



SEELER & DR. FELLMETH
NOTARE

КОПИЯ

NOTARE SEELER & DR. FELLMETH · Q7, 23 · 68161 MANNHEIM

Beglaubigte Ablichtung

Die Übereinstimmung nachstehender Fotokopie mit dem Original wird hiermit beglaubigt.

Mannheim, den 17. JULI 2020

Claudia Seeler
Notarin in Mannheim



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**(INSTRUCTION FOR USE)****НА МЕДИЦИНСКОЕ ИЗДЕЛИЕ**

Реагент Ventana PD-L1 (SP142) Assay для иммуногистохимической оценки лиганда-1 белка программируемой смерти в in vitro диагностике к иммуностейнерам автоматическим серии Ventana BenchMark

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim, Germany

Approved by

Roche Diagnostics GmbH

Date: 16. July 2020



Andrea Weber
Manager Global Regulatory
Affairs

Stamp

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Straße 116
D-68305 Mannheim

2020

Roche Diagnostics GmbH; Sandhofer Straße 116; D-68305 Mannheim; Telefon +49-621-759-0; Telefax +49-621-759-2890

Sitz der Gesellschaft: Mannheim - Registergericht: AG Mannheim HRB 3962 - Geschäftsführung: Claus Haberda; Andreas Schmitz - Aufsichtsratsvorsitzender: Dr. Thomas Schinecker

Для обращения на территории Российской Федерации назначение Реагента Ventana PD-L1 (SP142) Assay для иммуногистохимической оценки лиганда-1 белка программируемой смерти в *in vitro* диагностике к иммуностейнерам автоматическим серии Ventana BenchMark следующее:

Реагент VENTANA PD-L1 (SP142) Assay предназначен для иммуногистохимической оценки содержания лиганда-1 белка программируемой смерти (PD-L1) в опухолевых клетках и иммунокомпетентных клетках, инфильтрирующих ткань опухоли, в фиксированных формалином и залитых парафином (FFPE) срезах ткани уротелиальной карциномы и немелкоклеточной карциномы легких (NSCLC), окрашенных с помощью наборов OptiView DAB IHC Detection Kit и OptiView Amplification Kit на приборе VENTANA BenchMark IHC/ISH.

Определение статуса PD-L1 представляет собой специфичное показание, оценка статуса основана либо на соотношении области опухоли с экспрессирующими PD-L1 иммунокомпетентными клетками, инфильтрирующими ткань опухоли (% IC), любой интенсивности, либо на процентном соотношении экспрессирующих PD-L1 опухолевых клеток (% TC) любой интенсивности.

Экспрессия PD-L1 (≥ 5 % IC) в иммунокомпетентных клетках, инфильтрирующих ткань опухоли (IC), определяемая посредством VENTANA PD-L1 (SP142) Assay в ткани уротелиальной карциномы указана для облегчения идентификации пациентов с уротелиальной карциномой, которым показано лечение препаратом TECENTRIQ (atezolizumab).

Экспрессия PD-L1 в опухолевых клетках (≥ 50 % TC) или иммунокомпетентных клетках, инфильтрирующих ткань опухоли (≥ 10 % IC), определяемая посредством VENTANA PD-L1 (SP142) Assay в ткани NSCLC указана для облегчения идентификации пациентов, которым показано лечение препаратом TECENTRIQ (atezolizumab).

Данный продукт предназначен для диагностики *in vitro* (IVD).

Примечание:

Торговое наименование лекарственного препарата ТЕЦЕНТРИК®, производитель Рош Diagnostik GmbH, Германия (Регистрационное удостоверение № ЛП-004652 от 18.01.2018 г, дата окончания срока действия 18.01.2023 г.)

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay

REF 741-4860

08008540001

IVD 50

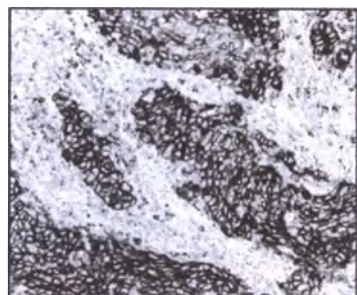


Рис 1. Экспрессия PD-L1 при
немелкоклеточном раке легкого.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay предназначен для иммуногистохимической оценки содержания лиганда-1 белка программируемой смерти (PD-L1) в опухолевых клетках и иммунокомпетентных клетках, инфильтрирующих ткань опухоли, в фиксированных формалином и залитых парафином (FFPE) срезах ткани уротелиальной карциномы и немелкоклеточной карциномы легких (NSCLC), окрашенных с помощью наборов OptiView DAB IHC Detection Kit и OptiView Amplification Kit на приборе VENTANA BenchMark IHC/ISH.

Определение статуса PD-L1 представляет собой специфичное показание, оценка статуса основана либо на соотношении области опухоли с экспрессирующими PD-L1 иммунокомпетентными клетками, инфильтрирующими ткань опухоли (% IC), любой интенсивности, либо на процентном соотношении экспрессирующих PD-L1 опухолевых клеток (% TC) любой интенсивности. Экспрессия PD-L1 может быть связана с улучшенными результатами пациентов, наблюдаемых в клинических исследованиях.

Экспрессия PD-L1 в иммунокомпетентных клетках, инфильтрирующих ткань опухоли (IC), определяемая посредством VENTANA PD-L1 (SP142) Assay в ткани уротелиальной карциномы, указана для облегчения идентификации пациентов с уротелиальной карциномой, которым показано лечение с помощью TECENTRIQ (atezolizumab) и может быть связана с увеличением частоты объективного ответа (ORR).

Экспрессия PD-L1 в опухолевых клетках (TC) или иммунокомпетентных клетках, инфильтрирующих ткань опухоли (IC), определяемая посредством VENTANA PD-L1 (SP142) Assay в ткани NSCLC, может быть связана с улучшением общей выживаемости.

См. этикетку продукта TECENTRIQ для определения предельных значений PD-L1, указывающих направление лечения в некоторых клинических условиях.

Данный продукт предназначен для диагностики *in vitro* (IVD).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ИНФОРМАЦИЯ

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay представляет собой иммуногистохимический анализ, при котором используются кроличьи моноклональные первичные антитела anti-PD-L1 для обнаружения белка лиганда-1 программируемой клеточной смерти (PD-L1). Данный анализ разработан Roche/Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana) и Roche/Genentech для определения пациентов, которые с большей степенью вероятности отреагируют на лечение TECENTRIQ®.

PD-L1 — это трансмембранный белок, который подавляет иммунные ответы, связываясь с двумя рецепторами белка программируемой смерти-1 (PD-1) и B7.1. PD-1 представляет собой ингибиторный рецептор, который экспрессируется на Т-лимфоцитах после активации Т-лимфоцитов, стабильно присутствующей при состояниях постоянной стимуляции, таких как хроническая инфекция или рак¹. Связывание PD-L1 с PD-1 подавляет пролиферацию Т-лимфоцитов, продукцию цитокинов и цитолитическую активность, что приводит к функциональной инактивации или истощению Т-лимфоцитов. B7.1 — молекула, которая экспрессируется на антигенпредставляющих клетках и активированных Т-лимфоцитах. Связывание PD-L1 с B7.1 на Т-лимфоцитах и антигенпредставляющих клетках может способствовать снижению числа иммунных ответов, включая ингибирование активации Т-лимфоцитов и выработки цитокинов². Экспрессия PD-L1 наблюдалась в иммунных и опухолевых клетках. Было выявлено, что aberrantная экспрессия PD-L1 на опухолевых клетках (TC) препятствует функционированию противоопухолевого иммунитета, приводя к ускользанию от механизмов иммунологического надзора^{1,3}. Таким образом,

прерывание метаболического пути PD-L1/PD-1 представляет собой перспективную стратегию укрепления опухолеспецифического Т-клеточного иммунитета, подавляемого экспрессией PD-L1 в опухолевом микроокружении. Данные о связи между экспрессией PD-L1 в TC или иммунокомпетентных клетках, инфильтрирующих ткань опухоли (IC), а также о клинической пользе ингибитора пути PD-L1/PD-1 представлены в исследованиях различных типов рака³⁻⁹.

Atezolizumab представляет собой препарат Fc, гуманизированное моноклональное антитело, которое связывается с PD-L1 и блокирует взаимодействие между рецепторами PD-1 и B7.1. Atezolizumab является негликозилированным иммуноглобулином IgG1 kappa с молекулярной массой, составляющей 145 кДа.

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

В анализе VENTANA PD-L1 (SP142) Assay используется кроличье моноклональное первичное антитело, которое связывается с PD-L1 в залитых парафином тканевых срезах. Специфическое антитело можно визуализировать с использованием диагностического набора OptiView DAB IHC Detection Kit (№ по каталогу: 760-700/06396500001), после чего используется набор для амплификации OptiView Amplification Kit (№ по каталогу: 760-099/06396518001 (50 тестов) или 860-099/06718663001 (250 тестов)). Дополнительная информация представлена в листках-вкладышах к наборам OptiView DAB IHC Detection Kit и OptiView Amplification Kit.

РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay содержит количество реагента, достаточное для проведения 50 тестов.

Один дозатор VENTANA PD-L1 (SP142) Assay объемом 5 мл содержит приблизительно 36 мкг кроличьего моноклонального антитела.

Антитело разведено в 0,05 M Tris-буферном солевом растворе, содержащем 0,01 M EDTA, 0,05 % раствор Brij-35 с 0,3 % белка-носителя и 0,05 % азида натрия в качестве консерванта.

Общая концентрация белка в реагенте составляет приблизительно 3 мг/мл. Концентрация специфических антител составляет приблизительно 7 мг/мл.

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay содержит рекомбинантное кроличье моноклональное антитело, полученное из супернатанта очищенной клеточной культуры.

В соответствующем руководстве по интерпретации содержатся подробные инструкции по интерпретации окрашивания VENTANA PD-L1 (SP142) Assay в специфических условиях.

- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for Urothelial Carcinoma (номер по каталогу: 1015704EN)
- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Interpretation Guide for NSCLC (номер по каталогу: 1015703EN)

Более подробное описание следующих разделов представлено в соответствующем листке-вкладыше к набору для обнаружения VENTANA: 1) принципы процедуры; 2) необходимые, но не входящие в комплект поставки материалы и реагенты; 3) сбор образцов и подготовка к анализу; 4) процедуры контроля качества; 5) проблемы и их устранение; 6) интерпретация результатов; 7) общие ограничения.

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ МАТЕРИАЛЫ

В комплект поставки не входят окрашивающие реагенты, такие как наборы для обнаружения VENTANA и вспомогательные компоненты, включая микропрепараты ткани для отрицательного и положительного контроля.

Для окрашивания могут потребоваться следующие реагенты и материалы.

1. Ткани доброкачественных опухолей небных миндалин человека, используемые в качестве контроля тканей
2. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (номер по каталогу: 790-4795/06683380001)
3. Предметные стекла для микроскопа (с положительным зарядом)
4. Этикетки со штрих-кодом
5. Ксилол (гистологической степени очистки)
6. Этанол или спиртосодержащий реагент (гистологической степени очистки)
 - 100 %-й раствор: неразбавленный этанол или спиртосодержащий реагент.



- 95 %-й раствор: смешать 95 частей этанола или спиртосодержащего реагента с 5 частями деионизированной воды.
 - 80 %-й раствор: смешать 80 частей этанола или спиртосодержащего реагента с 20 частями деионизированной воды.
7. Деионизированная или дистиллированная вода
 8. OptiView DAB IHC Detection Kit (номер по каталогу: 760-700/06396500001)
 9. OptiView Amplification Kit (номер по каталогу: 760-099/06396518001 (50 тестов) или 860-099/06718663001 [250 тестов])
 10. EZ Prep Concentrate (10X) (номер по каталогу: 950-102/05279771001)
 11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (номер по каталогу: 950-300/05353955001)
 12. LCS (Predilute) (номер по каталогу: 650-010/05264839001) для приборов BenchMark XT и GX
 13. ULTRA LCS (Predilute) (номер по каталогу: 650-210/05424534001) для прибора BenchMark ULTRA
 14. Cell Conditioning Solution (CC1) (номер по каталогу: 950-124/05279801001) для приборов BenchMark XT и GX
 15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (номер по каталогу: 950-224/05424569001) для прибора BenchMark ULTRA
 16. Hematoxylin II counterstain (номер по каталогу: 790-2208/05277965001)
 17. Bluing Reagent (номер по каталогу: 760-2037/05266769001)
 18. Перманентная заклеивающая среда (Permount Fisher, номер по каталогу: SP15-500; или эквивалентная)
 19. Покровное стекло (достаточное для помещения образцов ткани под стекло, такое как VWR; номер по каталогу: 48393-060)
 20. Автоматическое устройство для заклеивания препаратов покровными стеклами (такое как Tissue-Tek SCA Automated Coverslipper)
 21. Световой микроскоп
 22. Гигроскопические салфетки

Некоторые из перечисленных в листке-вкладыше продуктов в некоторых странах могут быть недоступны. Проконсультируйтесь с местным представителем службы поддержки.

