0/1
Jetra	Hepatocelularni karcinom	0/1	0/1
Jetra	Hepatoblastom	1/1	0/1
Pluća	Adenokarcinom	0/1	0/1
Pluća	Nediferencirani karcinom malih stanica	1/1	1/1
Pluća	Karcinom pločastih stanica	1/1	0/1
Limfni čvor	Difuzni limfom B-stanica	1/1[b]	1/1[b]
Limfni čvor	Hodgkinov limfom	1/1	1/1
Sredoprsje	Difuzni limfom B-stanica	1/1[b]	1/1[b]
Mišić, glatki	Zloćudni leiomijsarkom srednjeg stupnja	1/1	0/1
Mišić, poprečno-prugasti	Embrionalni rabdomioidni sarkom	0/1	0/1
Jajnik	Serozni adenokarcinom	1/1	0/1

Podrijetlo	Patologija	Broj pozitivnih slučajeva ^[a] / ukupno slučajeva	
		Imunosne stanice	Tumorske stanice
Jajnik	Adenokarcinom	1/1	0/1
Gušterača	Tumor otočnih stanica	0/1	0/1
Gušterača	Adenokarcinom	1/1	0/1
Zdjelična šupljina	Anaplastični limfom velikih stanica	1/1 ^[b]	1/1 ^[b]
Prostata	Adenokarcinom	0/2	0/2
Rektum	Adenokarcinom	1/1	1/1
Rektum	Zloćudni intersticijski karcinom srednjeg stupnja	0/1	0/1
Rektum	Zloćudni melanom	1/1	0/1
Retroperitonealni prostor	Neuroblastom	1/1	0/1
Retroperitonealni prostor	Rabdomiosarkom vretenastih stanica	0/1	0/1
Koža	Karcinom bazalnih stanica	1/1	0/1
Koža	Karcinom pločastih stanica	1/1	0/1
Slezena	Difuzni limfom B-stanica	1/1 ^[a]	1/1 ^[a]
Želudac	Karcinom stanica prstena pečatnjaka	1/1	0/1
Testis	Seminom	1/1	0/1
Testis	Embrionalni karcinom	0/1	0/1
Štitna žlijezda	Medularni karcinom	0/1	0/1
Štitna žlijezda	Papilarni karcinom	0/1	1/1
Vrat maternice	Karcinom pločastih stanica	2/2	0/2
Maternica	Leiomiom	0/1	0/1
Maternica	Adenokarcinom	1/1	0/1
Maternica	Karcinom svijetlih stanica endometrija	1/1	1/1

[a] Imunosna stanica ili tumorska stanica bilo kojeg intenziteta

[b] Bojenje tumorskih stanica i imunskih stanica ne može se diferencirati

KARAKTERISTIKE UČINKOVITOSTI – UROTELNI KARCINOM

Algoritam ocjenjivanja – urotelni karcinom

Tablici 7 sadrži algoritam bodovanja za VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za urotelni karcinom na temelju kojeg je potrebno procijeniti tkivo urotelnog karcinoma. Dodatne upute i ogledne slike potražite u vodiču za tumačenje (P/N 1015704EN).

Tablici 7. Algoritam bodovanja testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za urotelni karcinom.

Procjena bojenja imunskih stanica (IC) ^[a]	Ekspresija proteina PD-L1
Odsutnost vidljivog bojenja proteina PD-L1 ili prisutnost vidljivog bojenja proteina PD-L1 bilo kojeg intenziteta u imunskim stanicama koje se infiltriraju u tumor, a koje prekriva < 5 % tumorskog područja ispunjenog tumorskim stanicama, povezanu intratumorsku i susjednu peritumorsku stromu	< 5 % IC
Prisutnost vidljivog bojenja proteina PD-L1 bilo kojeg intenziteta u imunskim stanicama koje se infiltriraju u tumor, a koje prekriva ≥ 5 % tumorskog područja ispunjenog tumorskim stanicama, povezanu intratumorsku i susjednu peritumorsku stromu	≥ 5 % IC

[a] Bojenje proteina PD-L1 u tumorskim stanicama ne bi trebalo biti uključeno u utvrđivanje bodovanja tkiva urotelnog karcinoma pacijenta.

Debljina tkiva – urotelni karcinom

Debljina tkiva procijenjena je na temelju pet jedinstvenih uzoraka urotelnog karcinoma (3 PD-L1 ≥ 5 % IC i 2 PD-L1 < 5 % IC). Dvostruki rezovi na 2, 3, 4, 5, 6 i 7 mikrona testirani su za svaki primjerak. Sve su debljine tkiva pokazale odgovarajuće specifično bojenje proteina PD-L1 i prihvatljive pozadinske razine za bojenje testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Nijedan rez nije pokazao promjenu ekspresije proteina PD-L1 unutar raspona testirane debljine. Ventana preporučuje da se uzorci za bojenje testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay izrežu na debljinu od 4 mikrona.

Ponovljivost i neposredna preciznost – urotelni karcinom

Provedena su ispitivanja bojenja uzoraka urotelnog karcinoma testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay da bi se provjerilo sljedeće:

- Unutardnevna ponovljivost – 5 repliciranih stakalca iz 24 jedinstvena uzorka urotelnog karcinoma (12 PD-L1 ≥ 5 % IC i 12 PD-L1 < 5 % IC) obojeno je testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na jednom instrumentu BenchMark ULTRA u jednom danu.
- Međudnevna preciznost – 10 stakalaca iz 24 jedinstvena uzorka urotelnog karcinoma (12 PD-L1 ≥ 5 % IC i 12 PD-L1 < 5 % IC) obojeno je testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na jednom instrumentu BenchMark ULTRA tijekom pet neuzastopnih dana.
- Preciznost među instrumentima i među serijama – 27 stakalca iz 24 jedinstvena uzorka urotelnog karcinoma (12 PD-L1 ≥ 5 % IC i 12 PD-L1 < 5 % IC) obojeno je testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pomoću tri serije antitijela VENTANA PD-L1 (SP142) i tri uparene serije kompleta OptiView DAB IHC Detection Kit i OptiView Amplification Kit na tri instrumenta BenchMark ULTRA.
- Preciznost unutar platforme – 2a replicirana stakalca iz 10 jedinstvenih uzoraka urotelnog karcinoma (3 PD-L1 ≥ 5 % IC i 7 PD-L1 < 5 % IC) obojena su testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na tri instrumenta BenchMark ULTRA, tri instrumenta BenchMark XT i tri instrumenta BenchMark GX. Stope slaganja izračunate su relativno načinu uzorka za jednu platformu.

Sva su stakalca maskirana i randomizirana, a zatim procijenjena na temelju algoritma bodovanja testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za urotelni karcinom (Tablici 7). Rezultati su sažeti u Tablici 8.

Tablici 8. Ponovljivost i neposredna preciznost bojenja testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na uzorcima urotelnog karcinoma.

Parametar ponovljivosti / neposredne preciznosti	Postotak podudarnosti (95 % CI) ^[a]
Unutardnevna ponovljivost (unutar jednoga dana)	PPA: 98,2 (90,4 – 99,7) NPA: 100,0 (94,4 – 100,0) OPA: 99,2 (95,4 – 99,9)

Parametar ponovljivosti / neposredne preciznosti	Postotak podudarnosti (95 % CI) ^[a]
Međudnevna preciznost (5 neuzastopnih dana)	PPA: 91,8 (85,2 – 95,6) NPA: 100,0 (97,1 – 100,0) OPA: 96,3 (93,0 – 98,0)
Preciznost među instrumentima i među serijama (3 instrumenta, 3 serije antitijela i 3 serije pribora za detekciju i amplifikaciju)	PPA: 99,4 (97,8 – 99,8) NPA: 99,7 (98,3 – 99,9) OPA: 99,5 (98,6 – 99,8)
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark ULTRA)	PPA: 83,3 (60,8 – 94,2) NPA: 100,0 (91,2 – 100,0) OPA: 94,8 (85,9 – 98,2)
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark XT)	PPA: 94,4 (74,2 – 99,0) NPA: 100,0 (91,6 – 100,0) OPA: 98,3 (91,1 – 99,7)
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark GX)	PPA: 94,4 (74,2 – 99,0) NPA: 100,0 (91,4 – 100,0) OPA: 98,3 (91,0 – 99,7)

[a] Dvostrana Wilsonova metoda bodovanja CI

Usklađenost među platformama – urotelni karcinom

Pojedinačna stakalca iz 44 jedinstvena uzorka urotelnog karcinoma (22 PD-L1 $\geq$ 5 % IC i 22 PD-L1 < 5 % IC) obojena su testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na jednom instrumentu BenchMark ULTRA (referentnom), jednom instrumentu BenchMark XT i jednom instrumentu BenchMark GX. Sva su stakalca maskirana i randomizirana, a zatim procijenjena na temelju algoritma bodovanja testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za urotelni karcinom (Tablici 7). Rezultati su sažeti u Tablici 9.

Tablici 9. Usklađenost bojenja uzoraka urotelnog karcinoma testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay među platformama.

Usklađenost među platformama	Postotak podudarnosti (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] Dvostrana Wilsonova metoda bodovanja CI

Preciznost očitaca – urotelni karcinom

Da bi se ocijenila preciznost jednog očitaca i preciznost među očitačima, troje je patologa procijenilo 60 jedinstvenih uzoraka urotelnog karcinoma (30 PD-L1 $\geq$ 5 % IC i 30 PD-L1 < 5 % IC) obojenih testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Uzorci su bili maskirani i randomizirani prije procjene statusa proteina PD-L1 pomoću algoritma bodovanja testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za urotelni karcinom (Tablici 7). Očitaci su sve uzorke bodovali dva puta, uz minimalni razmak od dva tjedna između svakog očitavanja. Stope podudarnosti među očitačima i među očitajima patologa prikazane su u tablici Tablici 10.

Tablici 10. Preciznost jednog očitaca i preciznost među očitačima za bojenje uzoraka urotelnog karcinoma testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Preciznost očitaca	Postotak podudarnosti (95 % CI)
Preciznost među očitačima (prosjeck usporedbi parova od očitaca do očitaca od prvog očitavanja)	APA: 92,7 (85,9 – 97,6) ANA: 93,9 (88,1 – 98,1) OPA: 93,3 (87,8 – 97,8)
Preciznost jednoga očitaca (prosjeck stopa slaganja svih triju očitaca između prvog i drugog očitavanja)	APA: 93,4 (87,3 – 97,7) ANA: 94,2 (88,9 – 98,1) OPA: 93,9 (88,8 – 97,8)

Ispitivanje obnovljivosti među laboratorijima – urotelni karcinom

Ispitivanje obnovljivosti među laboratorijima za test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay provedeno je da bi se dokazala obnovljivost testa za utvrđivanje statusa proteina PD-L1 u uzorcima tkiva urotelnog karcinoma. Dvadeset i osam jedinstvenih uzoraka urotelnog karcinoma (14 PD-L1 $\geq$ 5 % IC i 14 PD-L1 < 5 % IC) obojeno je u tri vanjska laboratorija na svaki od 5 neuzastopnih dana tijekom razdoblja od najmanje 20 dana. Prije bojenja stakalca su maskirana i randomizirana. Na svakoj lokaciji obojena stakalca nezavisno su procijenila 2 patologa (čitači). Rezultati su sažeti u Tablici 11.