ХРАНЕНИЕ

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

Для обеспечения надлежащей сохранности реагента и стабильности антител после каждого использования необходимо менять крышку флакона-дозатора и сразу ставить его в холодильник в вертикальном положении.

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

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

При использовании наборов для обнаружения VENTANA и инструментов BenchMark IHC/ISH данное первичное антитело можно использовать со стандартно обработанными, фиксированными формалином и залитыми в парафин тканями. Ventana рекомендует использовать 10 % нейтральный буферный формалин (NBF) в качестве фиксатора, при этом тканевые срезы должны находиться в формалине не менее 6 часов, но и не более 72 часов. Время фиксации менее 6 часов может привести к потере интенсивности окрашивания на PD-L1. Используемое количество NBF должно составлять от 15 до 20 объемов ткани. За 24 часа фиксатор проникает в плотную ткань не более чем на 2–3 мм, а в пористую ткань — не более чем на 5 мм. Фиксацию можно проводить при комнатной температуре (15–25 °C)^{10,11}.

При обработке образцов такими фиксаторами, как спирт-формалин-уксусная кислота (AFA), фиксатор PREFER и другими спиртосодержащими фиксаторами наблюдалось отсутствие специфического окрашивания на PD-L1 при любом протестированном времени фиксации (1–72 часа). Поэтому их использование для данного метода не рекомендуется. Дополнительная информация о том, каким образом подготовка образца влияет на PD-L1, содержится в руководстве по интерпретации.

Необходимо получить срезы толщиной приблизительно 4 мкм и нанести их на положительно заряженные предметные стекла. Микропрепараты следует немедленно окрасить, так как антигенность срезов ткани со временем может уменьшаться и ухудшаться в течение 3 месяцев после их получения путем приготовления срезов из парафинового блока для образцов уротелиальной

карциномы и в течение 2 месяцев для образцов немелкоклеточной карциномы легких (NSCLC) и образцов небных миндалин (дополнительная информация приведена в руководстве по интерпретации и в разделе «Рабочие характеристики», следующем далее).

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Для диагностики *in vitro* (IVD).
2. Только для профессионального использования.
3. Материалы человеческого или животного происхождения следует считать биологически опасными материалами и утилизировать, соблюдая все необходимые меры предосторожности.
4. Избегайте контакта реагентов с глазами или слизистыми оболочками. При попадании реагентов на чувствительные участки промойте эти участки достаточным количеством воды.
5. Не допускайте микробного загрязнения реагентов, поскольку это может привести к получению неверных результатов.
6. Проконсультируйтесь с местными и (или) государственными органами в отношении рекомендованного способа утилизации.
7. Дополнительная информация о безопасности содержится в паспорте безопасности продукта и руководстве по условным обозначениям и фразам риска на сайте www.ventana.com.

ПРОЦЕДУРА ОКРАШИВАНИЯ

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay разработан для использования на приборах BenchMark IHC/ISH в сочетании с Rabbit Monoclonal Negative Control Ig, набором для обнаружения OptiView DAB IHC Detection Kit, набором для амплификации OptiView Amplification Kit и вспомогательными реагентами. Процедура специфического окрашивания должна проводиться с использованием VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Рекомендуемый протокол окрашивания и необходимая процедура окрашивания приведены в Табл 1. Любое отклонение от рекомендованных процедур проведения теста может привести к тому, что ожидаемые результаты будут недействительными. Необходимо использовать и документировать надлежащие контроли. Пользователи, которые отклоняются от рекомендованных процедур проведения теста, должны принимать на себя всю ответственность за интерпретацию результатов пациента.

Данное антитело оптимизировано для инкубации в течение конкретных периодов времени, однако пользователю необходимо провести валидацию результатов, полученных с использованием данного реагента.

Параметры автоматических процедур могут быть отображены на экране, напечатаны и отредактированы согласно процедуре, описанной в руководстве пользователя, прилагаемом к соответствующему прибору. Подробная информация по процедурам иммуногистохимического окрашивания представлена в листке-вкладыше к набору для обнаружения VENTANA.

Табл 1. Рекомендованный протокол окрашивания и необходимые процедуры окрашивания для VENTANA PD-L1 (SP142) Assay и Rabbit Monoclonal Negative Control Ig с использованием набора для обнаружения OptiView DAB IHC Detection Kit и набора для амплификации OptiView Amplification Kit на приборах BenchMark ULTRA, BenchMark XT или BenchMark GX.

Процедура окрашивания: ULTRA VENTANA PDL1 (SP142) XT VENTANA PDL1 (SP142) GX VENTANA PDL1 (SP142)	
Этап протокола	Ввод параметров
Прогрев	Дополнительно
Антитела (первичные)	Выбрано VENTANA PD-L1 (SP142) или отрицательный контроль
Контрокрасивание	Hematoxylin II, 4 минуты
Обработка после контрокрасивания	Bluing, 4 минуты

ПРОЦЕДУРЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

Rabbit Monoclonal Negative Control Ig

Для облегчения интерпретации результатов необходимо использовать соответствующее предметное стекло для отрицательного контроля реагента для каждого образца. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig, антитело для отрицательного контроля реагента, специально подобрано для данного анализа и используется вместо первичного антитела для оценки неспецифического окрашивания. Период процедуры окрашивания с отрицательным контролем реагентов должен соответствовать периоду инкубации с первичным антителом. Использование другого реагента для отрицательного контроля или неиспользование рекомендованного реагента отрицательного контроля может привести к получению неверных результатов.

Тканевый контроль небных миндалин

Тканевый контроль должен быть включен в каждый цикл окрашивания. В качестве контроля тканей используются охарактеризованные ткани доброкачественных опухолей небных миндалин человека. Контрольный образец ткани должен быть моментально зафиксирован и обработан так же, как и в случае с тканями пациента. С помощью такой ткани можно контролировать все этапы анализа, начиная от подготовки ткани и заканчивая окрашиванием. Ткань небных миндалин содержит элементы с положительным и отрицательным окрашиванием для белка PD-L1, поэтому она подходит для использования в качестве тканевого контроля. Положительно и отрицательно окрашиваемые тканевые структуры используются для подтверждения правильности действия анализа.

Надлежащее окрашивание структур ткани небных миндалин описано в Табл 2 и в руководствах по интерпретации.

Верификация анализа

Прежде чем использовать первичное антитело или систему окрашивания в диагностических целях, необходимо удостовериться в специфичности данного первичного антитела, окрасив серию тканей с известными иммуногистохимическими характеристиками. В серию должны входить ткани с положительным и отрицательным окрашиванием на PD-L1 (более подробная информация содержится в разделе «Процедуры контроля качества», приведенном ранее в данном вкладыше, а также в «Рекомендациях по контролю качества» источников College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist¹² или CLSI Approved Guideline¹³). Эти процедуры контроля качества необходимо повторять для каждой новой партии антител или при каждом изменении параметров анализа. Для верификации анализа можно использовать ткани уротелиальной карциномы и мелкоклеточной карциномы легких (NSCLC) с известным статусом PD-L1, а также ткани доброкачественных опухолей небных миндалин человека.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При проведении автоматической процедуры иммунного окрашивания VENTANA наблюдается выпадение коричневого осадка DAB в местах локализации антигена, обнаруженного антителом VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Окрашенные препараты интерпретируются квалифицированным патоморфологом, использующим световой микроскоп. Перед интерпретацией полученных результатов тканевые контроли и окрашенный продукт должны быть оценены квалифицированным патоморфологом, имеющим опыт и владеющим процедурами ИНС.

Интерпретация тканевого контроля небных миндалин

Окрашенный тканевый контроль небных миндалин необходимо исследовать, чтобы убедиться в получении надлежащего окрашивания. Наличие окрашивания макрофагов и лимфоцитов на PD-L1 в зародышевых центрах и сетчатом эпителии крипт небных миндалин является элементом положительного контроля ткани. Отсутствие окрашивания в поверхностных слоях плоского эпителия и отрицательный результат при исследовании иммунокомпетентных клеток в интерфолликулярных зонах небных миндалин являются элементами отрицательного контроля ткани. Критерии приемлемости приведены в Табл 2. (дополнительная информация приведена в руководствах по интерпретации.) Если в рамках тканевого контроля надлежащее окрашивание не наблюдается, все результаты образцов пациента следует считать неверными. Необходимо выполнить повторное окрашивание.

Табл 2. Критерии оценки тканевого контроля небных миндалин.

Приемлемое	Недопустимый результат
Элементы положительного контроля ткани: Умеренное или сильное окрашивание на PD-L1, наблюдаемое в лимфоцитах и макрофагах в зародышевых центрах и диффузное окрашивание в сетчатом эпителии крипт.	Чрезмерное неспецифическое фоновое окрашивание, препятствующее определению клеток, положительных на PD-L1.
Элементы отрицательного контроля ткани: Иммунокомпетентные клетки, отрицательные на PD-L1, в интерфолликулярных зонах с отрицательным результатом в поверхностных слоях плоского эпителия.	Слабое окрашивание на PD-L1 или его отсутствие, наблюдаемое в лимфоцитах и макрофагах в зародышевых центрах и сетчатом эпителии крипт.

Отрицательный контроль реагента

Неспецифическое окрашивание (при наличии) будет иметь диффузный характер и может быть оценено с использованием микропрепарата с отрицательным контролем реагента, окрашенного Rabbit Monoclonal Negative Control Ig. Для интерпретации результатов окрашивания следует использовать интактные клетки, так как некротические и вырожденные клетки часто окрашиваются неспецифично. Если наблюдается чрезмерное фоновое окрашивание, результаты для исследуемого образца считаются недостоверными. Примеры фонового окрашивания при данном анализе представлены в руководствах по интерпретации.

Ткань пациента

Опухолевые клетки (ТС) оцениваются в процентах опухолевых клеток с наличием видимого окрашивания мембраны PD-L1 любой интенсивности. Иммунокомпетентные клетки, инфильтрирующие ткань опухоли, (IC) оцениваются в соотношении области опухоли, в том числе вызванные внутриопухолевой и продолжительной перитуморальной стромой с окрашиванием PD-L1 IC любой интенсивности. Ткань пациента должна оцениваться в соответствии со специфичным для определенного показания алгоритмом оценивания анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, представленного в разделе «Рабочие характеристики» для данного показания. Дополнительные инструкции и соответствующие изображения приведены в специфичном для определенного показания руководстве по интерпретации.

ОБЩИЕ ОГРАНИЧЕНИЯ

1. ИНС является многоступенчатым диагностическим процессом, который требует от персонала специальной подготовки по выбору необходимых реагентов, тканей, способов фиксации, обработки и подготовки иммуногистохимического препарата, а также интерпретации результатов окрашивания.
2. На результаты окрашивания ткани влияет обращение с тканью и обработка ее перед окрашиванием. Ненадлежащая фиксация, замораживание, оттаивание, промывка, просушка, нагрев, выполнение срезов или загрязнение другими тканями или жидкостями может привести к появлению артефактов, захвату антитела или получению ложноотрицательных результатов. Противоречивые результаты могут быть следствием различий в методах фиксации и заливки или внутренней неоднородности ткани.
3. Избыточное или неполное контрастное окрашивание может негативно повлиять на правильность интерпретации результатов.
4. Клиническая интерпретация любого положительного окрашивания либо его отсутствия должна проводиться с учетом данных истории болезни, морфологии и других гистопатологических критериев. Клиническая интерпретация окрашивания либо его отсутствия должна также дополняться морфологическими исследованиями, контролями системного уровня и результатами других диагностических тестов. Квалифицированный патоморфолог обязан знать характеристики используемых антител, реагентов и способов интерпретации окрашенного препарата. Окрашивание должно проводиться в сертифицированной и лицензированной лаборатории под контролем патоморфолога, который несет ответственность за просмотр

окрашенных препаратов и обеспечение достоверности положительных и отрицательных контролей.