Tablici 11. Obnovljivost među laboratorijima za bojenje uzoraka urotelnog karcinoma testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Obnovljivost među laboratorijima	Postotak podudarnosti (95 % CI)
Ukupno slaganje (u usporedbi s ocjenom suglasnosti, na svim lokacijama, tijekom svih dana i za sve očitace)	PPA: 98,3 (96,6 – 99,2) ^[a] NPA: 87,4 (83,8 – 90,2) ^[a] OPA: 92,8 (90,9 – 94,4) ^[a]
Podudarnost među lokacijama (prosjeck udvojenih usporedbi od lokacije do lokacije)	APA: 90,7 (81,2 – 96,3) ANA: 88,3 (78,5 – 94,9) OPA: 89,6 (82,5 – 95,5)
Podudarnost među očitacima (prosjeck udvojenih usporedbi od očitaca do očitaca unutar svake lokacije)	APA: 89,3 (78,1 – 96,0) ANA: 86,6 (75,1 – 94,6) OPA: 88,1 (84,6 – 90,8) ^[a]

[a] Dvostrana Wilsonova metoda bodovanja CI

Ispitivanje kliničkog ishoda – urotelni karcinom

Radne karakteristike testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay istražene su tijekom ispitivanja IMvigor210 (NCT02108652), multicentričnog otvorenog ispitivanja faze II u dvije kohorte dizajniranog za procjenu djelotvornosti lijeka TECENTRIQ u pacijenata s lokalno uznapredovanim ili metastatskim urotelnim karcinomom.

Uzorci pacijenata obojeni su testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay i procijenjena je prihvatljivost bojenja te ekspresija proteina PD-L1 u skladu s algoritmom bojenja navedenom u Tablici 7. Uzorci pacijenata bili su tkivo urotelnog karcinoma FFPE iz biopsija (21,2 %), resekcija (46,6 %), transuretralne resekcije tumora mjehura (TURBT, 30,5 %) ili nepoznate vrste (1,6 %); 74,9 % bilo je iz primarnih tumora i 25,1 % iz metastatskih tumora.

Tablici 12 opisuju ukupnu stopu prihvatljivosti bojenja za test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za sve uzorke urotelnog karcinoma probране za ispitivanje IMvigor210. Zabilježene su i stope prihvatljive morfologije i pozadine za stakalca obojena proteinom PD-L1. Od ukupno 650 uzoraka na 25 uzoraka nije uspio početni pokušaj bojenja i bojenje je ponovljeno. Pri konačnom pokušaju bojenja 13 od 25 uzoraka ostalo je neprihvatljivo (7 zbog neprihvatljive negativne kontrole reagensa, 5 zbog neprihvatljive morfologije i 1 zbog neprihvatljive pozadine i morfologije). Test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pokazao je visoke stope prihvatljivosti početnog i konačnog ukupnog bojenja, točnije 96,2 % i 98,0 %. Konačna morfologija i stope prihvatljivosti pozadine bile su više od 99 %.

Tablici 12. Radne karakteristike bojenja testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za uzorke urotelnog karcinoma tijekom kliničkog ispitivanja uzoraka IMvigor210.

Svojstvo	Postotak stope prihvatljivosti (n/N) (95 % CI) ^[a]	
	Početna ^[b]	Konačna ^[c]
Ukupna stopa prihvatljivosti bojenja	96,2 (625/650) (94,4 – 97,4)	98,0 (637/650) (96,6 – 98,8)
Morfologija	98,1 (628/640) (96,8 – 98,9)	99,1 (637/643) (98,0 – 99,6)
Pozadina	98,9 (625/632) (97,7 – 99,5)	99,8 (637/638) (99,1 – 100,0)

[a] Dvostrana Wilsonova metoda bodovanja CI

[b] Početni pokušaj bojenja [c] Konačni pokušaj bojenja

U 2. kohorti ispitivanja IMvigor210 310 pacijenata s lokalno uznapredovanim ili metastatskim urotelnim karcinomom kojima je bolest uznapredovala tijekom ili nakon

tretmana kemoterapije na temelju platine ili kojima je bolest uznapredovala unutar 12 mjeseci liječenja tretmanom neoadjuvantne ili adjuvantne kemoterapije na temelju platine liječeni su lijekom TECENTRIQ. To ispitivanje nije obuhvaćalo sljedeće pacijente: pacijente s poviješću autoimune bolesti, pacijente koji su imali aktivne metastaze mozga ili metastaze mozga ovisne o kortikosteroidu ni one koji su primili atenuirano cjepivo unutar 28 dana prije upisa ili sistemske imunostimulirajuće agense odnosno sistemske imunosupresivne lijekove. Pacijenti su primili infuziju u venu od 1200 mg lijeka TECENTRIQ svaka tri tjedna do gubitka kliničke koristi prema procjeni ispitivača. Procjene odgovora tumora provodile su se svakih 9 tjedana prva 54 tjedna i svakih 12 tjedana nakon toga. Mjere glavnog ishoda učinkovitosti uključivale su potvrđenu objektivnu stopu odgovora (ORR) prema procjeni nezavisne ustanove za pregled (IRF) pomoću kriterija za ocjenjivanje odgovora u solidnim tumorima (RECIST v1.1) i trajanja odgovora (DOR).

U ovoj kohorti srednja dob bila je 66 godina, 78 % ispitanika bili su muškarci, a 91 % ispitanika bijelci. 26 % ispitanika imalo je urotelni karcinom koji nije bio na mjehuru, a 78 % pacijenata imalo je visceralne metastaze. Šezdeset i dva posto pacijenata imalo je ECOG ocjenu 1, a 35 % pacijenata imalo je početni klirens kreatinina < 60 mL/min. 19 % pacijenata bolest je uznapredovala nakon neoadjuvantne ili adjuvantne kemoterapije koja je sadržavala platinu. 41 % pacijenata primilo je prije ≥ 2 sistemskog režima u metastatskom okruženju. 73 % pacijenata primilo je prije cisplatin, 26 % prije je primilo carboplatin, a 1 % liječeno je drugim režimima na temelju platine.

Uzorci tumora prospektivno su procijenjeni pomoću testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay u središnjem laboratoriju, a rezultati su upotrijebljeni za definiranje podskupina za unaprijed utvrđene analize. Od ukupno 310 pacijenata za njih 32 % klasificirana je ekspresija proteina PD-L1 ≥ 5 % IC, a za preostalih 68 % pacijenata klasificirana je ekspresija proteina PD-L1 < 5 % IC.

Potvrđeni ORR u svih pacijenata i dvije podgrupe proteina PD-L1 u sažetom obliku prikazan je u Tablici 13. Srednje vrijeme naknadnog praćenja za ovu kohortu bilo je 14,4 mjeseci. U 59 pacijenata s uznapredovanom bolesti nakon neoadjuvantne ili adjuvantne terapije ORR je bio 22,0 % (95 % CI stanica: 12,3 %, 34,7 %).

Tablici 13. Sažetak učinkovitosti u 2. kohorti u ispitivanju IMvigor210 (urotelnj karcinom).

	Svi pacijenti (N = 310)	Podskupine ekspresije proteina PD-L1	
		< 5 % ^[a] (N = 210)	≥ 5 % ^[a] (N = 100)
Broj potvrđenih odgovora koje je procijenio IRF	46	20	26
Postotak ORR-a (95 % CI)	14,8 (11,1, 19,3)	9,5 (5,9, 14,3)	26,0 (17,7, 35,7)
Potpun odgovor (CR) (%)	5,5	2,4	12,0
Djelomičan odgovor (PR) (%)	9,4	7,1	14,0
Srednja DOR vrijednost u mjesecima (raspon)	NR (2,1+, 13,8+)	12,7 (2,1+, 12,7)	NR (4,2, 13,8+)

NR = nije postignuto + označava cenzuriranu vrijednost CI = interval pouzdanosti

[a] Ekspresija proteina PD-L1 u imunskim stanicama koje se infiltriraju u tumor (IC)

IMvigor130 (NCT02807636) je aktualno multicentrično, randomizirano ispitivanje u pacijenata kojima dosad nije liječen metastatski urotelnj karcinom i koji ispunjavaju kriterije za liječenje kemoterapijom na temelju platine. Ispitivanje obuhvaća tri skupine: monoterapiju lijekom TECENTRIQ, TECENTRIQ uz kemoterapiju na temelju platine (tj., cisplatin ili karboplatin s gemcitabinom) i isključivo kemoterapiju na temelju platine (usporedni lijek). Ispitivanje obuhvaća pacijente koji ispunjavaju kriterije za liječenje cisplatinom i one koji te kriterije ne ispunjavaju. Uzorci tumora procijenjeni su pomoću testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay u središnjem laboratoriju. Nezavisni odbor za nadzor podataka (iDMC) za ispitivanje proveo je pregled inicijalnih podataka i otkrio da pacijenti klasificirani kao oni s ekspresijom proteina PD-L1 < 5 % prilikom monoterapije lijekom TECENTRIQ imaju smanjenu stopu preživljavanja u odnosu na pacijente liječene kemoterapijom na osnovi platine. iDMC je preporučio da se u skupinu koja prima monoterapiju više ne primaju novi sudionici s niskom ekspresijom proteina PD-L1. Nisu preporučene nikakve druge promjene ispitivanja, kao ni promjene terapije pacijentima koji su već randomizirani i liječe se u skupini s monoterapijom.

UČINKOVITOST – NSCLC

Algoritam bodovanja – NSCLC

NSCLC tkivo potrebno je procijeniti u skladu s algoritmom bodovanja testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za NSCLC navedenim u tablicama Tablici 14 i Tablici 15. Za uzorak se mora smatrati da ima ekspresiju proteina PD-L1 ako uzorak pokaže ≥ 1 % TC ili ≥ 1 % IC te visoku ekspresiju proteina PD-L1 ako uzorak pokaže ≥ 50 % TC ili ≥ 10 % IC. Dodatne upute i reprezentativne slike potražite u vodiču za tumačenje (kat. br. 1015703EN i 1015654EN).

Tablici 14. Algoritam bodovanja testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za NSCLC ≥ 50 % TC ili ≥ 10 % IC.

1. KORAK	Procjena bojenja tumorskih stanica (TC)	Ekspresija proteina PD-L1
Prisutnost vidljivog bojenja membrane proteina PD-L1 bilo kojeg intenziteta u ≥ 50 % tumorskih stanica		≥ 50 % TC
Izostanak vidljivog bojenja proteina PD-L1 ILI Prisutnost vidljivog bojenja membrane PD-L1 bilo kojeg intenziteta u < 50 % tumorskih stanica		Prijedite na korak 2
2. KORAK	Procjena bojenja imunskih stanica koje infiltriraju tumor (IC)	Ekspresija proteina PD-L1
Prisutnost vidljivog bojenja proteina PD-L1 bilo kojeg intenziteta u imunskim stanicama koje se infiltriraju u tumor, a koje prekriva ≥ 10 % tumorskog područja ispunjenog tumorskim stanicama, povezanu intratumorsku i susjednu peritumorsku stromu		≥ 10 % IC
Izostanak vidljivog bojenja proteina PD-L1 ILI Prisutnost vidljivog bojenja proteina PD-L1 bilo kojeg intenziteta u imunskim stanicama koje infiltriraju tumor, a koje prekriva < 10 % tumorskog područja ispunjenog tumorskim stanicama, povezanu intratumorsku i susjednu peritumorsku stromu		< 50 % TC i < 10 % IC

Tablici 15. Algoritam bodovanja testa VENTANA PD-L1 (SP142) za NSCLC ≥ 1 % TC ili ≥ 1 % IC.

1. KORAK	Procjena bojenja tumorskih stanica (TC)	Ekspresija proteina PD-L1
Prisutnost vidljivog bojenja membrane proteina PD-L1 bilo kojeg intenziteta u ≥ 1 % tumorskih stanica		≥ 1 % TC
Izostanak vidljivog bojenja proteina PD-L1 ILI Prisutnost vidljivog bojenja membrane PD-L1 bilo kojeg intenziteta u < 1 % tumorskih stanica		Prijedite na korak 2
2. KORAK	Procjena bojenja imunskih stanica koje infiltriraju tumor (IC)	Ekspresija proteina PD-L1
Prisutnost vidljivog bojenja proteina PD-L1 bilo kojeg intenziteta u imunskim stanicama koje infiltriraju tumor, a koje prekriva ≥ 1 % tumorskog područja ispunjenog tumorskim stanicama, povezanu intratumorsku i susjednu peritumorsku stromu		≥ 1 % IC
Izostanak vidljivog bojenja proteina PD-L1 ILI Prisutnost vidljivog bojenja proteina PD-L1 bilo kojeg intenziteta u imunskim stanicama koje infiltriraju tumor, a koje prekriva < 1 % tumorskog područja ispunjenog tumorskim stanicama, povezanu intratumorsku i susjednu peritumorsku stromu		< 1 % TC i < 1 % IC

Debljina tkiva – NSCLC

Debljina tkiva procijenjena je pomoću uzoraka NSCLC tkiva. Dvostruki rezovi debljine 3, 4, 5, 6 i 7 mikrona obojeni su testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay i procijenjeni na temelju ekspresije proteina PD-L1 za TC i IC stanice. Procijenjena su ukupno 42 NSCLC uzorka s rasponom ekspresije proteina PD-L1 za svaku razinu IC i TC.

Sve su debljine tkiva pokazale odgovarajuće specifično bojenje proteina PD-L1 i prihvatljive pozadinske razine za bojenje testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Nijedan rez nije pokazao promjenu razine TC ili IC stanica za PD-L1 unutra raspona testirane debljine. Ventana preporučuje da se uzorci NSCLC za bojenje testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay izrežu na debljinu od 4 mikrona.

Ponovljivost i neposredna preciznost – NSCLC

Provedena su ispitivanja bojenja NSCLC uzoraka testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay da bi se dokazalo sljedeće:

- unutardnevna ponovljivost – 5 repliciranih stakalca iz svakog NSCLC uzorka obojeno je testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na jednom instrumentu BenchMark ULTRA u roku od jednog dana i procijenjena je ekspresija proteina PD-L1 za TC i IC stanice. Procijenjeno je ukupno 66 NSCLC uzoraka s rasponom ekspresije proteina PD-L1 za svaku razinu TC i IC.
- Međudnevna preciznost – 10 stakalca za svaki NSCLC uzorak obojeno je testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na jednom instrumentu BenchMark ULTRA tijekom pet neuzastopnih dana. Procijenjeno je ukupno 66 NSCLC uzoraka s rasponom ekspresije proteina PD-L1 za svaku razinu ekspresije TC i IC.
- Preciznost instrumenta, antitijela i kompleta za detekciju – najmanje 9 stakalca za svaki NSCLC uzorak obojeno je testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pomoću triju serija antitijela VENTANA PD-L1 (SP142) i triju uparenih serija kompleta za detekciju OptiView DAB IHC Detection Kit i OptiView Amplification Kit na trima instrumentima BenchMark ULTRA. Procijenjena su ukupno 92 NSCLC uzorka s rasponom ekspresije proteina PD-L1 za svaki TC i IC.
- Preciznost unutar platforme – 2 replicirana stakalca za svaki NSCLC uzorak obojena su testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na trima instrumentima BenchMark ULTRA, trima instrumentima BenchMark XT i trima instrumentima BenchMark GX. Procijenjeno je ukupno 38 NSCLC uzoraka s rasponom ekspresije proteina PD-L1 za svaku razinu ekspresije TC i IC. Stope podudarnosti izračunate su relativno načinu uzorka za svaku platformu.

Sva su stakalca maskirana i randomizirana, a zatim procijenjena na temelju razine ekspresije TC ili IC proteina PD-L1. Sažetak rezultata prikazan je u tablicama Tablici 16, Tablici 17, Tablici 18 i Tablici 19.

Tablici 16. Ponovljivost i neposredna preciznost bojenja NSCLC uzoraka testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (ekspresija proteina PD-L1 ≥ 50 % TC).

Parametar ponovljivosti / neposredne preciznosti	Postotak podudarnosti (95 % CI) ^[a]
Unutardnevna ponovljivost (u jednom danu), 24 NSCLC uzorka	PPA: 100,0 (94,4 – 100,0) NPA: 100,0 (93,5 – 100,0) OPA: 100,0 (96,9 – 100,0)
Međudnevna preciznost (5 neuzastopnih dana), 24 NSCLC uzorka	PPA: 100,0 (97,1 – 100,0) NPA: 100,0 (96,5 – 100,0) OPA: 100,0 (98,4 – 100,0)
Preciznost među instrumentima i među serijama (u usporedbi s načinom na razini slučaja, na instrumentima i serijama), 18 NSCLC uzoraka	PPA: 99,7 (98,1 – 99,9) NPA: 95,2 (91,2 – 97,5) OPA: 97,9 (96,2 – 98,9)
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark ULTRA), 10 NSCLC uzoraka	PPA: 100,0 (88,6 – 100,0) NPA: 100,0 (88,6 – 100,0) OPA: 100,0 (94,0 – 100,0)
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark XT), 10 NSCLC uzoraka	PPA: 96,7 (83,3 – 99,4) NPA: 100,0 (88,6 – 100,0) OPA: 98,3 (91,1 – 99,7)
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark GX), 10 NSCLC uzoraka	PPA: 100,0 (88,6 – 100,0) NPA: 100,0 (88,6 – 100,0) OPA: 100,0 (94,0 – 100,0)

^[a] Dvostrana Wilsonova metoda bodovanja CI

Tablici 17. Ponovljivost i neposredna preciznost bojenja NSCLC uzoraka testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (ekspresija proteina PD-L1 ≥ 10 % IC).

Parametar ponovljivosti / neposredne preciznosti	Postotak podudarnosti (95 % CI)
Unutardnevna ponovljivost (unutar jednog dana), 24 NSCLC uzorka	PPA: 98,3 (91,1 – 99,7) ^[a] NPA: 100,0 (94,0 – 100,0) ^[a] OPA: 99,2 (95,4 – 99,9) ^[a]
Međudnevna preciznost (5 neuzastopnih dana), 24 NSCLC uzorka	PPA: 96,2 (91,3 – 98,3) ^[a] NPA: 98,2 (93,6 – 99,5) ^[a] OPA: 97,1 (94,1 – 98,6) ^[a]
Podudarnost među antitijelima i detekcijama (usporedba parova), 28 NSCLC uzoraka	APA: 95,1 (91,1 – 98,1) ANA: 90,2 (82,3 – 96,2) OPA: 93,4 (88,7 – 97,5)
Podudarnost među instrumentima i među serijama detekcija (usporedba parova), 28 NSCLC uzoraka	APA: 96,3 (93,2 – 98,8) ANA: 92,7 (86,0 – 97,7) OPA: 95,1 (91,2 – 98,4)
Podudarnost među instrumentima i među antitijelima (usporedba parova), 28 NSCLC uzoraka	APA: 96,3 (93,1 – 98,8) ANA: 92,6 (85,9 – 97,8) OPA: 95,1 (91,1 – 98,4)
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark ULTRA), 8 NSCLC uzoraka	PPA: 100,0 (94,0 – 100,0) ^[a] NPA: 100,0 (94,0 – 100,0) ^[a] OPA: 100,0 (96,9 – 100,0) ^[a]
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark XT), 8 NSCLC uzoraka	PPA: 100,0 (94,0 – 100,0) ^[a] NPA: 100,0 (94,0 – 100,0) ^[a] OPA: 100,0 (96,9 – 100,0) ^[a]
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark GX), 8 NSCLC uzoraka	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] Dvostrana Wilsonova metoda bodovanja CI

Tablici 18. Ponovljivost i neposredna preciznost bojenja NSCLC uzoraka testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (ekspresija proteina PD-L1 ≥ 1 % TC).

Parametar ponovljivosti / neposredne preciznosti	Postotak podudarnosti (95 % CI) ^[a]
Unutardnevna ponovljivost (u jednom danu), 10 NSCLC uzorka	PPA: 100,0 (86,7 – 100,0) NPA: 100,0 (86,7 – 100,0) OPA: 100,0 (92,9 – 100,0)
Međudnevna preciznost (5 neuzastopnih dana), 10 NSCLC uzorka	PPA: 100,0 (92,9 – 100,0) NPA: 100,0 (92,9 – 100,0) OPA: 100,0 (96,3 – 100,0)
Preciznost među instrumentima i među serijama (u usporedbi s načinom na razini slučaja, na instrumentima i serijama), 18 NSCLC uzoraka	PPA: 99,2 (97,0 – 99,8) NPA: 100,0 (98,4 – 100,0) OPA: 99,6 (98,5 – 99,9)
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark ULTRA), 12 NSCLC uzoraka	PPA: 100,0 (86,2 – 100,0) NPA: 95,8 (86,0 – 98,8) OPA: 97,2 (90,4 – 99,2)
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark XT), 12 NSCLC uzoraka	PPA: 100,0 (86,2 – 100,0) NPA: 100,0 (92,6 – 100,0) OPA: 100,0 (94,0 – 100,0)
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark GX), 12 NSCLC uzoraka	PPA: 100,0 (86,2 – 100,0) NPA: 100,0 (92,6 – 100,0) OPA: 100,0 (94,0 – 100,0)

^[a] Dvostrana Wilsonova metoda bodovanja CI

Tablici 19. Ponovljivost i neposredna preciznost bojenja NSCLC uzoraka testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (ekspresija proteina PD-L1 $\geq 1\%$ IC).

Parametar ponovljivosti / neposredne preciznosti	Postotak podudarnosti (95 % CI)
Unutardnevna ponovljivost (u jednom danu), 8 NSCLC uzorka	PPA: 100,0 (91,2 – 100,0) ^[a] NPA: 100,0 (91,2 – 100,0) ^[a] OPA: 100,0 (95,4 – 100,0) ^[a]
Međudnevna preciznost (5 neuzastopnih dana), 8 NSCLC uzorka	PPA: 100,0 (96,3 – 100,0) ^[a] NPA: 97,0 (91,6 – 99,0) ^[a] OPA: 98,5 (95,7 – 99,5) ^[a]
Podudarnost među antitijelima i detekcijama (usporedba parova), 28 NSCLC uzoraka	APA: 98,4 (95,7 – 100,0) ANA: 98,3 (95,6 – 100,0) OPA: 98,4 (95,9 – 100,0)
Podudarnost među instrumentima i među detekcijama (usporedba parova), 28 NSCLC uzoraka	APA: 98,4 (95,8 – 100,0) ANA: 98,3 (95,4 – 100,0) OPA: 98,4 (95,8 – 100,0)
Podudarnost među instrumentima i među antitijelima (usporedba parova), 28 NSCLC uzoraka	APA: 98,4 (95,9 – 100,0) ANA: 98,3 (95,5 – 100,0) OPA: 98,4 (95,8 – 100,0)
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark ULTRA), 8 NSCLC uzoraka	PPA: 100,0 (94,0 – 100,0) ^[a] NPA: 100,0 (94,0 – 100,0) ^[a] OPA: 100,0 (96,9 – 100,0) ^[a]
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark XT), 8 NSCLC uzoraka	PPA: 100,0 (94,0 – 100,0) ^[a] NPA: 100,0 (94,0 – 100,0) ^[a] OPA: 100,0 (96,9 – 100,0) ^[a]
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark GX), 8 NSCLC uzoraka	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] Dvostrana Wilsonova metoda bodovanja CI

Usklađenost među platformama – NSCLC

Pojedinačna stakalca svakog od 44 NSCLC uzorka za ekspresiju proteina PD-L1 $\geq 50\%$ TC ili $\geq 10\%$ IC (21 PD-L1 $\geq 50\%$ TC ili $\geq 10\%$ IC i 23 PD-L1 $< 50\%$ TC i $< 10\%$ IC) i 44 NSCLC uzorka za ekspresiju proteina PD-L1 od $\geq 1\%$ TC ili $\geq 1\%$ IC (23 PD-L1 $\geq 1\%$ TC ili $\geq 1\%$ IC te 21 PD-L1 $< 1\%$ TC i $< 1\%$ IC) obojena su testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na jednom instrumentu BenchMark ULTRA (referentnom), jednom instrumentu BenchMark XT i jednom instrumentu BenchMark GX.