- Антитела и реагенты компании Ventana Medical Systems, Inc. в комплекте поставки имеют оптимальную концентрацию для применения в соответствии с прилагаемой инструкцией. Любое отклонение от рекомендованных процедур проведения теста может привести к тому, что ожидаемые результаты будут недействительными. Необходимо использовать и документировать надлежащие контроли. Пользователи, которые отклоняются от рекомендованных процедур проведения теста, должны принимать на себя всю ответственность за интерпретацию результатов пациента.
- Данный продукт не предназначен для использования в проточной цитометрии. Проверка характеристик не проводилась.
- При использовании реагентов с тканями, которые ранее не тестировались, могут возникнуть неожиданные реакции. В связи с биологическим разнообразием экспрессии антигена в опухолях и других патологических тканях полностью исключить возможность непредусмотренной реактивности нельзя даже для тех тканей, на которых данные реагенты уже тестировались^{14, 15}.
- Ткани пациентов, инфицированных вирусом гепатита В, содержащие поверхностный антиген гепатита В (HBsAg), могут показывать неспецифическое окрашивание при обработке пероксидазой хрена¹⁶.
- Ложноположительные результаты могут возникать вследствие неиммунологического связывания белков или продуктов реакции в субстрате. Ложноположительные результаты возможны из-за псевдопероксидазной активности (за счет эритроцитов), активности эндогенных пероксидаз (цитохром С) или из-за эндогенного биотина (например, в печени, головном мозге, молочных железах и почках) в зависимости от используемого иммунологического красителя¹⁷.
- Как и в любом иммуногистохимическом тесте, отрицательный результат означает, что антиген не обнаружен. Это не равнозначно отсутствию антигена в анализируемых клетках или ткани.

ОСОБЫЕ ОГРАНИЧЕНИЯ

- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay одобрен исключительно для использования на приборах BenchMark IHC/ISH с набором для обнаружения OptiView DAB IHC Detection Kit и набором для амплификации OptiView Amplification Kit и не предназначен для использования с другими приборами и инструментами.
- Препарат образца пациента необходимо окрашивать с помощью реагента Rabbit Monoclonal Negative Control Ig. Другие реагенты для отрицательного контроля непригодны для использования в данном анализе.
- Данный анализ не был валидирован для использования с цитологическими образцами или декальцифицированными костными образцами.
- Окрашивание ткани пациента необходимо выполнить в течение 2 месяцев с момента приготовления среза из блока ткани для обнаружения OptiView DAB IHC Detection Kit и в течение 3 месяцев для тканей уротелиальной карциномы. С помощью VENTANA PD-L1 (SP142) Assay была обнаружена потеря интенсивности окрашивания у тканевых срезов, хранившихся при комнатной температуре в течение промежутка времени, превышающего вышеуказанные рамки.
- Компания Ventana рекомендует выдерживать образцы в течение 6–72 часов в 10 % растворе нейтрального буферизованного формалина (NBF). Время фиксации и типы фиксаторов, отличные от рекомендованных, могут привести к ложноотрицательным результатам. Такие фиксаторы, как AFA, PREFER и другие фиксаторы на спиртовой основе показали потерю специфического окрашивания белка PD-L1. (Дополнительная информация приведена в руководствах по интерпретации.)
- Наличие артефактов, таких как DAB spots (пятна DAB), Blank spots (Неокрашенные пятна), DAB dots (Точки DAB) и (или) Speckling (Спеклы), может привести к необходимости выполнения повторного окрашивания, если они оказывают негативное влияние на интерпретацию результатов анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Необходимо выполнять сравнение окрашенного препарата PD-L1 с отрицательным контролем реагента, чтобы убедиться в приемлемости фона. (Дополнительная информация приведена в руководствах по интерпретации.)
- Периодические наблюдались точки DAB в доброкачественных опухолях небных миндалин человека, тканях мозга и яичка. Фокальное ядерное окрашивание обнаружено в нормальных образцах ткани поджелудочной железы (ацинацит) и в образцах ткани гипофиза (табл. 3). Однако ядерное

окрашивание не включается в оценочный алгоритм окрашивания анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ — ОБЩИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Было проведено тестирование специфичности и чувствительности окрашивания, влияния толщины тканей, повторяемости, внутрилабораторной прецизионности, а также тестирование прецизионности исследователя, межлабораторной воспроизводимости и исследование клинических результатов. Результаты представлены в следующих разделах.

Специфичность

Массивы, содержащие множество нормальных тканей, были окрашены при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay и оценены на предмет наличия окрашивания иммунокомпетентных клеток (любое окрашивание иммунокомпетентных клеток, любой интенсивности), как указано в Табл. 3.

Табл. 3. Специфичность окрашивания VENTANA PD-L1 (SP142) Assay определяли путем тестирования фиксированных формалином и залитых парафином здоровых тканей.

Ткань	Кол-во положительных случаев/общее кол-во случаев	Ткань	Кол-во положительных случаев/общее кол-во случаев
Надпочечник	1/3	Сердечная мышца	0/3
Мочевой пузырь	3/36**	Скелетные мышцы	0/2
Молочная железа	1/3	Миелоидная ткань	0/2
Мозжечок	0/3***	Периферические нервы	0/3
Головной мозг	0/3	Яичник	0/3
Шейка матки	2/2	Поджелудочная железа	0/3****
Толстый кишечник	2/3	Паразитовидная железа	0/2
Эндометрий	1/3	Простата	0/3
Пищевод	0/3	Слюнная железа	2/3
Гипофиз	0/3****	Кожа	0/3
Тонкая кишка	1/3	Селезенка	3/3
Почка	2/3	Желудок	0/3
Язычная железа	0/1	Яичко	0/3***
Печень	0/3	Тимус	3/3
Легкое	1/25	Щитовидная железа	1/3
Лимфоузлы	3/3	Миндалины	3/3
Мезотелий	0/3		

* Окрашивание иммунокомпетентных клеток любой интенсивности.

** Очаговое окрашивание иммунокомпетентных клеток.

*** Очаговые точки DAB были обнаружены в 1 из 3 образцов ткани мозжечка и в 1 из 3 образцов ткани яичка.

**** Ядерное окрашивание обнаружено в 1 из 3 образцов ткани поджелудочной железы и в 1 из 3 образцов ткани гипофиза.

Чувствительность

Массив неопластических тканей был оценен на предмет окрашивания иммунокомпетентных клеток и опухолевых клеток с помощью анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, как описано в Табл 4.

Табл 4. Чувствительность окрашивания VENTANA PD-L1 (SP142) Assay определяли путем тестирования различных фиксированных формалином и залитых парафином опухолевых тканей.

Происхождение	Патология	Кол-во положительных случаев*/общее кол-во случаев	
		Иммунокомпетентные клетки	Опухолевые клетки
Брюшная полость	Злокачественная мезотелиома	1/1	0/1
Спина	Нейрофиброма	1/1	0/1
Мочевой пузырь	Злокачественная лейомиосаркома низкой степени дифференцировки	0/1	0/1
Мочевой пузырь	Переходноклеточная карцинома	1/1	0/1
Кость	Остеосаркома	0/1	0/1
Молочная железа	Инвазивная протоковая карцинома	1/1	0/1
Молочная железа	Интрадуктальная карцинома с ранним инфильтратом	1/1	0/1
Головной мозг	Глиобластома	0/1	0/1
Головной мозг	Атипичная менингиома	0/1	0/1
Головной мозг	Злокачественная эпендимомы	0/1	0/1
Головной мозг	Олигодендроглиома	0/1	0/1
Толстый кишечник	Аденокарцинома	1/1	0/1
Толстый кишечник	Интерстициальная опухоль	0/1	0/1
Пищевод	Плоскоклеточная карцинома	0/1	0/1
Пищевод	Аденокарцинома	1/1	0/1
Стенка кишечника	Аденокарцинома	1/1	0/1
Стенка кишечника	Стромальная саркома	1/1	0/1
Почка	Светлоклеточная карцинома	1/1	0/1
Печень	Гепатоцеллюлярная карцинома	0/1	0/1
Печень	Гепатобластома	1/1	0/1
Легкое	Аденокарцинома	0/1	0/1
Легкое	Недифференцированная мелкоклеточная карцинома	1/1	0/1
Легкое	Плоскоклеточная карцинома	1/1	0/1
Лимфоузлы	Диффузная В-клеточная лимфома	1/1**	1/1**
Лимфоузлы	Лимфома Hodgkin	1/1	0/1
Средостение	Диффузная В-клеточная лимфома	1/1**	1/1**

Происхождение	Патология	Кол-во положительных случаев*/общее кол-во случаев	
		Иммунокомпетентные клетки	Опухолевые клетки
Гладкая мышца	Злокачественная лейомиосаркома умеренной степени дифференцировки	1/1	0/1
Поперечно-полосатая мышца	Эмбриональная рабдомиосаркома	0/1	0/1
Яичник	Серозная аденокарцинома	1/1	0/1
Яичник	Аденокарцинома	1/1	0/1
Поджелудочная железа	Инсулинома	0/1	0/1
Поджелудочная железа	Аденокарцинома	1/1	0/1
Полость малого таза	Анапластическая крупноклеточная лимфома	1/1**	1/1**
Простата	Аденокарцинома	0/2	0/2
Прямая кишка	Аденокарцинома	1/1	1/1
Прямая кишка	Злокачественная интерстициома умеренной степени дифференцировки	0/1	0/1
Прямая кишка	Злокачественная меланома	1/1	0/1
Забрюшинное пространство	Нейробластома	1/1	0/1
Забрюшинное пространство	Веретеноклеточная рабдомиосаркома	0/1	0/1
Кожа	Базальноклеточная карцинома	1/1	0/1
Кожа	Плоскоклеточная карцинома	1/1	0/1
Селезенка	Диффузная В-клеточная лимфома	1/1*	1/1*
Желудок	Перстневидноклеточная карцинома	1/1	0/1
Яичко	Семинома	1/1	0/1
Яичко	Эмбриональная карцинома	0/1	0/1
Щитовидная железа	Медуллярная карцинома	0/1	0/1
Щитовидная железа	Папиллярная карцинома	0/1	1/1
Шейка матки	Плоскоклеточная карцинома	2/2	0/2
Матка	Лейомиома	0/1	0/1
Матка	Аденокарцинома	1/1	0/1
Матка	Светлоклеточная карцинома эндометрия	1/1	1/1

* Окрашивание иммунокомпетентных клеток или опухолевых клеток любой интенсивности.

** Окрашивание опухолевых клеток и иммунокомпетентных клеток не подлежит дифференцированию.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ – УРОТЕЛИАЛЬНАЯ КАРЦИНОМА

Алгоритм оценивания – уротелиальная карцинома

Ткань уротелиальной карциномы должна оцениваться в соответствии с алгоритмом оценивания анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, представленного в Табл 5. Дополнительные инструкции и соответствующие изображения приведены в руководстве по интерпретации (номер по каталогу: 1015704EN).

Табл 5. Алгоритм оценивания VENTANA PD-L1 (SP142) Assay для уротелиальной карциномы.

Оценка окрашивания иммунокомпетентных клеток (IC)	Экспрессия PD-L1
Отсутствие видимого окрашивания PD-L1 ИЛИ Наличие видимого окрашивания PD-L1 любой интенсивности в иммунокомпетентных клетках, инфильтрирующих ткань опухоли, покрывающих < 5 % области опухоли с опухолевыми клетками, вызванными внутриопухолевой и продолжительной перитуморальной стромой.	< 5 % IC
Наличие видимого окрашивания PD-L1 любой интенсивности в иммунокомпетентных клетках, инфильтрирующих ткань опухоли, покрывающих ≥ 5 % области опухоли с опухолевыми клетками, вызванными внутриопухолевой и продолжительной перитуморальной стромой.	≥ 5 % IC

Окрашивание PD-L1 в опухолевых клетках не включается в оценочное определение уротелиальной карциномы у пациентов.

Толщина ткани – уротелиальная карцинома

Толщина ткани была оценена с помощью 5 уникальных образцов уротелиальной карциномы (3 PD-L1 ≥ 5 % IC и 2 PD-L1 < 5 % IC). В рамках каждого случая были исследованы двойные срезы по 2, 3, 4, 5, 6 и 7 микрон. При окрашивании анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay все ткани вне зависимости от толщины продемонстрировали надлежащее специфическое окрашивание на PD-L1 и соответствующие уровни фонового окрашивания. В рамках диапазона исследованной толщины изменение статуса PD-L1 в срезах отмечено не было. Компания Ventana рекомендует использовать образцы толщиной 4 микрона для окрашивания при анализе VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Повторяемость и внутрилабораторная прецизионность – уротелиальная карцинома

Исследования окрашивания образцов уротелиальной карциномы при анализе VENTANA PD-L1 (SP142) Assay были выполнены с целью продемонстрировать следующее.