Sva su stakalca maskirana i randomizirana pa procijenjena na temelju algoritma bodovanja testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za NSCLC (Tablici 14 za NSCLC $\geq 50\%$ TC ili $\geq 10\%$ IC i Tablici 15 za NSCLC $\geq 1\%$ TC ili $\geq 1\%$ IC). Sažetak rezultata prikazan je u tablicama Tablici 20 i Tablici 21.

Tablici 20. Usklađenost među platformama za bojenje NSCLC uzoraka testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (ekspresija proteina PD-L1 $\geq 50\%$ TC ili $\geq 10\%$ IC).

Usklađenost među platformama	Postotak podudarnosti (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] Dvostrana Wilsonova metoda bodovanja CI

Tablici 21. Usklađenost među platformama za bojenje NSCLC uzoraka testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (ekspresija proteina PD-L1 $\geq 1\%$ TC ili $\geq 1\%$ IC).

Usklađenost među platformama	Postotak podudarnosti (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] Dvostrana Wilsonova metoda bodovanja CI

Ispitivanje preciznosti očitaca – NSCLC

Da bi se ocijenila preciznost jednog očitaca i preciznost među očitačima, troje je patologa procijenilo 80 jedinstvenih NSCLC uzoraka s nizom ekspresija PD-L1, koji su obojeni testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Sva su stakalca maskirana i randomizirana prije procjene statusa proteina PD-L1 pomoću algoritma bodovanja testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za NSCLC (Tablici 14 za NSCLC $\geq 50\%$ TC ili $\geq 10\%$ IC i Tablici 15 za NSCLC $\geq 1\%$ TC ili $\geq 1\%$ IC). Očitaci su sve uzorke bodovali dva puta, uz minimalni razmak od dva tjedna između svakog očitavanja. Stope podudarnosti među očitačima i među očitajima patologa prikazane su u tablicama Tablici 22 i Tablici 23.

Tablici 22. Preciznost očitaca bojenja NSCLC uzoraka testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (ekspresija proteina PD-L1 $\geq 50\%$ TC ili $\geq 10\%$ IC).

Preciznost očitaca	Postotak podudarnosti (95 % CI)
Preciznost među očitačima (prosjeck usporedbi parova od očitaca do očitaca od prvog očitavanja)	APA: 88,8 (82,0 – 94,1) ANA: 89,0 (82,2 – 94,4) OPA: 88,9 (82,8 – 94,1)
Preciznost jednoga očitaca (prosjeck stopa slaganja svih triju očitaca između prvog i drugog očitavanja)	APA: 93,7 (89,9 – 96,6) ANA: 93,6 (89,8 – 96,7) OPA: 93,6 (90,3 – 96,6)

Tablici 23. Preciznost očitaca bojenja NSCLC uzoraka testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (ekspresija proteina PD-L1 $\geq 1\%$ TC ili $\geq 1\%$ IC).

Preciznost očitaca	Postotak podudarnosti (95 % CI)
Preciznost među očitačima (prosjeck usporedbi parova od očitaca do očitaca od prvog očitavanja)	APA: 93,7 (88,8 – 97,3) ANA: 90,7 (83,3 – 96,2) OPA: 92,5 (87,5 – 96,7)
Preciznost jednoga očitaca (prosjeck stopa slaganja svih triju očitaca između prvog i drugog očitavanja)	APA: 95,4 (92,0 – 98,1) ANA: 93,4 (88,3 – 97,2) OPA: 94,6 (90,8 – 97,5)

Ispitivanje obnovljivosti među laboratorijima – NSCLC

Ispitivanje obnovljivosti među laboratorijima za bojenje testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay provedeno je da bi se dokazala obnovljivost testa za utvrđivanje statusa proteina PD-L1 u NSCLC uzorcima tkiva. Dvadeset i osam jedinstvenih NSCLC uzoraka s nizom ekspresija proteina PD-L1 obojeno je u tri vanjska laboratorija na svaki od pet neuzastopnih dana tijekom razdoblja od najmanje 20 dana. Prije bojenja stakalca su maskirana i randomizirana. Na svakoj su lokaciji obojena stakalca nezavisno procijenila dva patologa (očitači) pomoću algoritma bodovanja testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za NSCLC (Tablici 14 za NSCLC $\geq 50\%$ TC ili $\geq 10\%$ IC i Tablici 15 za NSCLC $\geq 1\%$ TC ili $\geq 1\%$ IC). Sažetak rezultata prikazan je u tablicama Tablici 24 i Tablici 25.

Tablici 24. Usklađenost među laboratorijima za bojenje NSCLC uzoraka testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (ekspresija proteina PD-L1 $\geq 50\%$ TC ili $\geq 10\%$ IC).

Obnovljivost među laboratorijima	Postotak podudarnosti (95 % CI)
Ukupno slaganje (u usporedbi s ocjenom suglasnosti, na svim lokacijama, tijekom svih dana i za sve očitavače)	PPA: 86,6 (83,0 – 89,5) ^[a] NPA: 99,8 (98,7 – 100,0) ^[a] OPA: 93,2 (91,3 – 94,7) ^[a]
Podudarnost među lokacijama (prosjeak udvojenih usporedbi od lokacije do lokacije)	APA: 89,5 (80,9 – 95,5) ANA: 92,1 (84,4 – 97,1) OPA: 91,0 (90,3 – 91,6) ^[a]
Podudarnost među očitavačima (prosjeak udvojenih usporedbi od očitavača do očitavača unutar svake lokacije)	APA: 93,9 (89,3 – 97,4) ANA: 95,4 (90,6 – 98,2) OPA: 94,7 (92,2 – 96,5) ^[a]

[a] Dvostrana Wilsonova metoda bodovanja CI

Tablici 25. Usklađenost među laboratorijima za bojenje NSCLC uzoraka testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (ekspresija proteina PD-L1 $\geq 1\%$ TC ili $\geq 1\%$ IC).

Obnovljivost među laboratorijima	Postotak podudarnosti (95 % CI)
Ukupno slaganje (u usporedbi s ocjenom suglasnosti, na svim lokacijama, tijekom svih dana i za sve očitavače)	PPA: 97,1 (94,9 – 98,3) ^[a] NPA: 89,9 (86,6 – 92,5) ^[a] OPA: 93,5 (91,6 – 95,0) ^[a]
Podudarnost među lokacijama (prosjeak udvojenih usporedbi od lokacije do lokacije)	APA: 88,4 (78,9 – 94,1) ANA: 86,6 (79,6 – 92,2) OPA: 87,6 (86,8 – 88,3) ^[a]
Podudarnost među očitavačima (prosjeak udvojenih usporedbi od očitavača do očitavača unutar svake lokacije)	APA: 89,2 (80,8 – 94,3) ANA: 87,5 (81,3 – 92,5) OPA: 88,4 (84,9 – 91,2) ^[a]

[a] Dvostrana Wilsonova metoda bodovanja CI

Ispitivanje kliničkog ishoda – NSCLC $\geq 50\%$ TC ili $\geq 10\%$ IC

Radne karakteristike testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay istražene su u ispitivanju OAK (NCT02008227), međunarodnom, multicentričnom, randomiziranom, otvorenom kliničkom ispitivanju faze III osmišljenom za procjenu djelotvornosti i sigurnosti lijeka TECENTRIQ u pacijenata s lokalno uznapredovalim ili metastatskim NSCLC-om, čija je bolest uznapredovala tijekom ili nakon terapije na temelju platine.

Uzorci pacijenata obojeni su testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay i procijenjeni na temelju prihvatljivosti bojenja i ekspresije proteina PD-L1. Uzorci pacijenata bili su FFPE tkiva NSCLC dobivena biopsijama iglom (34,5 %), punkcijskim biopsijama (16,3 %), resekcijama (28,7 %) ili drugim metodama (20,5 %). Od toga je 66,6 % bilo iz primarnih tumora, a 33,4 % iz metastatskih tumora.

U tablici Tablici 26 navedena je ukupna stopa prihvatljivosti bojenja za test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za sve NSCLC uzorke probrane za ispitivanje. Zabilježene su i stope prihvatljive morfologije i pozadine za stakalaca obojena proteinom PD-L1. Od ukupno 1185 uzoraka na 72 uzoraka nije uspio početni pokušaj bojenja i bojenje je ponovljeno. 26 od 72 uzoraka ostalo je neprihvatljivo (1 zbog neprihvatljive kontrole krajnika, 19 zbog neprihvatljive negativne kontrole reagensa i 6 zbog neprihvatljive pozadine ili morfologije). Test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pokazao je visoke stope prihvatljivosti početnog (tj. prvog) i konačnog ukupnog bojenja: 93,9 % početno bojenje i 97,8 % konačno bojenje. Konačna morfologija i stope prihvatljivosti pozadine bile su više od 99 %.

Tablici 26. Radne karakteristike bojenja uzoraka NSCLC-a testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za OAK (NCT02008227).

Svojstvo	Postotak stope prihvatljivosti (n/N) (95 % CI) ^[a]	
	Početna ^[b]	Konačna ^[c]
Ukupna stopa prihvatljivosti bojenja	93,9 (1113/1185) (92,4 – 95,1)	97,8 (1159/1185) (96,8 – 98,5)
Morfologija	98,5 (1122/1139) (97,6 – 99,1)	99,6 (1160/1165) (99,0 – 99,8)
Pozadina	98,2 (1119/1139) (97,3 – 98,9)	99,7 (1161/1165) (99,1 – 99,9)

[a] Dvostrana Wilsonova metoda bodovanja CI

[b] Početni pokušaj bojenja [c] Konačni pokušaj bojenja

U ispitivanju OAK sudjelovalo je 1225 pacijenata, pri čemu se populacija za primarnu analizu sastojala od prvih 850 randomiziranih pacijenata. Pacijenti koji su ispunjavali kriterije stratificirani su prema statusu ekspresije proteina PD-L1 u IC stanicama, prema broju prethodnih liječenja kemoterapijom i prema histologiji. Pacijenti su randomizirani (1 : 1) u skupinu koja intravenski prima lijek TECENTRIQ u dozi od 1200 mg svaka tri tjedna do neprihvatljive toksičnosti odnosno radiografske ili kliničke progresije te u skupinu koja intravenski prima 75 mg/m² docetaksela svaka tri tjedna do gubitka kliničke koristi prema procjeni ispitivača. Uzorci tumora prospektivno su procijenjeni na temelju ekspresije proteina PD-L1 u TC i IC stanicama pomoću testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, a rezultati su upotrijebljeni za definiranje podskupina ekspresije proteina PD-L1 za unaprijed utvrđene analize opisane u nastavku.

U ispitivanju OAK među pacijentima u populaciji za primarnu analizu srednja dob iznosila je 64 godine (raspon: 33 do 85), a 61 % pacijenata bili su muškarci. Većina pacijenata bila je bijele rase (70 %). Otprilike tri četvrtine pacijenata imalo je neskvomaznu bolest (74 %), 10 % imalo je poznatu mutaciju EGFR-a, 0,2 % imalo je poznata ALK pregrađivanja, a većina pacijenata bili su pušači ili su prije pušili (82 %). Osnovni status ECOG učinkovitosti bio je 0 (37 %) ili 1 (63 %). 75 % pacijenata primilo je prije samo jedan terapijski režim na temelju platine. Mjera glavnog ishoda djelotvornosti u ispitivanju OAK bilo je ukupno preživljavanje (OS) u populaciji za primarnu analizu (prvih 850 randomiziranih pacijenata). Rezultati ispitivanja OAK, s medijanom razdoblja praćenja u trajanju od 21 mjesec, prikazani su u tablici Tablici 27 i na slici 2.

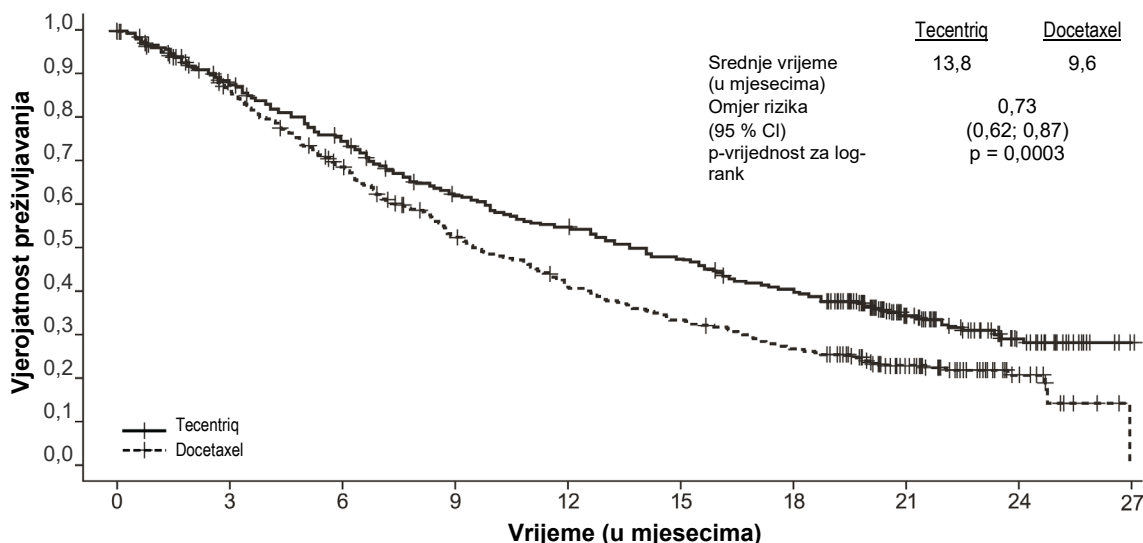
Uzorci tumora prospektivno su procijenjeni pomoću testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay u središnjem laboratoriju, a rezultati su upotrijebljeni za definiranje podskupina ekspresije proteina PD-L1 za unaprijed utvrđene analize. Od 850 pacijenata njih 16 % kategorizirano je u skupinu visoke ekspresije proteina PD-L1, koja se definira kao ekspresija proteina PD-L1 na $\geq 50\%$ TC ili $\geq 10\%$ IC stanica. U istraživačkoj analizi podgrupe učinkovitosti OS na temelju ekspresije PD-L1 raspon opasnosti bio je 0,41 (95 % CI: 0,27, 0,64) u podgrupi s visokom ekspresijom proteina PD-L1 i 0,82 (95 % CI: 0,68, 0,98) u pacijenata koji nisu imali visoku ekspresiju proteina PD-L1.

Tablici 27. Rezultati učinkovitosti u populaciji za primarnu analizu u ispitivanju OAK (NCT02008227).

Ukupno preživljavanje (OS)	Atezolizumab (N = 425)	Docetaksel (N = 425)
Smrtni slučajevi (%)	271 (64)	298 (70)
Srednja vrijednost u mjesecima (95 % CI)	13,8 (11,8, 15,7)	9,6 (8,6, 11,2)
Omjer rizika ^[a] (95 % CI)	0,73 (0,62, 0,87)	
p-vrijednost ^[b]	0,0003	
OS tijekom 12 mjeseci (%)	218 (55)	151 (41)
OS tijekom 18 mjeseci (%)	157 (40)	98 (27)

[a] Stratificirano u skladu s ekspresijom proteina PD-L1 u imunskim stanicama koje se infiltriraju u tumor, broju prethodnih tretmana kemoterapijom i histologijom

[b] Na temelju stratificiranog log-rank testa CI = interval pouzdanosti



Broj pacijenata s rizikom

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	

Omjer rizika izračunava se na temelju stratificiranog Coxovog modela; p-vrijednost se izračunava na temelju stratificiranog log-rank testa.

Slika 2 Kaplan-Meierova krivulja ukupnog preživljavanja u populaciji za primarnu analizu ispitivanja OAK (NCT02008227).

Ispitivanje kliničkog ishoda – NSCLC ≥ 1 % TC ili ≥ 1 % IC

Učinkovitost testa TECENTRIQ istražena je ispitivanjem IMpower150 (NCT02366143), multicentričnim, međunarodnim, randomiziranim, otvorenim ispitivanjem pacijenata koji nisu podvrgnuti kemoterapiji s metastatskim neskvamoznim NSCLC-om. Ukupno 1202 pacijenata registrirano je i stratificirano prema spolu, prisutnosti metastaza jetre i statusu ekspresije proteina PD-L1 na TC i IC. Pacijenti su randomizirani (1:1:1) u jednu od tri skupine liječenja.

- TECENTRIQ (atezolizumab) 1200 mg s paklitakselom i karboplatinom svaka 3 tjedna tijekom četiri ili šest ciklusa, a zatim atezolizumab 1200 mg svaka 3 tjedna do gubitka kliničke koristi (skupina A)
- TECENTRIQ (atezolizumab) 1200 mg s bevacizumabom, paklitakselom i karboplatinom svaka 3 tjedna tijekom četiri ili šest ciklusa, a zatim atezolizumab 1200 mg do gubitka kliničke koristi te bevacizumab svaka 3 tjedna do napredovanja bolesti ili pojave neprihvatljive toksičnosti (skupina B)
- Bevacizumab s paklitakselom i karboplatinom svaka 3 tjedna tijekom četiri ili šest ciklusa, a zatim bevacizumab svaka 3 tjedna do napredovanja bolesti ili pojave neprihvatljive toksičnosti (skupina C)

Demografski podaci i karakteristike bolesti populacije na početku ispitivanja dobro su uravnotežene među skupinama liječenja. Prosječna dob iznosila je 63 godina (raspon: 31 do 90), a 60 % pacijenata bili su muškarci. Većina pacijenata bila je bijele rase (82 %). Približno 10 % pacijenata imala je poznatu mutaciju EGFR-a, 4 % poznata ALK pregrađivanja, 14 % metastaze jetre na početku ispitivanja, a većina pacijenata bili su pušači ili su prije pušili (80 %). Osnovni status ECOG učinkovitosti bio je 0 (43 %) ili 1 (57 %). 51 % tumora pacijenata imalo je ekspresiju proteina PD-L1 ≥ 1 % TC ili ≥ 1 % IC, a 49 % tumora pacijenata ekspresiju proteina PD-L1 < 1 % TC i < 1 % IC.

U trenutku konačne analize za PFS medijan razdoblja praćenja pacijenata bio je 15,3 mjeseca. Populacija ITT, uključujući pacijente s mutacijama EGFR-a ili ALK pregrađivanjima koji bi ranije bili liječeni inhibitorima tirozin kinaze, pokazala je klinički značajno poboljšanje PFS-a u skupini B u odnosu na skupinu C (HR od 0,61, 95 % CI: 0,52, 0,72; medijan PFS-a tijekom 8,3 u odnosu na 6,8 mjeseci).

U trenutku međuanalize OS-a medijan razdoblja praćenja pacijenata bio je 19,7 mjeseci. Ključni rezultati te analize i ažuriranih analiza PFS-a u ITT populaciji sažeti su u tablici Tablici 28. Kaplan-Meierova krivulja za OS u ITT populaciji prikazana je na slici 3. Slika 5 sadrži sažetak svih rezultata OS-a u ITT i PD-L1 podgrupama. Ažurirani rezultati za PFS prikazani su i na slikama 4 i 6.

Tablici 28. Rezultati učinkovitosti za populaciju pacijenata predviđenih za liječenje u ispitivanju IMpower150.

Pokazatelji učinkovitosti	Skupina A (Atezolizumab + paklitaksel + karboplatin)	Skupina B (Atezolizumab + bevacizumab + paklitaksel + karboplatin)	Skupina C (Bevacizumab + paklitaksel + karboplatin)
Sekundarni pokazatelji^[a]			
Procjena istraživača za PFS (RECIST v1.1)^[g]	n = 402	n = 400	n = 400
Broj događaja (%)	330 (82,1)	291 (72,8)	355 (88,8)
Medijan trajanja PFS-a (u mjesecima)	6,7	8,4	6,8
95-postotni interval pouzdanosti (CI)	(5,7; 6,9)	(8,0; 9,9)	(6,0; 7,0)
Stratificirani omjer rizika ^[e] , ^[f] (95 % CI)	0,91 (0,78, 1,06)	0,59 (0,50, 0,69)	---
p-vrijednost ^[b] , ^[c]	0,2194	< 0,0001	
PFS tijekom 12 mjeseci (%)	24	38	20
OS međuanaliza^[g]			
Broj smrtnih slučajeva (%)	206 (51,2)	192 (48,0)	230 (57,5)
Medijan vremena do pojave događaja (u mjesecima)	19,5	19,8	14,9
95-postotni interval pouzdanosti (CI)	(16,3; 21,3)	(17,4; 24,2)	(13,4; 17,1)
Stratificirani omjer rizika ^[e] , ^[f] (95 % CI)	0,85 (0,71, 1,03)	0,76 (0,63, 0,93)	---
p-vrijednost ^[b] , ^[c]	0,0983	0,006	
OS tijekom 6 mjeseci (%)	84	85	81
OS tijekom 12 mjeseci (%)	66	68	61
Ukupan najbolji odgovor na liječenje prema procjeni istraživača^[d],^[g] (RECIST 1.1)	n = 401	n = 397	n = 393
Broj pacijenata s odgovorom (%)	163 (40,6)	224 (56,4)	158 (40,2)
95-postotni interval pouzdanosti (CI)	(35,8; 45,6)	(51,4; 61,4)	(35,3; 45,2)
Broj potpunih odgovora (%)	8 (2,0)	11 (2,8)	3 (0,8)
Broj djelomičnih odgovora (%)	155 (38,7)	213 (53,7)	155 (39,4)
Procjena istraživača za DOR^[g] (RECIST v1.1)	n = 163	n = 224	n = 158
Medijan u mjesecima	8,3	11,5	6,0
95-postotni interval pouzdanosti (CI)	(7,1; 11,8)	(8,9; 15,7)	(5,5; 6,9)

[a] Primarni pokazatelji učinkovitosti bili su PFS i OS te su analizirani u ITT populaciji dviljg tipa (WT), tj. bez pacijenata s mutacijama EGFR-a ili ALK pregrađivanja.