- Для определения межсуточной повторяемости – по 5 повторностей микропрепаратов каждого из 24 уникальных образцов уротелиальной карциномы (12 PD-L1 ≥ 5 % IC и 12 PD-L1 < 5 % IC) окрашивали при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay с использованием одного прибора BenchMark ULTRA в течение одного дня.
- Для определения межсуточной прецизионности по 2 повторности микропрепаратов каждого из 24 уникальных образцов уротелиальной карциномы (12 PD-L1 ≥ 5 % IC и 12 PD-L1 < 5 % IC) окрашивали при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay с использованием одного прибора BenchMark ULTRA в течение 5 непоследовательных дней.
- Для определения межприборной прецизионности и межпартийной прецизионности – по 27 повторностей микропрепаратов каждого из 24 уникальных образцов уротелиальной карциномы (12 PD-L1 ≥ 5 % IC и 12 PD-L1 < 5 % IC) окрашивали при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay с использованием трех партий антитела VENTANA PD-L1 (SP142) и трех спаренных партий набора для обнаружения OptiView DAB IHC Detection Kit и набора для амплификации OptiView Amplification Kit на трех приборах BenchMark ULTRA.
- Для определения межплатформенной прецизионности – по 2 повторности микропрепаратов каждого из 10 уникальных образцов уротелиальной

карциномы (3 PD-L1 ≥ 5 % IC и 7 PD-L1 < 5 % IC) окрашивали при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay с использованием трех приборов BenchMark ULTRA, трех приборов BenchMark XT и трех приборов BenchMark GX. Показатели согласованности были рассчитаны относительно режима для образца, выбранного на платформе.

Все микропрепараты были замаскированы, рандомизированы и оценены с использованием алгоритма оценивания анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay для уротелиальной карциномы (Табл 5). Результаты изложены в Табл 6.

Табл 6. Исследование повторяемости и внутрилабораторной прецизионности окрашивания VENTANA PD-L1 (SP142) Assay на образцах уротелиальной карциномы.

Воспроизводимость/внутрилабо-раторная прецизионность	Процент согласованности (95 % CI)*
Межсуточная повторяемость (в течение одного дня)	PPA: 98,2 % (90,4–99,7 %) NPA: 100,0 % (94,4–100,0 %) OPA: 99,2 % (95,4–99,9 %)
Межсуточная прецизионность (5 непоследовательных дней)	PPA: 91,8 % (85,2–95,6 %) NPA: 100,0 % (97,1–100,0 %) OPA: 96,3 % (93,0–98,0 %)
Межприборная и межпартийная прецизионность (3 прибора, 3 партии антител, 3 набора для обнаружения и амплификации)	PPA: 99,4 % (97,8–99,8 %) NPA: 99,7 % (98,3–99,9 %) OPA: 99,5 % (98,6–99,8 %)
Межплатформенная прецизионность (Три прибора BenchMark ULTRA)	PPA: 83,3 % (60,8–94,2 %) NPA: 100,0 % (91,2–100,0 %) OPA: 94,8 % (85,9–98,2 %)
Межплатформенная прецизионность (Три прибора BenchMark XT)	PPA: 94,4 % (74,2–99,0 %) NPA: 100,0 % (91,6–100,0 %) OPA: 98,3 % (91,1–99,7 %)
Межплатформенная прецизионность (Три прибора BenchMark GX)	PPA: 94,4 % (74,2–99,0 %) NPA: 100,0 % (91,4–100,0 %) OPA: 98,3 % (91,0–99,7 %)

* NPA = процент совпадения отрицательных результатов
OPA = общий процент совпадения
PPA = процент совпадения положительных результатов
CI = доверительный интервал

Межплатформенная согласованность – уротелиальная карцинома

По одному микропрепарату каждого из 44 уникальных образцов уротелиальной карциномы (22 PD-L1 ≥ 5 % IC и 22 PD-L1 < 5 % IC) окрашивали при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay с использованием одного прибора BenchMark ULTRA (эталонный), одного прибора BenchMark XT и одного прибора BenchMark GX. Все микропрепараты были замаскированы, рандомизированы и оценены с использованием алгоритма оценивания анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay для уротелиальной карциномы (Табл 5). Результаты изложены в Табл 7.

Табл 7. Межплатформенная согласованность окрашивания VENTANA PD-L1 (SP142) Assay на образцах уротелиальной карциномы.

Межплатформенная согласованность	Процент согласованности (95 % CI)*
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 %)

Межплатформенная согласованность	Процент согласованности (95 % CI)*
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 %)

* NPA = процент совпадения отрицательных результатов
OPA = общий процент совпадения
PPA = процент совпадения положительных результатов
CI = доверительный интервал

Прецизионность исследователя – уротелиальная карцинома

Для оценки прецизионности исследователя и прецизионности среди исследователей три патоморфолога квалифицировали 60 уникальных образцов уротелиальной карциномы (30 PD-L1 ≥ 5 % IC и 30 PD-L1 < 5 % IC), которые окрашивали при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Перед оценкой статуса PD-L1 с использованием алгоритма оценивания анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay для уротелиальной карциномы (Табл 5) образцы были замаскированы и рандомизированы. Исследователи оценили все образцы дважды с перерывом не менее двух недель между оценками. Уровни согласованности оценок исследователей в сравнении с консенсусной оценкой в рамках двух интерпретаций, а также с интерпретацией каждого патоморфолога изложены в Табл 8.

Табл 8. Прецизионность исследователя и прецизионность среди исследователей при оценке окрашивания VENTANA PD-L1 (SP142) Assay на образцах уротелиальной карциномы.

Прецизионность исследователя	Процент согласованности (95 % CI)*
Прецизионность между исследователями (Средняя оценка, данная тремя исследователями в сравнении с консенсусной оценкой в рамках двух интерпретаций)	PPA: 92,6 % (84,7–96,6 %) NPA: 98,9 % (92,7–99,8 %) OPA: 95,8 % (91,3–98,0 %)
Прецизионность исследователя (средний показатель согласованности оценки трех исследователей в первой и второй интерпретации)	PPA: 89,3 % (77,6–95,3 %) NPA: 97,8 % (86,0–99,7 %) OPA: 93,6 % (86,8–97,0 %)

* NPA= процент совпадения отрицательных результатов
OPA = общий процент совпадения,
PPA = процент совпадения положительных результатов
CI = доверительный интервал

Исследование межлабораторной воспроизводимости – уротелиальная карцинома

Было проведено межлабораторное исследование воспроизводимости результата для анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay с целью демонстрации воспроизводимости анализа при определении статуса PD-L1 образцов ткани уротелиальной карциномы. 28 уникальных образцов уротелиальной карциномы (14 PD-L1 ≥ 5 % IC и 14 PD-L1 < 5 % IC) окрашивали в трех внешних лабораториях в течение 5 непоследовательных дней в период, составляющий 20 дней. Перед окрашиванием микропрепараты были замаскированы и рандомизированы. В каждом исследовательском центре окрашенные микропрепараты были независимо оценены двумя патоморфологами (исследователями). Набор образцов состоял из 420 микропрепаратов (по 140 микропрепаратов в одном центре), полученных из 28 уникальных образцов уротелиальной карциномы. Итоговая доля препаратов, пригодных по окрашиванию для анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, составила 99,9 %. Результаты изложены в табл. 9.

Табл 9. Межлабораторная воспроизводимость окрашивания VENTANA PD-L1 (SP142) Assay на образцах уротелиальной карциномы.

Межлабораторная воспроизводимость	Процент согласованности (95 % CI)*
Показатель общей согласованности (в сравнении с консенсусной оценкой, полученной в разных исследовательских центрах, в разные дни и разными исследователями)	PPA: 98,3 % (96,6–99,2 %) NPA: 87,4 % (83,8–90,2 %) OPA: 92,8 % (90,9–94,4 %)
Показатель совпадения между центрами (средний показатель сравнения оценок двух исследовательских центров)	APA: 90,7 % (81,2–96,3 %) ANA: 88,3 % (78,5–94,9 %) OPA: 89,6 % (82,5–95,5 %)
Показатель совпадения между исследователями (средний показатель сравнения оценок, данных двумя исследователями в рамках каждого научного центра)	APA: 89,3 % (78,1–96,0 %) ANA: 86,6 % (75,1–94,6 %) OPA: 88,1 % (84,6–90,8 %)

* ANA = среднее совпадение отрицательных результатов
APA = среднее совпадение положительных результатов
NPA= процент совпадения отрицательных результатов
OPA = общий процент совпадения
PPA = процент совпадения положительных результатов
CI = доверительный интервал

Исследование клинических результатов – уротелиальная карцинома

Рабочие характеристики анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay были исследованы в рамках GO29293, многоцентрового открытого исследования фазы II на основании данных двух когорт, предназначенное для оценки эффективности TECENTRIQ у пациентов с местнораспространенной или метастатической уротелиальной карциномой.

Образцы пациента были окрашены при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, приемлемость окрашивания и экспрессия PD-L1 были оценены посредством алгоритма оценивания, описанного в Табл 5. Образцы пациента представляли собой фиксированную формалином и залитую парафином (FFPE) ткань уротелиальной карциномы, полученную при биопсии (21,2 %), резекции (46,6 %), трансуретральной резекции опухоли мочевого пузыря (TURBT, 30,5 %) или неизвестного происхождения (1,6 %). 74,9 % тканей были взяты из первичной опухоли и 25,1 % — из метастатической опухоли.

В табл. 10 описана итоговая доля препаратов, пригодных по окрашиванию для анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, среди всех образцов уротелиальной карциномы, отобранных для GO29293. Также представлена доля микропрепаратов с приемлемой морфологией и приемлемым фоновым окрашиванием на PD-L1. Из 650 образцов первичное окрашивание 25 образцов было признано ненадлежащим, и окрашивание было выполнено повторно. При окончательном окрашивании 13 образцов из 25 были все же признаны ненадлежащими (7 образцов — в связи с неприемлемым отрицательным контролем реагента, 5 образцов — в связи с неприемлемой морфологией и 1 образец — в связи с неприемлемым фоновым окрашиванием и морфологией). В рамках анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay была продемонстрирована высокая доля препаратов, пригодных по первичному и окончательному окрашиванию, 96,2 % и 98,0 % соответственно. Окончательная пригодность препаратов по морфологии и окрашиванию фона составила более 99 %.

Табл 10. Рабочие характеристики окрашивания при анализе VENTANA PD-L1 (SP142) Assay в рамках GO29293, клинического исследования образцов уротелиальной карциномы.

Признак	Пригодность по окрашиванию n/N (%) (95 % CI)	
	Первоначальное окрашивание**	Окончательное окрашивание***
Общая доля препаратов, пригодных по окрашиванию	96,2 % (625/650) (94,4–97,4 %)	98,0 % (637/650) (96,6–98,8 %)
Морфология	98,1 % (628/640) (96,8–98,9 %)	99,1 % (637/643) (98,0–99,6 %)
Фоновое окрашивание	98,9 % (625/632) (97,7–99,5 %)	99,8 % (637/638) (99,1–100,0 %)

* CI = доверительный интервал

** Первоначальное окрашивание.

*** Окончательное окрашивание.

В когорте 2 препарат TECENTRIQ принимали 310 пациентов с местнораспространенной или метастатической уротелиальной карциномой, у которых болезнь прогрессировала во время или после химиотерапии препаратами платины или у которых болезнь прогрессировала в течение 12 месяцев с момента лечения неoadъювантом с содержанием платины или проведения адъювантной химиотерапии. Из данного исследования были исключены пациенты с аутоиммунным заболеванием в анамнезе, активными метастазами в головном мозге или метастазами, купируемыми кортикостероидами, пациенты, которым вводились живые или аттенуированные вакцины в течение 28 дней с момента регистрации для участия в исследовании или пациенты, которым вводились системные иммуностимулирующие агенты или системные иммуносупрессивные препараты. Пациентам вводили внутривенно 1200 мг TECENTRIQ каждые три недели до прекращения клинической пользы по оценке исследователя. Оценка ответа опухоли на лечение выполнялась каждые 9 недель в течение первых 54 недель, затем — каждые 12 недель. К основному критерию эффективности относилась подтвержденная частота объективного ответа (ORR), которая была оценена независимым наблюдательным учреждением (IRF) при помощи критерия оценки ответа солидных опухолей (RECIST v. 1.1), и длительность ответа (DOR).

В упомянутой когорте средний возраст составил 66 лет; 78 % — лица мужского пола; 91 % — лица европеоидной расы. У 26 % была диагностирована немешечная уротелиальная карцинома мочевого пузыря и у 78 % были диагностированы метастазы во внутренние органы. Состояние 62 % пациентов было оценено на 1 балл по шкале ECOG, исходный клиренс креатинина у 35 % пациентов составлял < 60 мл/мин. У 19 % пациентов болезнь прогрессировала после приема неoadъюванта с содержанием платины или проведения адъювантной химиотерапии. 41 % пациентов прежде получал ≥ 2 системных препаратов в рамках терапии метастатических форм рака. 73 % пациента ранее принимали цисплатин, 26 % ранее принимали карбоплатин и 1 % пациентов проходил лечение другими препаратами на основе платины.

Была выполнена запланированная оценка образцов опухоли при помощи VENTANA PD-L1 (SP142) Assay в центральной лаборатории и результаты были использованы для определения подгрупп для выполнения анализа по заранее заданным переменным. Из 310 пациентов 32 % были отнесены к группе с экспрессией PD-L1, составляющей ≥ 5 %, остальные 68 % пациентов были отнесены к группе с экспрессией PD-L1, составляющей < 5 %.