[b] Utemeljeno na stratificiranom log-rank testu

[c] Za informativne svrhe; u ITT populaciji usporedbe između skupine B i skupine C te skupine A i skupine C nisu formalno ispitane prema unaprijed određenoj hijerarhiji analize

[d] Ukupan najbolji odgovor za potpuni odgovor i djelomični odgovor

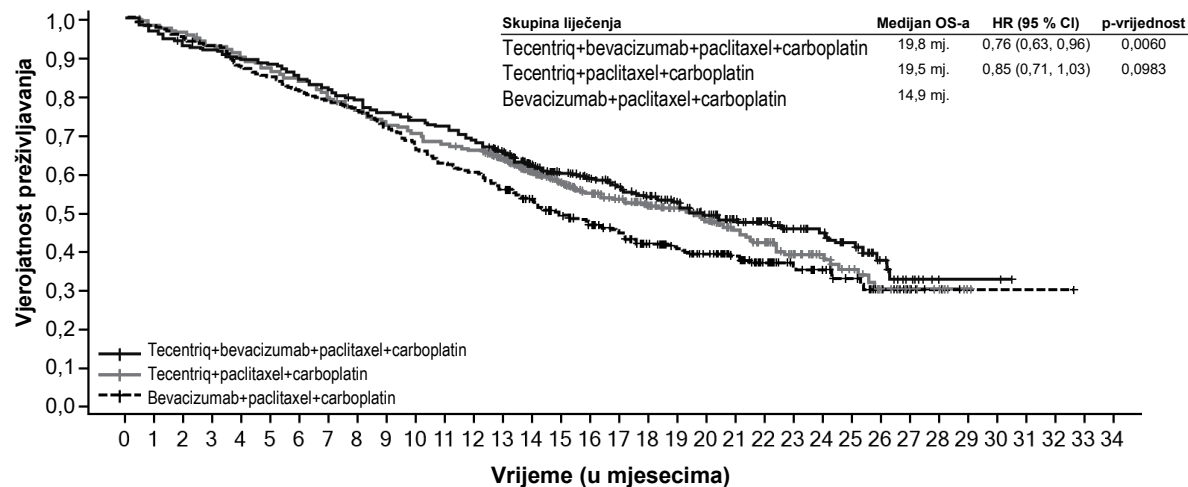
[e] Stratificirano prema spolu, prisutnosti metastaza na jetri i ekspresiji PD-L1 tumora na TC i IC stanicama

[f] Skupina C skupina je za usporedbu svih omjera rizika

[g] Ažurirana analiza PFS-a i međuanaliza OS-a pri kliničkoj graničnoj vrijednosti 22. siječnja 2018.

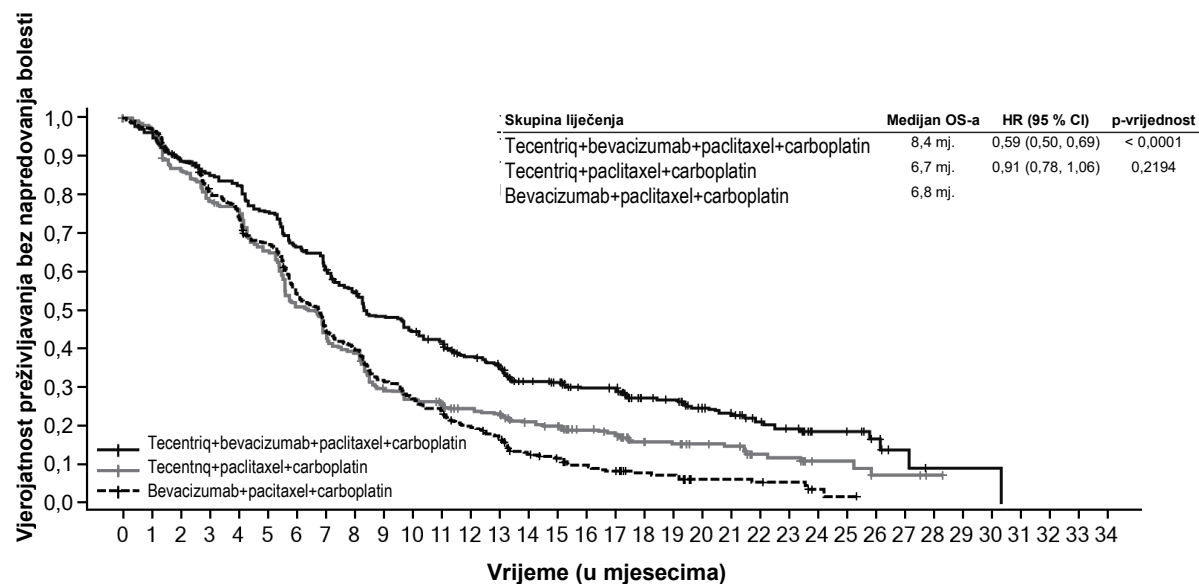
PFS = preživljavanje bez napredovanja bolesti; RECIST = Response Evaluation Criteria in Solid Tumors v1.1.

CI = interval pouzdanosti; DOR = trajanje odgovora; OS = ukupno preživljavanje.



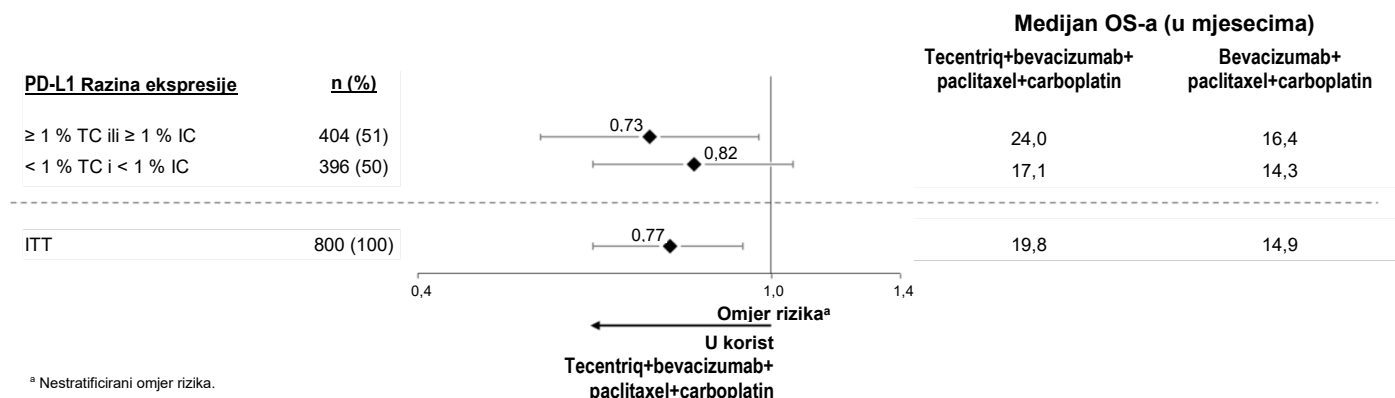
Broj pacijenata s rizikom																																
Tecentriq+bevacizumab+paclitaxel+carboplatin	400	380	367	361	351	347	333	320	308	297	288	281	265	244	208	185	162	147	130	112	93	73	62	45	38	32	18	10	2	2	2	
Tecentriq+paclitaxel+carboplatin	402	391	382	369	357	343	332	314	301	287	275	266	258	237	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

Slika 3 Kaplan-Meierova krivulja ukupnog preživljavanja u ispitivanju IMpower150.

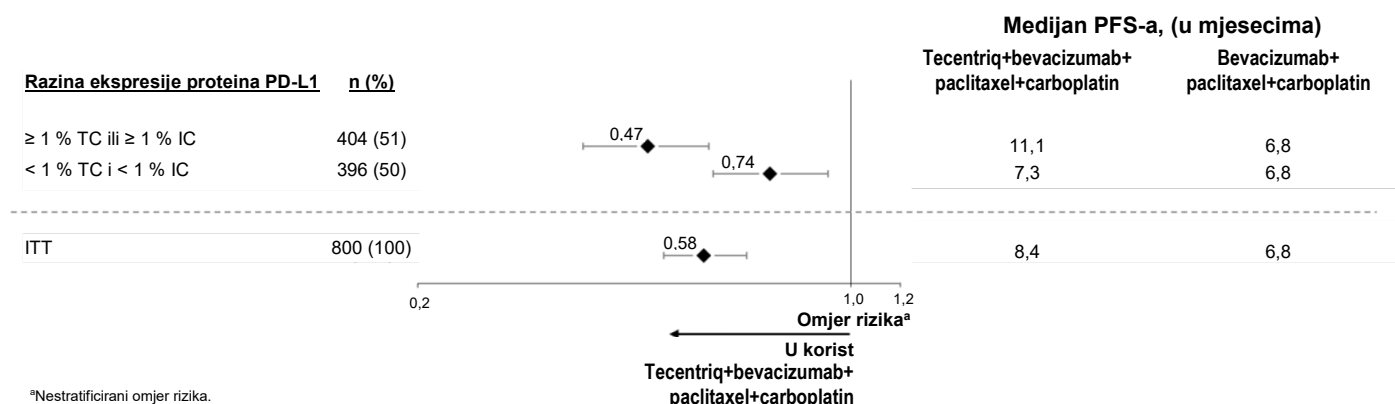


Broj pacijenata s rizikom																															
Tecentriq+bevacizumab+paclitaxel+carboplatin	400	376	352	336	326	297	262	240	215	189	174	163	141	127	96	91	76	75	58	55	40	35	26	22	13	12	7	3	1	1	1
Tecentriq+paclitaxel+carboplatin	402	387	343	313	302	258	204	171	154	116	105	100	87	83	66	62	48	43	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					

Slika 4 Kaplan-Meier krivulja preživljavanja bez napredovanja bolesti u ispitivanju IMpower150.



Slika 5 Grafikon raspona pouzdanosti ukupnog preživljavanja u ispitivanju IMpower150, skupina B u odnosu na skupinu C.



Slika 6 Grafikon raspona pouzdanosti preživljavanja bez napredovanja bolesti IMpower150, skupina B u odnosu na skupinu C.

RADNE KARAKTERISTIKE – TNBC

Algoritam bodovanja – TNBC

TNBC tkivo potrebno je procijeniti u skladu s algoritmom bodovanja testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za TNBC navedenom u Tablici 29. Dodatne upute i reprezentativne slike potražite u vodiču za tumačenje (kat. br. 1018231EN).

Tablici 29. Algoritam bodovanja testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za TNBC.

Procjena bojenja imunskih stanica (IC) ^[a]	Ekspresija proteina PD-L1
Izostanak vidljivog bojenja proteina PD-L1 ILI Prisutnost vidljivog bojenja proteina PD-L1 bilo kojeg intenziteta u imunskim stanicama koje infiltriraju tumor, a koje prekriva < 1 % tumorskog područja ispunjenog tumorskim stanicama, povezanu intratumorsku i susjednu peritumorsku stromu	< 1 % IC
Prisutnost vidljivog bojenja proteina PD-L1 bilo kojeg intenziteta u imunskim stanicama koje se infiltriraju u tumor, a koje prekriva ≥ 1 % tumorskog područja ispunjenog tumorskim stanicama, povezanu intratumorsku i susjednu peritumorsku stromu	≥ 1 % IC

[a] Bojenje proteina PD-L1 u tumorskim stanicama ne bi trebalo biti uključeno u utvrđivanje bodovanja TNBC tkiva pacijenta.

Debljina tkiva – TNBC

Debljina tkiva procijenjena je na temelju pet 10 TNBC uzoraka (5 PD-L1 ≥ 1 % IC i 5 PD-L1 < 1 % IC). Dvostruki rezovi na 2, 3, 4, 5, 6 i 7 mikrona testirani su za svaki primjerak. Sve su debljine tkiva pokazale odgovarajuće specifično bojenje proteina PD-L1 i prihvatljive pozadinske razine za bojenje testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Nijedan rez nije pokazao promjenu statusa proteina PD-L1 unutar raspona testirane debljine. Ventana preporučuje da se uzorci za bojenje testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay izrežu na debljinu od 4 mikrona.

Ponovljivost i neposredna preciznost – TNBC

Provedena su ispitivanja bojenja TNBC uzoraka testom VENTANA PD-L1 Assay da bi se dokazalo sljedeće:

- Unutardnevna ponovljivost – 5 repliciranih stakalca iz 24 jedinstvena TNBC uzorka (12 PD-L1 $\geq 1\%$ IC i 12 PD-L1 $< 1\%$ IC) obojeno je testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na jednom instrumentu BenchMark ULTRA u jednom danu.
- Međudnevna preciznost – 10 stakalaca iz 24 jedinstvena TNBC uzorka (12 PD-L1 $\geq 1\%$ IC i 12 PD-L1 $< 1\%$ IC) obojeno je testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na jednom instrumentu BenchMark ULTRA tijekom pet neuzastopnih dana.
- Preciznost među instrumentima i među serijama – 27 stakalca iz 24 jedinstvena TNBC uzorka (12 PD-L1 $\geq 1\%$ IC i 12 PD-L1 $< 1\%$ IC) obojeno je testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pomoću tri serije antitijela VENTANA PD-L1 (SP142) i tri uparene serije kompleta OptiView DAB IHC Detection Kit i OptiView Amplification Kit na tri instrumenta BenchMark ULTRA.

Sva su stakalca maskirana i randomizirana, a zatim procijenjena na temelju algoritma bodovanja testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za TNBC (Tablici 29). Rezultati su sažeti u Tablici 30.

Tablici 30. Ponovljivost i neposredna preciznost bojenja TNBC uzoraka testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Parametar ponovljivosti / neposredne preciznosti	Postotak podudarnosti (95 % CI)
Unutardnevna ponovljivost (unutar jednoga dana)	PPA: 100,0 (94,0 – 100,0) NPA: 95,0 (87,2 – 100,0) OPA: 97,5 (93,3 – 100,0)
Međudnevna preciznost (5 neuzastopnih dana)	PPA: 100,0 (96,9 – 100,0) NPA: 96,7 (92,7 – 100,0) OPA: 98,3 (96,3 – 100,0)
Preciznost među instrumentima i među serijama (3 instrumenta, 3 serije antitijela i 3 serije pribora za detekciju i amplifikaciju)	PPA: 98,3 (96,0 – 100,0) NPA: 99,2 (97,2 – 100,0) OPA: 98,6 (97,1 – 99,8)
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark ULTRA)	PPA: 100,0 (88,6 – 100,0) NPA: 96,7 (88,9 – 100,0) OPA: 98,3 (95,0 – 100,0)
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark XT)	PPA: 100,0 (88,6 – 100,0) NPA: 100,0 (88,6 – 100,0) OPA: 100,0 (94,0 – 100,0)
Preciznost unutar platforme (tri instrumenta BenchMark GX)	PPA: 93,3 (83,3 – 100,0) NPA: 96,7 (88,9 – 100,0) OPA: 95,0 (90,0 – 100,0)

Usklađenost među platformama – TNBC

Pojedinačna stakalca iz 44 jedinstvena TNBC uzorka (22 PD-L1 $\geq 1\%$ IC i 22 PD-L1 $< 1\%$ IC) obojena su testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay na jednom instrumentu BenchMark ULTRA (referentnom), jednom instrumentu BenchMark XT i jednom instrumentu BenchMark GX. Sva su stakalca maskirana i randomizirana, a zatim procijenjena na temelju algoritma bodovanja testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za TNBC (Tablici 29). Rezultati su sažeti u Tablici 31.

Tablici 31. Usklađenost bojenja TNBC uzoraka testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay među platformama.

Usklađenost među platformama	Postotak podudarnosti (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] Dvostrana Wilsonova metoda bodovanja CI

Preciznost očitaca – TNBC

Da bi se ocijenila preciznost jednog očitaca i preciznost među očitačima, troje je patologa procijenilo 60 jedinstvenih TNBC uzoraka (30 PD-L1 $\geq 1\%$ IC i 30 PD-L1 $< 1\%$ IC) obojenih testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Uzorci su bili maskirani i randomizirani prije procjene statusa proteina PD-L1 pomoću algoritma bodovanja testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za TNBC (Tablici 29). Očitaci su sve uzorke bodovali dva puta, uz minimalni razmak od dva tjedna između svakog očitavanja. Stope podudarnosti među očitačima i među očitajima patologa prikazane su u tablici Tablici 32.

Tablici 32. Preciznost jednog očitaca i preciznost među očitačima za bojenje TNBC uzoraka testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Preciznost očitaca	Postotak podudarnosti (95 % CI)
Preciznost među očitačima (prosjeck usporedbi parova od očitaca do očitaca od prvog očitavanja)	APA: 91,1 (84,2 – 96,6) ANA: 91,1 (84,1 – 96,7) OPA: 91,1 (85,6 – 96,7)
Preciznost jednoga očitaca (prosjeck stopa slaganja svih triju očitaca između prvog i drugog očitavanja)	APA: 93,8 (89,5 – 97,1) ANA: 93,9 (89,2 – 97,3) OPA: 93,9 (89,9 – 97,2)

Ispitivanje obnovljivosti među laboratorijima – TNBC

Ispitivanje obnovljivosti među laboratorijima za VENTANA PD-L1 (SP142) Assay provedeno je da bi se dokazala obnovljivost testa za utvrđivanje statusa proteina PD-L1 u TNBC uzorcima. Dvadeset i osam jedinstvenih TNBC uzoraka (14 PD-L1 $\geq 1\%$ IC i 14 PD-L1 $< 1\%$ IC) obojeno je u tri vanjska laboratorija na svaki od 5 neuzastopnih dana tijekom razdoblja od najmanje 20 dana. Prije bojenja stakalca su maskirana i randomizirana. Na svakoj lokaciji obojena stakalca nezavisno su procijenila 2 patologa (očitači). U tom ispitivanju konačna stopa prihvatljivosti bojenja za test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay bila je 98,6 %. Rezultati su sažeti u Tablici 33.

Tablici 33. Obnovljivost među laboratorijima za bojenje TNBC uzoraka testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Obnovljivost među laboratorijima	Postotak podudarnosti (95 % CI)
Ukupno slaganje (u usporedbi s ocjenom suglasnosti, na svim lokacijama, tijekom svih dana i za sve očitace)	PPA: 93,2 (90,4 – 95,2) ^[a] NPA: 96,6 (94,4 – 98,0) ^[a] OPA: 94,8 (93,1 – 96,1) ^[a]
Podudarnost među lokacijama (prosjeck udvojenih usporedbi od lokacije do lokacije)	APA: 91,5 (84,0 – 96,6) ANA: 91,3 (83,6 – 96,4) OPA: 91,4 (90,7 – 92,0) ^[a]
Podudarnost među očitačima (prosjeck udvojenih usporedbi od očitaca do očitaca unutar svake lokacije)	APA: 93,6 (88,2 – 97,0) ANA: 93,3 (87,8 – 96,7) OPA: 93,4 (90,6 – 95,4) ^[a]

^[a] Dvostrana Wilsonova metoda bodovanja CI

Ispitivanje kliničkih ishoda – TNBC

Radne karakteristike testa VENTANA PD-L1 (SP142) Assay istražene su ispitivanjem IMpassion130 (NCT02425891), dvostruko slijepim, multicentričnim, međunarodnim, randomiziranim, placebom kontroliranim ispitivanjem faze III s dvije skupine radi procjene djelotvornosti i sigurnosti testa TECENTRIQ u kombinaciji s nab-paklitakselom u pacijenata s neoperabilnim lokalno uznapredovalim ili metastatskim TNBC-om koji prethodno nisu podvrgnuti kemoterapiji za metastatsku bolest.

Uzorci pacijenata obojeni su testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay i procijenjeni na temelju prihvatljivosti bojenja i ekspresije proteina PD-L1. Uzorci pacijenata bili su FFPE TNBC tkiva dobivena biopsijama (66,8 %), resekcijama (29,3 %) ili drugim metodama (3,9 %). Od toga je 64,7 % bilo iz primarnih tumora, a 35,3 % iz metastatskih tumora.

U tablici Tablici 34 navedena je ukupna stopa prihvatljivosti bojenja za test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay za sve TNBC uzorke probrane za ispitivanje. Zabilježene su i stope prihvatljive morfologije i prihvatljive pozadine za stakalca obojena proteinom PD-L1. Od ukupno 1284 uzoraka na 52 uzorka nije uspio početni pokušaj bojenja te je bojenje ponovljeno na 49 uzoraka. Ostala su 23 neprihvatljiva uzorka (17 od 23 zbog neprihvatljive negativne kontrole reagensa i 6 zbog neprihvatljive pozadine ili morfologije). Test VENTANA PD-L1 (SP142) Assay pokazao je visoke stope prihvatljivosti početnog (tj. prvog) i konačnog ukupnog bojenja: 96,0 % početno bojenje i 98,0 % konačno bojenje. Konačna morfologija i stope prihvatljivosti pozadine bile su veće od 98 %.

Tablici 34. Radne karakteristike bojenja TNBC uzoraka testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Svojstvo	Postotak stope prihvatljivosti (n/N) (95 % CI) ^[a]	
	Početna ^[b]	Konačna ^[c]
Ukupna stopa prihvatljivosti bojenja	96,0 (1232/1284) (94,7 – 96,9)	98,0 (1258/1284) (97,0 – 98,6)
Morfologija	98,4 (1232/1252) (97,5 – 99,0)	99,5 (1258/1264) (99,0 – 99,8)
Pozadina	100,0 (1232/1232) (99,7 – 100,0)	100,0 (1258/1258) (99,7 – 100,0)

[a] Dvostrana Wilsonova metoda bodovanja CI

[b] Početni pokušaj bojenja [c] Konačni pokušaj bojenja

Ispitivanje IMpassion130 obuhvaćalo je 902 pacijenta; kvalificirani pacijenti stratificirani su prema prisutnosti metastaza na jetri, prethodnom liječenju taksanom i statusom ekspresije proteina PD-L1 u IC stanicama (IC < 1 % područja tumora u odnosu na ≥ 1 % područja tumora) procijenjenim testom VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Pacijenti su randomizirani za primanje atezolizumaba (840 mg) ili placeba intravenskim infuzijama 1. i 15. dana svakog ciklusa od 28 dana uz nab-paklitaksel (100 mg/m²) intravenskom infuzijom 1., 8. i 15. dana svakog ciklusa od 28 dana. Pacijenti su liječeni do radiografskog napredovanja bolesti prema dokumentu RECIST v1.1 ili neprihvatljive toksičnosti.