Подтвержденная ORR всех пациентов и две подгруппы с экспрессией PD-L1 представлены в табл. 11. Средняя продолжительность периода последующего наблюдения для данной когорты составила 14,4 месяца. У 59 пациентов с прогрессирующей болезнью после неoadъювантной или адъювантной химиотерапии ORR составила 22,0 % (95 % CI: 12,3 %, 34,7 %).

Табл 11. Сводные данные по эффективности когорты 2 GO29293 (уротелиальная карцинома).

	Все пациенты (количество = 310)	Подгруппы по экспрессии PD-L1	
		< 5 %* (количество = 210)	≥ 5 %* (количество = 100)
Количество подтвержденных пациентов с терапевтическим ответом, которые прошли оценку независимого наблюдательного учреждения (IRF)	46	20	26
Частота объективного ответа (ORR), % (95 % CI)	14,8 % (11,1; 19,3)	9,5 % (5,9; 14,3)	26,0 % (17,7; 35,7)
Полный ответ (CR) (%)	5,5 %	2,4 %	12,0 %
Частичный ответ (PR) (%)	9,4 %	7,1 %	14,0 %
Средняя длительность ответа (DOR), месяцы (диапазон)	НД (2,1+; 13,8+)	12,7 (2,1+; 12,7)	НД (4,2; 13,8+)

НД = не достигнут + Обозначает частично известное значение

CI = Доверительный интервал

* Экспрессия PD-L1 в иммунокомпетентных клетках, инфильтрирующих ткань опухоли (IC)

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ – NSCLC

Алгоритм оценивания – NSCLC

Ткань NSCLC должна оцениваться в соответствии с алгоритмом оценивания анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay для NSCLC, представленного в Табл 12. Высокая экспрессия PD-L1 определяется как экспрессия PD-L1, составляющая ≥ 50 % от TC или ≥ 10 % от IC. Дополнительные инструкции и соответствующие изображения приведены в руководстве по интерпретации (номер по каталогу: 1015703EN).

Табл 12. Алгоритм оценивания VENTANA PD-L1 (SP142) Assay для NSCLC.

ШАГ 1	Оценка окрашивания опухолевых клеток (TC)	Экспрессия PD-L1
	Наличие видимого окрашивания мембраны PD-L1 любой интенсивности в ≥ 50 % опухолевых клеток	≥ 50 % TC
	Отсутствие видимого окрашивания PD-L1 ИЛИ Наличие видимого окрашивания мембраны PD-L1 любой интенсивности в < 50 % опухолевых клеток	Перейти к шагу 2
ШАГ 2	Оценка окрашивания иммунокомпетентных клеток, инфильтрирующих ткань опухоли (IC)	Экспрессия PD-L1
	Наличие видимого окрашивания PD-L1 любой интенсивности в иммунокомпетентных клетках, инфильтрирующих ткань опухоли, покрывающих ≥ 10 % области опухоли с опухолевыми клетками, вызванными внутриопухолевой и продолжительной перитуморальной стромой.	≥ 10 % IC
	Отсутствие видимого окрашивания PD-L1 ИЛИ Наличие видимого окрашивания PD-L1 любой интенсивности в иммунокомпетентных клетках, инфильтрирующих ткань опухоли, покрывающих < 10 % области опухоли с опухолевыми клетками, вызванными внутриопухолевой и продолжительной перитуморальной стромой.	< 50 % TC и < 10 % IC

Толщина ткани - NSCLC

Толщина ткани была оценена с помощью образцов NSCLC. Двойные срезы по 3, 4, 5, 6 и 7 микрон были окрашены при помощи VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, и была выполнена оценка экспрессии PD-L1 TC и IC. Наборы образца содержали не менее 8 образцов NSCLC с диапазоном экспрессии PD-L1 для каждого исследованного уровня IC и TC.

При окрашивании анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay все ткани вне зависимости от толщины продемонстрировали надлежащее специфическое окрашивание на PD-L1 и соответствующие уровни фоновое окрашивания. В рамках диапазона исследованной толщины изменение уровней TC или IC PD-L1 в срезах отмечено не было. Компания Ventana рекомендует использовать образцы NSCLC толщиной 4 микрона для окрашивания при анализе VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Повторяемость и внутрилабораторная прецизионность — NSCLC

Исследования окрашивания образцов NSCLC при анализе VENTANA PD-L1 (SP142) Assay были выполнены с целью продемонстрировать следующее.

- Для определения межсуточной прецизионности — по 5 повторностей микропрепаратов из каждого образца ткани NSCLC окрашивали при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay с использованием одного прибора BenchMark ULTRA в течение одного дня и выполняли оценку экспрессии PD-L1 TC и IC. Наборы образца содержали 24 образца NSCLC с диапазоном экспрессии PD-L1 для каждого исследованного уровня TC и IC.
- Для определения межсуточной прецизионности — по 10 повторностей микропрепаратов каждого из образцов NSCLC окрашивали при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay с использованием одного прибора BenchMark ULTRA в течение 5 непоследовательных дней. Наборы образца содержали 24 образца NSCLC с диапазоном экспрессии PD-L1 для каждого исследованного уровня TC и IC.
- Межприборная прецизионность, прецизионность антитела и межпартийная прецизионность — по 9 повторностей микропрепаратов каждого из образцов NSCLC окрашивали при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay с использованием трех партий VENTANA PD-L1 (SP142) antibody и трех спаренных партий набора для обнаружения OptiView DAB IHC Detection Kit и набора для амплификации OptiView Amplification Kit на трех приборах BenchMark ULTRA. Наборы образца содержали не менее 18 образцов NSCLC с диапазоном экспрессии PD-L1 для каждого исследованного уровня TC и IC.
- Для определения межплатформенной прецизионности — по 2 повторности микропрепаратов каждого из образцов NSCLC окрашивали при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay с использованием трех приборов BenchMark ULTRA, трех приборов BenchMark XT и трех приборов BenchMark GX. Наборы образца содержали 10 образцов NSCLC с диапазоном экспрессии PD-L1 для каждого исследованного уровня TC и IC. Показатели согласованности были рассчитаны относительно режима для образца, выбранного на каждой платформе.

Все микропрепараты были замаскированы, рандомизированы и затем уровень экспрессии PD-L1 TC или IC был оценен. Результаты изложены в табл. 13 и Табл 14.

Табл 13. Исследование повторяемости и внутрилабораторной прецизионности окрашивания VENTANA PD-L1 (SP142) Assay на образцах NSCLC (экспрессия PD-L1 ≥ 50 % TC).

Воспроизводимость/внутрилабораторная прецизионность	Процент согласованности (95 % CI)*
Межсуточная повторяемость (в течение одного дня)	PPA: 100,0 % (94,4–100,0 %) NPA: 100,0 % (93,5–100,0 %) OPA: 100,0 % (96,9–100,0 %)
Межсуточная прецизионность (5 непоследовательных дней)	PPA: 100,0 % (97,1–100,0 %) NPA: 100,0 % (96,5–100,0 %) OPA: 100,0 % (98,4–100,0 %)
Межприборная и межпартийная прецизионность (в сравнении с режимом случай-уровень на всех приборах и с использованием всех партий)	PPA: 99,7 % (98,1–99,9 %) NPA: 95,2 % (91,2–97,5 %) OPA: 97,9 % (96,2–98,9 %)

Воспроизводимость/внутрилабораторная прецизионность	Процент согласованности (95 % CI)*
Межплатформенная прецизионность (три прибора BenchMark ULTRA)	PPA: 100,0 % (88,6–100,0 %) NPA: 100,0 % (88,6–100,0 %) OPA: 100,0 % (94,0–100,0 %)
Межплатформенная прецизионность (три прибора BenchMark XT)	PPA: 96,7 % (83,3–99,4 %) NPA: 100,0 % (88,6–100,0 %) OPA: 98,3 % (91,1–99,7 %)
Межплатформенная прецизионность (три прибора BenchMark GX)	PPA: 100,0 % (88,6–100,0 %) NPA: 100,0 % (88,6–100,0 %) OPA: 100,0 % (94,0–100,0 %)

* NPA = процент совпадения отрицательных результатов

OPA = общий процент совпадения

PPA = процент совпадения положительных результатов

CI = доверительный интервал

Табл 14. Исследование повторяемости и внутрилабораторной прецизионности окрашивания VENTANA PD-L1 (SP142) Assay на образцах NSCLC (экспрессия PD-L1 ≥ 10 % IC).

Воспроизводимость/внутрилабораторная прецизионность	Процент согласованности (95 % CI)*
Межсуточная повторяемость (в течение одного дня)	PPA: 98,3 % (91,1–99,7 %) NPA: 100,0 % (94,0–100,0 %) OPA: 99,2 % (95,4–99,9 %)
Межсуточная прецизионность (5 непоследовательных дней)	PPA: 96,2 % (91,3–98,3 %) NPA: 98,2 % (93,6–99,5 %) OPA: 97,1 % (94,1–98,6 %)
Согласованность среди антител и согласованность обнаружения (сдвоенное сравнение)	APA: 95,1 % (91,1–98,1 %) ANA: 90,2 % (82,3–96,2 %) OPA: 93,4 % (88,7–97,5 %)
Межприборная согласованность и согласованность между партиями для обнаружения (сдвоенное сравнение)	APA: 96,3 % (93,2–98,8 %) ANA: 92,7 % (86,0–97,7 %) OPA: 95,1 % (91,2–98,4 %)
Межприборная согласованность и согласованность антител (сдвоенное сравнение)	APA: 96,3 % (93,1–98,8 %) ANA: 92,6 % (85,9–97,8 %) OPA: 95,1 % (91,1–98,4 %)
Межплатформенная прецизионность (три прибора BenchMark ULTRA)	PPA: 100,0 % (94,0–100,0 %) NPA: 100,0 % (94,0–100,0 %) OPA: 100,0 % (96,9–100,0 %)
Межплатформенная прецизионность (три прибора BenchMark XT)	PPA: 100,0 % (94,0–100,0 %) NPA: 100,0 % (94,0–100,0 %) OPA: 100,0 % (96,9–100,0 %)
Межплатформенная прецизионность (три прибора BenchMark GX)	PPA: 100,0 % (94,0–100,0 %) NPA: 100,0 % (94,0–100,0 %) OPA: 100,0 % (96,9–100,0 %)

* ANA = среднее совпадение отрицательных результатов

APA = среднее совпадение положительных результатов

NPA = процент совпадения отрицательных результатов

OPA = общий процент совпадения

PPA = процент совпадения положительных результатов

CI = доверительный интервал

Межплатформенная согласованность – NSCLC

По одному микропрепарату каждого из 44 образцов NSCLC (22 PD-L1 $\geq 10\%$ IC или $\geq 50\%$ TC и 22 PD-L1 $< 50\%$ TC и $< 10\%$ IC) окрашивали при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay с использованием одного прибора BenchMark ULTRA (эталонный), одного прибора BenchMark XT и одного прибора BenchMark GX. Все микропрепараты были замаскированы, рандомизированы и затем оценены с использованием алгоритма оценивания анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay для NSCLC (табл. 12). Результаты изложены в табл. 15.

Табл 15. Межплатформенная согласованность VENTANA PD-L1 (SP142) Assay на образцах NSCLC (экспрессия PD-L1 $\geq 50\%$ TC или $\geq 10\%$ IC).

Межплатформенная согласованность	Процент согласованности (95 % CI)*
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 %)

* NPA = процент совпадения отрицательных результатов
OPA = общий процент совпадения
PPA = процент совпадения положительных результатов
CI = доверительный интервал

Исследование прецизионности исследователя — NSCLC

Для оценки прецизионности исследователя и прецизионности среди исследователей три патоморфолога квалифицировали 80 уникальных случаев NSCLC с диапазоном экспрессии PD-L1, которые окрашивали при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay. Перед статуса PD-L1 образцы были замаскированы и рандомизированы в соответствии с алгоритмом оценивания анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay для NSCLC (табл. 12). Исследователи оценили все образцы дважды с перерывом не менее двух недель между оценками. Уровни согласованности оценок исследователей в сравнении с консенсусной оценкой в рамках двух интерпретаций, а также с интерпретацией каждого патоморфолога изложены в табл. 16.

Табл 16. Прецизионность исследователя при оценке окрашивания VENTANA PD-L1 (SP142) Assay на образцах NSCLC.

Прецизионность исследователя	Процент согласованности (95 % CI)*
Прецизионность между исследователями (средняя оценка, данная тремя исследователями в сравнении с консенсусной оценкой в рамках двух интерпретаций)	PPA: 89,2 % (84,1–92,7 %) NPA: 99,0 % (96,3–99,8 %) OPA: 93,5 % (90,4–95,6 %)
Прецизионность исследователя (средний показатель согласованности оценки трех исследователей в первой и второй интерпретации)	PPA: 90,1 % (84,0–94,1 %) NPA: 98,1 % (92,8–99,5 %) OPA: 93,6 % (89,7–96,1 %)

* NPA = процент совпадения отрицательных результатов
OPA = общий процент совпадения
PPA = процент совпадения положительных результатов
CI = доверительный интервал

Исследование межлабораторной воспроизводимости — NSCLC

Было проведено межлабораторное исследование воспроизводимости окрашивания при анализе VENTANA PD-L1 (SP142) Assay с целью демонстрации воспроизводимости анализа при определении статуса PD-L1 образцов ткани NSCLC. 28 уникальных образцов NSCLC с определенным диапазоном экспрессии PD-L1 окрашивали в трех внешних лабораториях в течение 5 непоследовательных дней в период, составляющий 20 дней. Перед окрашиванием микропрепараты были замаскированы и рандомизированы. В каждом исследовательском центре

окрашенные микропрепараты были независимо оценены двумя патоморфологами (исследователями) с использованием алгоритма оценивания анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay для NSCLC (табл. 12). Результаты изложены в табл. 17.

Табл 17. Межлабораторная воспроизводимость окрашивания VENTANA PD-L1 (SP142) Assay на образцах NSCLC.

Межлабораторная воспроизводимость	Процент согласованности (95 % CI)*
Показатель общей согласованности (в сравнении с консенсусной оценкой, полученной в разных исследовательских центрах, в разные дни и разными исследователями)	PPA: 86,6 % (83,0–89,5 %) NPA: 99,8 % (98,7–100,0 %) OPA: 93,2 % (91,3–94,7 %)
Показатель совпадения между центрами (средний показатель сравнения оценок двух исследовательских центров)	APA: 89,5 % (80,9–95,5 %) ANA: 92,1 % (84,4–97,1 %) OPA: 91,0 % (90,3–91,6 %)
Показатель совпадения между исследователями (средний показатель сравнения оценок, данных двумя исследователями в рамках каждого научного центра)	APA: 93,9 % (89,3–97,4 %) ANA: 95,4 % (90,6–98,2 %) OPA: 94,7 % (92,2–96,5 %)

* ANA = среднее совпадение отрицательных результатов
APA = среднее совпадение положительных результатов
NPA = процент совпадения отрицательных результатов
OPA = общий процент совпадения
PPA = процент совпадения положительных результатов
CI = доверительный интервал.

Исследование клинических результатов — NSCLC

Рабочие характеристики анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay были исследованы в рамках GO28915, многоцентрового международного рандомизированного открытого исследования фазы III, предназначенное для оценки эффективности и безопасности TECENTRIQ у пациентов с метастатической NSCLC, которая прогрессировала в течение или после приема препаратов с содержанием платины.

Образцы пациента были окрашены при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, была выполнена оценка приемлемости окрашивания и экспрессии PD-L1. Образцы пациента представляли собой фиксированную формалином и залитую парафином (FFPE) ткань NSCLC, полученную при трепан-биопсии (34,5 %), шанцевой биопсии (16,3 %), резекции (28,7 %) или другого происхождения (20,5 %). 66,6 % тканей были взяты из первичной опухоли и 33,4 % — из метастатической опухоли.

В табл. 18 описана итоговая доля препаратов, пригодных по окрашиванию для анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, среди всех образцов NSCLC, отобранных для исследования. Также представлена доля микропрепаратов с приемлемой морфологией и приемлемым фоновым окрашиванием на PD-L1. Из 1185 образцов первичное окрашивание 72 образцов было признано ненадлежащим, и окрашивание было выполнено повторно. 26 образцов из 72 были все же признаны ненадлежащими (1 образец — в связи с неприемлемым тканевым контролем небных миндалин, 19 образцов — в связи с неприемлемым отрицательным контролем реагента и 6 образцов — в связи с неприемлемым фоновым окрашиванием или морфологией). В рамках анализа VENTANA PD-L1 (SP142) Assay была продемонстрирована высокая доля препаратов, пригодных по первичному и окончательному окрашиванию: 93,9 % и 97,8 % соответственно. Окончательная пригодность препаратов по морфологии и окрашиванию фона составила более 99 %.

Признак	Пригодность по окрашиванию п/Н (%) (95 % CI)*	
	Первоначальное окрашивание**	Окончательное окрашивание***
Общая доля препаратов, пригодных по окрашиванию	93,9 % (1113/1185) (92,4–95,1 %)	97,8 % (1159/1185) (96,8–98,5 %)
Морфология	98,5 % (1122/1139) (97,6–99,1 %)	99,6 % (1160/1165) (99,0–99,8 %)
Фоновое окрашивание	98,2 % (1119/1139) (97,3–98,9 %)	99,7 % (1161/1165) (99,1–99,9 %)

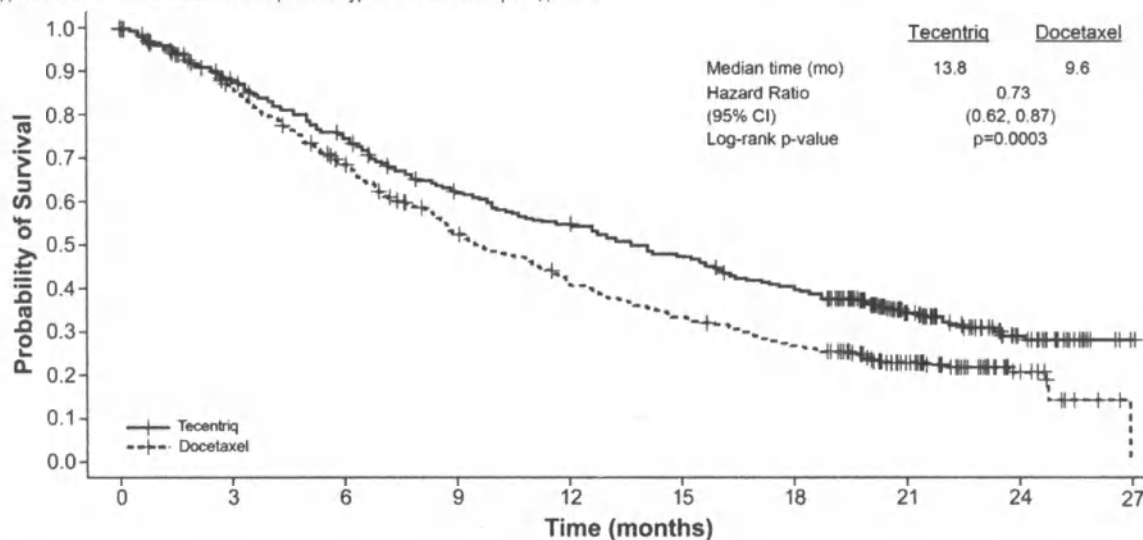
*** Окончательное окрашивание

Среди пациентов популяции первичного анализа средний возраст пациентов составил 64 года (диапазон: от 33 до 85), 61 % пациентов – лица мужского пола. Большинство пациентов относились к европеоидной расе (70 %). Приблизительно у 3/4 пациентов был диагностирован плоскоклеточный рак (74 %), 10 % пациентов с мутацией рецептора эпителиального фактора роста (EGFR), 0,2 % пациентов с перераспределением ALK и большинство пациентов курили на момент проведения

Была выполнена запланированная оценка образцов опухоли при помощи VENTANA PD-L1 (SP142) Assay в центральной лаборатории и результаты были использованы для определения подгрупп экспрессии PD-L1 для выполнения анализа по заранее заданным переменным. Из 850 пациентов 16 % были отнесены к группе с высокой экспрессией PD-L1. Высокая экспрессия PD-L1 определяется как экспрессия PD-L1, составляющая ≥ 50 % от ТС или ≥ 10 % от ИС. Поисковые показатели эффективности анализа OS (общей выживаемости) подгруппы на основании экспрессии PD-L1: отношение рисков составило 0,41 (95 % CI: 0,27; 0,64) в подгруппе высокой экспрессии PD-L1 и 0,82 (95 % CI: 0,68; 0,98) у пациентов с невысокой экспрессией PD-L1.

Общая выживаемость (OS)	Atezolizumab (n=425)	Docetaxel (n=425)
Количество смертей (%)	271 (64 %)	298 (70 %)
Среднее значение, месяцы (95 % CI)	13,8 (11,8; 15,7)	9,6 (8,6; 11,2)
Отношение рисков* (95 % CI)	0,73 (0,62; 0,87)	
p-значение**	0,0003	
OS за 12 месяцев (%)	218 (55 %)	151 (41 %)
OS за 18 месяцев (%)	157 (40 %)	98 (27 %)

** На основе стратифицированного логарифмического рангового критерия
CI = доверительный интервал.



Tecantrig	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	

Рис 2. График Каплана-Майера по общей выживаемости популяции первичного анализа в рамках исследования NSCLC GO29815.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 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.
- 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.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

VENTANA, BENCHMARK, OPTIVIEW и логотип VENTANA являются торговыми знаками компании Roche.

Все остальные товарные знаки являются собственностью соответствующих владельцев.

© Ventana Medical Systems, Inc. and Roche Diagnostics International, Inc., 2017

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany
+49 (0) 621 7590



www.ventana.com



Полное наименование изделия на русском языке.

Реагент Ventana PD-L1 (SP142) Assay для иммуногистохимической оценки лиганда-1 белка программируемой смерти in vitro диагностике к иммуноштейнерам автоматическим серии Ventana BenchMark

(далее по тексту может использоваться Реагент Ventana PD-L1 (SP142) Assay, Ventana PD-L1 (SP142) Assay, реагент PD-L1 (SP142) Assay, реагент).

Состав (информация о компонентах).

Подробный состав описан в разделе «Реагенты, входящие в комплект поставки» данной инструкции.

VENTANA PD-L1 (SP142) Assay содержит следующие материалы животного происхождения:

Название материала	Характер	Тип	Источник	Поставщик
Кроличье моноклональное первичное антитело к лиганда-1 белку программируемой смерти (SP142)	Потенциальный возбудитель инфекции**	Очищенное рекомбинантное кроличье моноклональное антитело с протеином А в фосфатно-солевом буферном растворе	Кролик	«Спринг Байосайенс» (Spring Bioscience)
Козий глобулин	Потенциальный возбудитель инфекции**	Преимущественно гамма-глобулин	Фракция Кона II-III	«Сигма» (Sigma)
Казеин	Потенциальный возбудитель инфекции**	Очищенный порошок	Коровье молоко	«Сигма Кемикал Ко.» (Sigma Chemical Co.)

* Известно либо крайне вероятно, что биологические материалы, являющиеся потенциальными возбудителями инфекции, содержат жизнеспособные микроорганизмы или иные инфекционные агенты, которые могут вызывать болезни человека.

Для определения инфекционного характера этих материалов были проведены соответствующие испытания. Используемые в производстве материалы животного происхождения получены от животных прошедших надлежащий ветеринарный контроль. Материалы рекомбинантного происхождения получены из генетически модифицированных организмов. Риск передачи патогенных возбудителей этих материалов считается незначительным.

Принцип метода определения.

Иммуногистохимическое окрашивание.

В целом, иммуногистохимическое окрашивание обеспечивает визуализацию антигенов путем последовательного нанесения специфического антитела (первичное антитело), связывающегося с антигеном, вторичного антитела (связывающее антитело), связывающегося с первичным антителом, ферментным комплексом и хромогенным субстратом с промежуточными стадиями промывки. Ферментативная активация хромогена приводит к видимому окрашиванию продуктов реакции на антигенных участках. Затем препарат можно окрасить контрастным красителем и поместить под покровное стекло. Результаты анализируются при помощи оптического микроскопа. Они облегчают дифференциальную диагностику патофизиологических процессов, которые могут быть связаны или не связаны с определенным антигеном.

В реагенте VENTANA PD-L1 (SP142) Assay используется кроличье моноклональное первичное антитело, которое связывается с PD-L1 в залитых парафином тканевых срезах. Специфическое антитело можно визуализировать с использованием диагностического набора OptiView DAB IHC Detection Kit, после

чего используется набор для амплификации OptiView Amplification Kit. Дополнительная информация представлена в листках-вкладышах к наборам OptiView DAB IHC Detection Kit и OptiView Amplification Kit.

Каждый этап инкубируется в течение точно определенного времени и при определенной температуре. В конце каждого этапа инкубации автоматический прибор серии VENTANA BenchMark промывает срезы, чтобы остановить реакцию и удалить несвязанный материал, который будет препятствовать желаемой реакции на последующих этапах. Также применяется раствор для защиты препаратов от высыхания, который минимизирует испарение водных реагентов с предметного стекла.

Процедура окрашивания данным антителом различных тканевых срезов идентична.

Результаты должны интерпретироваться квалифицированным патоморфологом с учетом данных гистологических исследований, соответствующих клинических данных и сравнения с контрольными образцами.