Demografski podaci i karakteristike bolesti populacije na početku ispitivanja dobro su uravnotežene među skupinama liječenja. Većina pacijenata bile su žene (99,6 %), 67,5 % pacijenata bili su bijelci, a 17,8 % Azijci. Prosječna dob iznosila je 55 godina (raspon: 20 – 86). Osnovni status ECOG učinkovitosti bio je 0 (58,4 %) ili 1 (41,3 %). Na početku ispitivanja ukupno je 41 % ispitanih pacijenata imalo ekspresiju proteina PD-L1 ≥ 1 % IC, 27 % imalo je metastaze jetre, a 7 % asimptomatske metastaze mozga. Oko polovice pacijenata primilo je taksan (51 %) ili antraciklin (54 %) u (neo)adjuvantnom okruženju. Demografski podaci i tumorska bolest na početku ispitivanja u pacijenata s ekspresijom proteina PD-L1 ≥ 1 % IC općenito su bili reprezentativni s obzirom na širu populaciju ispitivanja.

Primarni pokazatelji djelotvornosti obuhvaćali su preživljavanje bez napredovanja bolesti (PFS) koje su procijenili istraživači u ITT populaciji i u pacijenata s ekspresijom proteina PD-L1 od ≥ 1 % IC prema dokumentu RECIST v1.1, kao i ukupno preživljavanje (OS) u ITT populaciji i u pacijenata s ekspresijom proteina PD-L1 ≥ 1 % IC. Sekundarni pokazatelji djelotvornosti obuhvaćali su objektivnu stopu odgovora (ORR) i trajanje odgovora (DOR) prema dokumentu RECIST v1.1.

PFS, ORR i DOR rezultati ispitivanja IMpassion130 za pacijente čija je ekspresija testa iznosila PD-L1 ≥ 1 % IC u trenutku završne analize za PFS s medijanom razdoblja praćenja preživljenja u trajanju od 13 mjeseci sažeto su prikazani u tablici 35. Kaplan-Meierovim krivuljama za PFS na slici 7. Pacijenti s ekspresijom proteina PD-L1 < 1 % IC nisu pokazali poboljšani PFS kada je atezolizumab dodan nab-paklitakselu (HR od 0,94, 95 % CI 0,78, 1,13).

Ažurirana OS analiza provedena je s medijanom razdoblja praćenja od 18 mjeseci; OS rezultati prikazani su u tablici Tablici 35, a Kaplan-Meierove krivulje na slici 8. Pacijenti s ekspresijom proteina PD-L1 < 1 % IC nisu pokazali poboljšani OS kada je atezolizumab dodan nab-paklitakselu (HR od 0,97, 95 % CI 0,78, 1,20). U vrijeme ažurirane analize vrijednosti OS, provedena je istraživačka analiza PFS u skladu s navedenim u tablici Tablici 35.

Tablici 35. Rezultati djelotvornosti ispitivanja IMpassion130 za pacijente s ekspresijom proteina PD-L1 $\geq 1\%$ IC.

Ključni pokazatelji djelotvornosti	Atezolizumab + nab-paklitaksel	Placebo + nab-paklitaksel
Primarni pokazatelji djelotvornosti	n = 185	n = 184
Procjena istraživača za PFS (RECIST v1.1) ^c		
Broj događaja (%)	138 (74,6)	157 (85,3)
Medijan trajanja PFS-a (u mjesecima)	7,5	5,0
95-postotni interval pouzdanosti (CI)	(6,7; 9,2)	(3,8; 5,6)
Stratificirani omjer rizika ^[c] (95 % CI)	0,62 (0,49, 0,78)	
p-vrijednost ^[a]	< 0,0001	
PFS tijekom 12 mjeseci (%)	29,1	16,4
PFS (RECIST v1.1) koji je procijenio ispitivač: ažurirana istraživačka analiza ^d		
Br. događaja (%)	149 (80,5 %)	163 (88,6 %)
Srednje trajanje PFS-a (u mjesecima)	7,5	5,3
95 % CI	(6,7; 9,2)	(3,8; 5,6)
Stratificirani omjer opasnosti ^e (95 % CI)	0,63 (0,50 – 0,80)	
p-vrijednost ^a	< 0,0001	
12-mjesečni PFS (%)	30,3	17,3
OS ^{a,b,d}		
Br. smrti (%)	94 (50,8)	110 (59,8)
Srednje vrijeme događaja (mjeseci)	25,0	18,0
95-postotni interval pouzdanosti (CI)	(19,55; 30,65)	(13,63; 20,07)
Stratificirani omjer rizika ^e (95 % CI)	0,71 (0,54, 0,93)	
Sekundarni i istraživački pokazatelji		
Procjena istraživača za ORR (RECIST 1.1) ^c	n = 185	n = 183
Broj pacijenata s odgovorom (%)	109 (58,9)	78 (42,6)
95-postotni interval pouzdanosti (CI)	(51,5; 66,1)	(35,4; 50,1)
Broj potpunih odgovora (%)	19 (10,3)	2 (1,1 %)
Broj djelomičnih odgovora (%)	90 (48,6)	76 (41,5)
Broj stabilnih bolesti	38 (20,5)	49 (26,8)
Procjena istraživača za DOR	n = 109	n = 78
Medijan u mjesecima	8,5	5,5
95-postotni interval pouzdanosti (CI)	(7,3; 9,7)	(3,7; 7,1)

[a] Utemeljeno na stratificiranom log-rank testu.

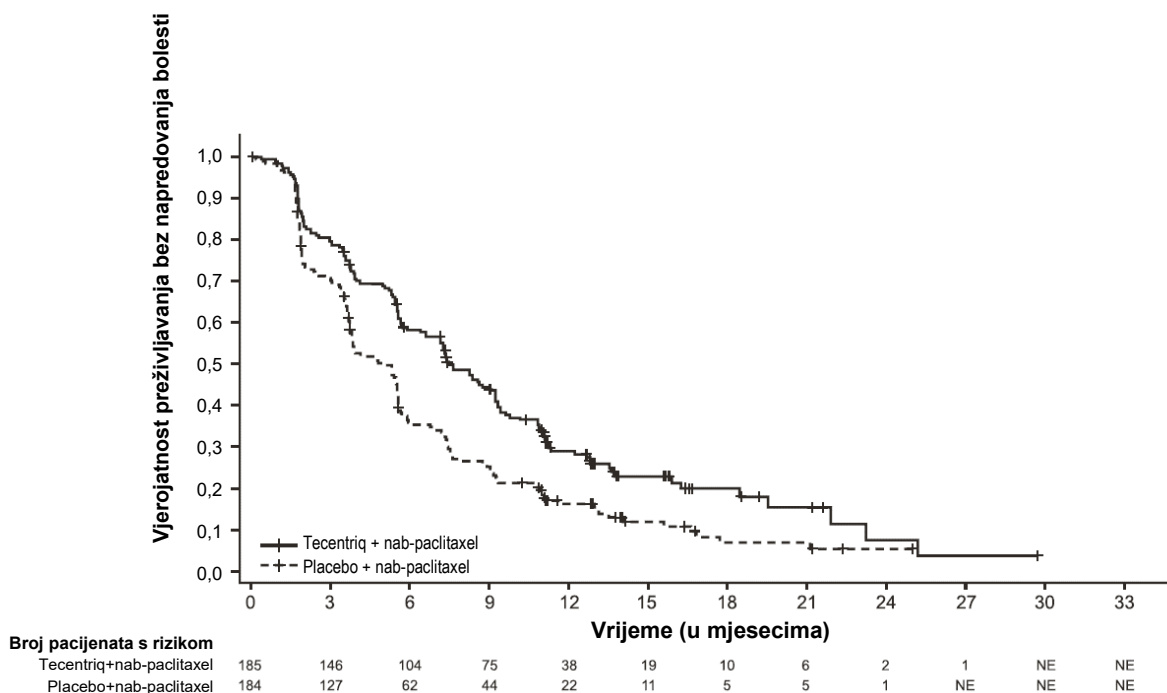
[b] Usporedbe OS-a između skupina liječenja u pacijenata s ekspresijom proteina PD-L1 $\geq 1\%$ nisu formalno ispitane prema unaprijed određenoj hijerarhiji analize.

[c] Po završnoj analizi za PFS, ORR, DOR i prvoj privremenoj analizi za OS pri kliničkoj graničnoj vrijednosti od 17. travnja 2018.

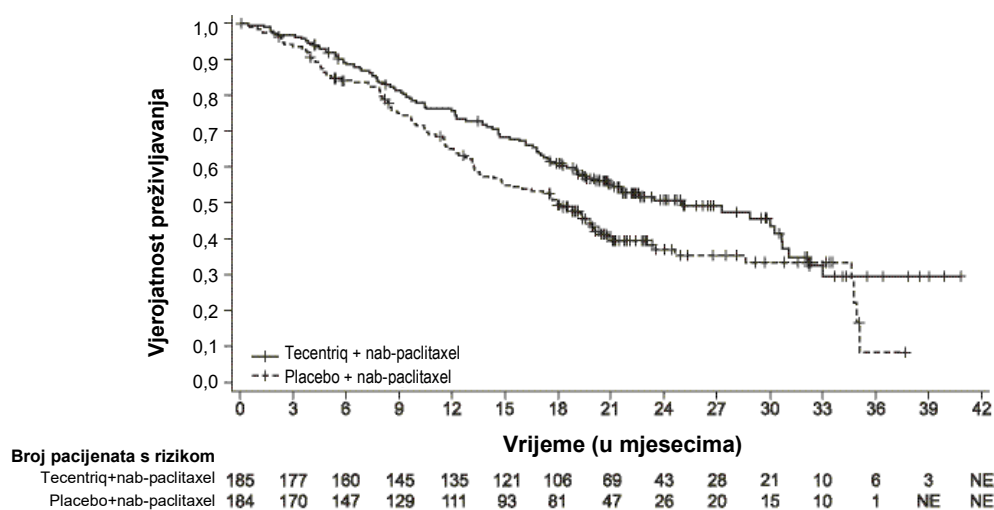
[d] Prema drugoj privremenoj analizi OS i istraživačkoj analizi za PFS pri kliničkoj graničnoj vrijednosti od 2. siječnja 2019.

[e] Stratificirano prema prisutnost metastaza jetre i prethodnom liječenju taksanom.

PFS = preživljavanje bez napredovanja bolesti; RECIST=Response Evaluation Criteria in Solid Tumors v1.1.; CI = interval pouzdanosti; ORR = stopa objektivnog odgovora; DOR = trajanje odgovora; OS = ukupno preživljavanje, NE = nije moguće procijeniti



Slika 7 Kaplan-Meierova krivulja preživljavanja bez napredovanja bolesti u ispitivanju IMpassion130 u pacijenata s ekspresijom proteina PD-L1 $\geq 1\%$ IC.



Slika 8 Kaplan-Meierova krivulja ukupnog preživljavanja u ispitivanju IMpassion130 u pacijenata s ekspresijom proteina PD-L1 $\geq 1\%$ IC.

LITERATURA

- 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, 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.
- 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 F, Hladik C. *Histotechnology: A Self Instructional Text*, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
- Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
- Anatomic Pathology Checklist. College of American Pathologists. Jul 28, 2015.
- CLSI. *Quality assurance for design control and implementation of immunohistochemistry assay: approved guidelines*. 2nd edition Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011.
- Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech Histochem.* 1991;66(4):194-199.
- Hautzer NW, Wittkuhn JF, McCaughey WT. Trypsin digestion in immunoperoxidase staining. *J Histochem Cytochem.* 1980;28(1):52-53.
- 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.
- Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. *Lab Med.* 1983;14:767.

INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO

VENTANA, BENCHMARK, OPTIVIEW i logotip VENTANA žigovi su tvrtke Roche. Svi ostali trgovački znakovi pripadaju njihovim vlasnicima.

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

INFORMACIJE O KONTAKTU



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany



www.ventana.com