Меры предосторожности и предупреждения (дополнения)

-Только для in vitro диагностики (IVD).

-Только для профессионального использования медицинским персоналом клинико-диагностических лабораторий

-Используйте защитную одежду и перчатки.

-Противопоказаний в рамках установленного назначения не имеет.

Показания к применению

Реагент VENTANA PD-L1 (SP142) Assay предназначен для иммуногистохимической оценки содержания лиганда-1 белка программируемой смерти (PD-L1) в опухолевых клетках и иммунокомпетентных клетках, инфильтрирующих ткань опухоли, в фиксированных формалином и залитых парафином (FFPE) срезах ткани уротелиальной карциномы и немелкоклеточной карциномы легких (NSCLC), окрашенных с помощью наборов OptiView DAB IHC Detection Kit и OptiView Amplification Kit на приборе VENTANA BenchMark IHC/ISH.

Определение статуса PD-L1 представляет собой специфичное показание, оценка статуса основана либо на соотношении области опухоли с экспрессирующими PD-L1 иммунокомпетентными клетками, инфильтрирующими ткань опухоли (% IC), любой интенсивности, либо на процентном соотношении экспрессирующих PD-L1 опухолевых клеток (% TC) любой интенсивности.

Экспрессия PD-L1 ($\geq 5\%$ IC) в иммунокомпетентных клетках, инфильтрирующих ткань опухоли (IC), определяемая посредством VENTANA PD-L1 (SP142) Assay в ткани уротелиальной карциномы, указана для облегчения идентификации пациентов с уротелиальной карциномой, которым показано лечение с помощью TECENTRIQ (atezolizumab).

Экспрессия PD-L1 в опухолевых клетках ($\geq 50\%$ TC) или иммунокомпетентных клетках, инфильтрирующих ткань опухоли ($\geq 10\%$ IC), определяемая посредством VENTANA PD-L1 (SP142) Assay в ткани NSCLC, указана для облегчения идентификации пациентов, которым показано лечение с помощью TECENTRIQ (atezolizumab).

Данный продукт предназначен для диагностики in vitro (IVD).

Противопоказания к применению

Противопоказаний в рамках установленного назначения не имеет.

Побочные действия

Не применимо, т.к. медицинское изделие предназначено для лабораторной диагностики.

Процедура окрашивания

Реагент VENTANA PD-L1 (SP142) Assay разработан для использования на приборах BenchMark IHC/ISH в сочетании с Rabbit Monoclonal Negative Control Ig, набором для обнаружения OptiView DAB IHC Detection Kit, набором для амплификации OptiView Amplification Kit и вспомогательными реагентами.

Процедура специфического окрашивания должна проводиться с использованием реагента VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Рекомендуемый протокол окрашивания и необходимая процедура

Приложение 1 (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.)

V1.0

окрашивания приведены в данной инструкции.

Процедура окрашивания данным реагентом различных тканевых срезов идентична.

Срок годности

Срок годности максимально 24 месяца с даты производства (дату производства см. на упаковке).

Реагент Ventana PD-L1 (SP142) Assay следует хранить при 2-8 °C. Не замораживать! При вскрытой упаковке необходимо хранить в холодильнике до истечения срока годности указанного на упаковке.

Стабильность

До вскрытия упаковки дозатор с раствором антител можно хранить – максимально 24 месяца с даты производства (дату производства см. на упаковке).

После вскрытия дозатор с раствором антител можно хранить при 2-8 °C – максимально 24 месяца с даты производства (дату производства см. на упаковке).

Комплект поставки

Реагент VENTANA PD-L1 (SP142) Assay поставляется в пластиковом дозаторе, упакованном в коробку из мелованной бумаги. Один дозатор содержит достаточное количество реагента для проведения 50 тестов.

В комплект поставки VENTANA PD-L1 (SP142) Assay не входят окрашивающие реагенты, такие как наборы для обнаружения VENTANA и вспомогательные компоненты, включая микропрепараты ткани для отрицательного и положительного контроля.

В комплект поставки не входят руководства по интерпретации окрашивания реагентом VENTANA PD-L1 (SP142) Assay: -VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Руководство по интерпретации для уротелиальной карциномы (UC).

- VENTANA PD-L1 (SP142) Assay Руководство по интерпретации для немелкоклеточного рака легкого (NSCLC).

Данные руководства можно скачать по ссылке, указанной на маркировке коробки с реагентом VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

В разделе «Необходимые, но не входящие в комплект поставки материалы» приведен полный перечень необходимых материалов. Ниже приведен перечень некоторых материалов с уточнениями для РФ.

1. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (номер по каталогу: 790-4795/06683380001) - Отрицательный контроль Rabbit Ig (Confirm Neg. Contr. Rabbit Ig) в составе (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2011-11166 от 30.12.2011 г.).
2. Этикетки со штрих-кодом - Лента с наклейками на стекла, 1 рулон x 500 наклеек (Label, Blank, Flap, Roll (540) (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2011-08976 от 21.01.2017 г.).
3. OptiView DAB IHC Detection Kit (номер по каталогу: 760-700/06396500001) - Система детекции OptiView DAB IHC Detection Kit (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2012-12679 от 17.08.2012 г.).
4. OptiView Amplification Kit (номер по каталогу: 760-099/06396518001 (50 тестов) или 860-099/06718663001 [250 тестов]) - Усилитель сигнала OptiView Amplification Kit (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2012-12679 от 17.08.2012 г.).
5. EZ Prep Concentrate (10X) (номер по каталогу: 950-102/05279771001) - EZ Prep Concentrate (10X) (Раствор для проведения депарафинизации, концентрированный) (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.).
6. Reaction Buffer Concentrate (10X) (номер по каталогу: 950-300/05353955001) - Reaction Buffer Concentrate (10X) (Реакционный буфер (концентрат - 10X)) (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.).
7. LCS (Predilute) (номер по каталогу: 650-010/05264839001) для приборов BenchMark XT и GX - LCS (Predilute) Жидкое покрывное стекло высокотемпературное, разведенное (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.).

8. ULTRA LCS (Predilute) (номер по каталогу: 650-210/05424534001) для прибора BenchMark ULTRA - ULTRA LCS (Жидкое покрывное стекло высокотемпературное, разведенное) (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.).

9. Cell Conditioning Solution (CC1) (номер по каталогу: 950-124/05279801001) для приборов BenchMark XT и GX - CC1 (TRIS/Борат/ЭДТА буфер (CC1) для демаскировки антигена, разведенный (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.).

10. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (номер по каталогу: 950-224/05424569001) для прибора BenchMark ULTRA - ULTRA CC1 (TRIS/Борат/ЭДТА буфер (CC1) для демаскировки антигена, разведенный (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.).

11. Hematoxylin II counterstain (номер по каталогу: 790-2208/05277965001) - Hematoxylin II (Гистологический краситель Гематоксилин II ≤ 60%) (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.).

12. Bluing Reagent (номер по каталогу: 760-2037/05266769001) - Bluing Reagent (Реагент для придания окраске синего цвета) (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.).

Реагент VENTANA PD-L1 (SP142) Assay предназначен для использования со следующими приборами серии Ventana BenchMark:

- BenchMark GX (Иммуногистостейнер автоматический BenchMark GX с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2011-08976 от 27.01.2017 г.))

- BenchMark XT (Иммуностейнер автоматический Ventana BenchMark XT с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05251 от 28.01.2016 г.))

- BenchMark ULTRA (Иммуностейнер автоматический Ventana BenchMark ULTRA с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05250 от 28.01.2016 г.)).

Интерпретация окрашивания и ожидаемые результаты

При проведении автоматической процедуры иммунного окрашивания VENTANA наблюдается выпадение коричневого осадка DAB в местах локализации антигена, обнаруженного реагентом VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Окрашенные препараты интерпретируются квалифицированным патоморфологом, использующим световой микроскоп. Перед интерпретацией полученных результатов тканевые контроли и окрашенный продукт должны быть оценены квалифицированным патоморфологом, имеющим опыт и владеющим процедурами IHC.

Ткань пациента

Опухолевые клетки (TC) оцениваются в процентах опухолевых клеток с наличием видимого окрашивания мембраны PD-L1 любой интенсивности.

Иммунокомпетентные клетки, инфильтрирующие ткань опухоли, (IC) оцениваются в соотношении области опухоли, в том числе вызванные внутриопухолевой и продолжительной перитуморальной стромой с окрашиванием PD-L1 IC любой интенсивности.

Процентное отношение проникающих в опухоль иммунных клеток и опухолевых клеток с различным окрашиванием PD-L1 любой интенсивности на тканях подсчитывается квалифицированным патологом.

Ткань пациента должна оцениваться в соответствии со специфичным для определенного показателя алгоритмом оценивания реагентом VENTANA PD-L1 (SP142) Assay.

Дополнительные инструкции и соответствующие изображения приведены в специфичном для определенного показателя руководстве по интерпретации.

Полученные значения будут использоваться для присвоения экспрессии PD-L1 клинически положительного или отрицательного статуса в соответствии с критериями, представленными в таблице 1.

Приложение 1 (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.)
V1.0

Таблица 1 - Алгоритм оценки VENTANA PD-L1 (SP142) IC Assay	
Описание	Клинический статус
Отсутствие различимого окрашивания реагента PD-L1 ЛИБО Наличие различимого окрашивания PD-L1 любой интенсивности (от 1+ до 3+) в проникающих в опухоль иммунных клетках, покрывающих < 5% площади опухоли, занятой опухолевыми клетками, сопутствующей внутриопухолевой и смежной околоопухолевой десмопластической стромой	Отрицательный
Наличие различимого окрашивания PD-L1 любой интенсивности (от 1+ до 3+) в проникающих в опухоль иммунных клетках, покрывающих ≥ 5% площади опухоли, занятой опухолевыми клетками, сопутствующей внутриопухолевой и смежной околоопухолевой десмопластической стромой	Положительный

Помимо этого, квалифицированный специалист классифицирует образцы ткани (патологические или нормальные) по степени интенсивности специфического окрашивания по шкале от 0 до 3+. Интенсивность окрашивания реагентом PD-L1 (SP142) Assay в опухолевых клетках (ОК) и проникающих в опухоль иммунных клетках (ИК) будет зафиксирована по шкале от 0 до 3+ исключительно в справочных целях на основе критериев, представленных ниже.

0 – отсутствие окрашивания;
1+ – слабая интенсивность окрашивания;
2+ – средняя интенсивность окрашивания;
3+ – сильная интенсивность окрашивания.

Без оценки (б/о) - Интерпретация невозможна, например, по причине отсутствия ткани/опухоли, наличия шумов или артефактов по краю.

Приемлемость морфологии тканей, окрашенных реагентом VENTANA PD-L1 (SP142) Assay, будет оцениваться в соответствии с таблицей 2.

Таблица 2 - Критерии приемлемости морфологии тканей, окрашенных реагентом VENTANA PD-L1 (SP142) Assay

Приемлемая	Неприемлемая
Визуализируются необходимые элементы клетки, что позволяет провести клиническую интерпретацию окрашивания.	Необходимые элементы клетки не визуализируются, что затрудняет клиническую интерпретацию окрашивания.

Интерпретация тканевого контроля небных миндалин

Ткань небной миндалины является примером положительного и отрицательного контроля тканей для данного анализа в целях обеспечения надлежащего функционирования реагента и приборов в каждом цикле анализа.

В качестве тканевого контроля следует использовать свежие образцы тканей небной миндалины, полученные в ходе вскрытия, биопсии или хирургических операций. Образцы следует как можно скорее подготовить или зафиксировать по процедуре, используемой для исследуемых образцов тканей пациента.

С использованием таких образцов должен контролироваться весь процесс исследования, начиная от подготовки ткани и заканчивая окрашиванием.

Окрашенный тканевый контроль небных миндалин необходимо исследовать, чтобы убедиться в получении надлежащего окрашивания.

Наличие окрашивания макрофагов и лимфоцитов на PD-L1 в зародышевых центрах и сетчатом эпителии крипт небных миндалин является элементом положительного контроля ткани.

Отсутствие окрашивания в поверхностных слоях плоского эпителия и отрицательный результат при исследовании иммунокомпетентных клеток в интерфолликулярных зонах небных миндалин являются элементами отрицательного контроля ткани.

Критерии приемлемости приведены в Табл 3.

Интенсивность фоновое окрашивания небной миндалины, окрашенной реагентом VENTANA PD L1 (SP142) Assay, должна быть менее ≤ 0,5. (см. таблицу 4).

Интенсивность окрашивания фона миндалины, окрашенной отрицательным контролем Rabbit Monoclonal Negative Control Ig, должна быть ≤ 0,5.

Если в рамках тканевого контроля надлежащее окрашивание не наблюдается, все результаты образцов пациента следует считать неверными. Необходимо выполнить повторное окрашивание.

Табл 3. - Критерии приемлемости окрашивания ткани небной миндалины реагентом VENTANA PD L1 (SP142) Assay

Приемлемое	Недопустимый результат
Элементы положительного контроля ткани: Умеренное или сильное окрашивание на PD-L1, наблюдаемое в лимфоцитах и макрофагах в зародышевых центрах и диффузное окрашивание в сетчатом эпителии крипт.	Чрезмерное неспецифическое фоновое окрашивание, препятствующее определению клеток, положительных на PD-L1.
Элементы отрицательного контроля ткани: Иммунокомпетентные клетки, отрицательные на PD-L1, в интерфолликулярных зонах с отрицательным результатом в поверхностных слоях плоского эпителия.	Слабое окрашивание на PD-L1 или его отсутствие, наблюдаемое в лимфоцитах и макрофагах в зародышевых центрах и сетчатом эпителии крипт.

Таблица 4 - Критерии приемлемости фона при окрашивании ткани небной миндалины реагентом VENTANA PD L1 (SP142) Assay

Оценка	Результаты микроскопии	Показатель
Приемлемо	Отсутствие окрашивания фона	0
	Слегка заметное неспецифическое окрашивание, не влияющее на интерпретацию специфического окрашивания	0,25
	Различимое неспецифическое окрашивание, не влияющее на интерпретацию специфического окрашивания	0,5
Неприемлемо	Различимое неспецифическое окрашивание, несколько мешающее интерпретации специфического окрашивания	0,75
	Неспецифическое окрашивание, мешающее интерпретации специфического окрашивания	1
	Неспецифическое окрашивание, сильно мешающее интерпретации специфического окрашивания	1,5
	Неспецифическое окрашивание, очень сильно мешающее интерпретации специфического окрашивания, хотя и не столь интенсивное	2
	Интенсивность неспецифического окрашивания практически совпадает с интенсивностью специфического окрашивания	2,5
	Неспецифическое окрашивание невозможно отличить от специфического окрашивания	3

Отсутствие надлежащего окрашивания PD-L1 либо неприемлемый уровень окрашивания фона при проведении контрольных циклов означают недействительность результатов цикла и необходимость повторения цикла окрашивания.

Оценка окрашивания отрицательным контролем Rabbit Monoclonal Negative Control Ig

Неспецифическое окрашивание (при наличии) будет иметь диффузный характер и может быть оценено с использованием микропрепарата с отрицательным контролем реагента, окрашенного Rabbit Monoclonal Negative Control Ig.

Для интерпретации результатов окрашивания следует использовать интактные клетки, так как некротические и вырожденные клетки часто окрашиваются неспецифично.

**Приложение 1** (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.)

V1.0

Если наблюдается чрезмерное фоновое окрашивание, результаты для исследуемого образца считаются недостоверными. Фоновое окрашивание, которое наблюдается у образца, окрашенного отрицательным контролем реагента Rabbit Monoclonal Negative Control Ig должно составлять 0,5 или менее для окрашенных образцов ткани. Примеры фонового окрашивания при данном анализе представлены в руководствах по интерпретации.

Аналитическая специфичность

В таблице 3 (основная часть инструкции V1.0) приводятся краткие сведения об иммунореактивности реагента VENTANA PD-L1 (SP142) Assay при использовании рекомендуемой панели здоровых тканей.

При помощи VENTANA PD-L1 (SP142) был проведен анализ, направленный на поиск потенциальной способности антител PD-L1 (SP142) реагировать с другими белками, содержащимися в клеточных лизатах. Выборка, содержащая множество нормальных тканей, которые были окрашены при помощи реагента VENTANA PD-L1 (SP142) Assay и оценены на предмет наличия окрашивания иммунокомпетентных клеток (любое окрашивание иммунокомпетентных клеток, любой интенсивности). Данные анализа продемонстрировали, что антитело PD-L1 (SP142) специфично связывается с очищенным рекомбинантным белком PD-L1, но не связывается с нерелевантным рекомбинантным белком негативного контроля (BCL-2). Ни в одном из цельноклеточных лизатов не наблюдалось непредвиденных показателей окрашивания или фона. Данные исследования демонстрируют специфичность антител к PD-L1 (SP142) и подтверждают, что реагент VENTANA PD-L1 (SP142) позволяет обнаружить в ткани конкретный белок PD-L1 и подтверждают предполагаемое использование реагента для определения наличия или отсутствия окрашивания PD-L1.

Аналитическая чувствительность

В таблице 4 (основная часть инструкции V1.0) приводятся краткие сведения об иммунореактивности в массивах неопластических тканей. В рамках исследования было проанализировано 93 образца нормальных тканей и 54 образца опухолевых тканей. Реагент VENTANA PD-L1 (SP142) Assay окрашивает иммунокомпетентные клетки, присутствующие во многих здоровых тканях. Для нормальных тканей из нормальной выборки тканей, нормальных тканей из опухолевой выборки тканей и тканей парашитовидных желез не наблюдалось никакого специфического окрашивания, кроме окрашивания нормальных иммунокомпетентных клеток. Фоновое окрашивание во всех тканях было зарегистрировано на уровне $\leq 0,5$, ни в одном случае фоновое окрашивание не являлось препятствием для клинической интерпретации ткани. В испытанных нормальных и опухолевых тканях не наблюдалось перекрестной реактивности. Тридцать четыре образца неопластической ткани показали положительное окрашивание реагентом PD-L1 (SP142) Assay.

Рабочие характеристики – уротелиальная карцинома**Повторяемость и внутрилабораторная прецизионность****Критерии приемлемости:**

Для внутрисуточной повторяемости – Реагент VENTANA к PD-L1 (SP142) Assay должен приводить к такому воспроизводимому окрашиванию, при котором одинаковый отрицательный или положительный клинический показатель экспрессии PD-L1 будет выявляться не менее чем у 90% стеклов с одним образцом ткани, испытанным в рамках двух циклов в течение 24 часов на одном приборе.

Интенсивность фонового окрашивания не меньше чем у 90% всех образцов тканей должна составлять менее или быть равным 0,5 балла фонового окрашивания.

Для межсуточной прецизионности – Реагент VENTANA к PD-L1 (SP142) Assay должен приводить к такому воспроизводимому окрашиванию, при котором одинаковый отрицательный или положительный клинический показатель экспрессии PD-L1 будет выявляться не менее чем у 90% стеклов с одним образцом ткани,

испытанным в течение 5 непоследовательных дней на одном приборе.

Интенсивность фонового окрашивания не меньше чем у 90% всех образцов тканей должна составлять менее или быть равным 0,5 балла фонового окрашивания.

Для межприборности прецизионности и межпартийной прецизионности – При применении реагента общий процент согласованности (OPA) должен быть $\geq 85\%$ при определении статуса PD-L1 тканей положительных и отрицательных случаев уротелиального рака, окрашенных реагентами антител различных партий (межпартийная воспроизводимость), с использованием наборов для обнаружения OptiView DAB IHC и амплификации OptiView Amplification различных партий (межпартийная воспроизводимость), с использованием нескольких приборов BenchMark ULTRA (межприборная воспроизводимость). Интенсивность фонового окрашивания не меньше чем у 90% всех образцов тканей должна составлять менее или быть равным 0,5 балла фонового окрашивания.

Для межплатформенной прецизионности – Реагент VENTANA к PD-L1 (SP142) Assay должен приводить к такому воспроизводимому окрашиванию, при котором показатель общей процентной согласованности (OPA) должен быть $\geq 90\%$ (межплатформенная внутрилабораторная прецизионность) на различных приборах одной аппаратной платформы (BenchMark ULTRA, BenchMark XT и BenchMark GX). Интенсивность фонового окрашивания не меньше, чем у 90% всех образцов тканей должна составлять менее или быть равным 0,5 балла фонового окрашивания.

Для внутриплатформенной прецизионности – Реагент VENTANA к PD-L1 (SP142) Assay должен приводить к такому воспроизводимому окрашиванию, при котором показатель общей процентной согласованности (OPA) должен быть $\geq 90\%$ (внутриплатформенная внутрилабораторная прецизионность) на различных приборах одной аппаратной платформы (BenchMark ULTRA, BenchMark XT и BenchMark GX). Интенсивность фонового окрашивания не меньше чем у 90% всех образцов тканей должна составлять менее или быть равным 0,5 балла фонового окрашивания.

Для межплатформенной согласованности

По показателям PPA (положительная процентная согласованность) и NPA (отрицательная процентная согласованность) не менее чем для 85% окрашенных образцов должен наблюдаться одинаковый положительный или отрицательный статус PD-L1 при окрашивании на приборах компании «Вентана» BenchMark GX и BenchMark ULTRA с использованием рекомендованного протокола.

По показателям PPA (положительная процентная согласованность) и NPA (отрицательная процентная согласованность) не менее чем для 85% окрашенных образцов должен наблюдаться одинаковый положительный или отрицательный статус PD-L1 при окрашивании на приборах компании «Вентана» BenchMark XT и BenchMark ULTRA с использованием рекомендованного протокола.

Уровень фонового окрашивания не должен превосходить 0,5 для 90% и более образцов тканей, испытанных на каждом приборе (BenchMark ULTRA, BenchMark XT и BenchMark GX).

Для прецизионности исследователя

Межисследовательские показатели: Результаты применения алгоритма оценки PD-L1 должны подтверждать согласованность клинически положительного / отрицательного статуса для 85% или более пар образцов, проанализированных несколькими исследователями.

Внутриисследовательские показатели: Результаты применения алгоритма оценки PD-L1 должны подтверждать согласованность клинически положительного / отрицательного статуса не менее чем для 85% образцов, проанализированных одним наблюдателем в течение времени.

Таким образом, уровень общей процентной межисследовательской и внутриисследовательской согласованности (OPA) должен быть не менее 85%.

Для межлабораторной воспроизводимости – По показателям PPA (положительная процентная согласованность) и NPA

Приложение 1 (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.)
V1.0

(отрицательная процентная согласованность) не менее чем для 85 % окрашенных образцов должен наблюдаться одинаковый положительный или отрицательный статус PD-L1 при окрашивании на приборах компании «Вентана» BenchMark GX и BenchMark ULTRA с использованием рекомендованного протокола.

Рабочие характеристики – мелкоклеточный рак легкого (NSCLC).

Повторяемость и внутрилабораторная прецизионность

Критерии приемлемости:

Для внутрисуточной прецизионности - Реагент VENTANA к PD-L1 (SP142) Assay должен приводить к такому воспроизводимому окрашиванию, при котором одинаковый отрицательный или положительный клинический показатель экспрессии PD-L1 будет выявляться не менее чем у 90% стекол с одним образцом ткани, испытанным в рамках двух циклов в течение 24 часов на одном приборе.

Интенсивность фоновое окрашивания не меньше чем у 90% всех образцов тканей должна составлять менее или быть равным 0,5 балла фоновое окрашивания.

Для межсуточной прецизионности - Реагент VENTANA к PD-L1 (SP142) Assay должен приводить к такому воспроизводимому окрашиванию, при котором одинаковый отрицательный или положительный клинический показатель экспрессии PD-L1 будет выявляться не менее чем у 90% стекол с одним образцом ткани, испытанным в течение 5 непоследовательных дней на одном приборе.

Интенсивность фоновое окрашивания не меньше чем у 90% всех образцов тканей должна составлять менее или быть равным 0,5 балла фоновое окрашивания.

Для межприборная прецизионность, прецизионность антитела и межпартийная прецизионность - При применении реагента общий процент согласованности (OPA) должен быть $\geq 85\%$ при определении статуса PD-L1 тканей положительных и отрицательных случаев NSCLC, окрашенных реагентами антител различных партий (межпартийная воспроизводимость), с использованием наборов для обнаружения OptiView DAB IHC и амплификации OptiView Amplification различных партий (межпартийная воспроизводимость), с использованием нескольких приборов BenchMark ULTRA (межприборная воспроизводимость). Интенсивность фоновое окрашивания не меньше чем у 90% всех образцов тканей должна составлять менее или быть равным 0,5 балла фоновое окрашивания.

Для межплатформенной прецизионности - Реагент VENTANA PD-L1 (SP142) Assay должен приводить к такому воспроизводимому окрашиванию, при котором показатель общей процентной согласованности (OPA) должен быть $\geq 90\%$ (межплатформенная внутрилабораторная прецизионность) на различных приборах одной аппаратной платформы (BenchMark ULTRA, BenchMark XT и BenchMark GX). Интенсивность фоновое окрашивания не меньше чем у 90% всех образцов тканей должна составлять менее или быть равным 0,5 балла фоновое окрашивания.

Для внутрисплатформенной прецизионности: Реагент VENTANA PD-L1 (SP142) Assay должен приводить к такому воспроизводимому окрашиванию, при котором показатель общей процентной согласованности (OPA) должен быть $\geq 90\%$ (внутриформенная внутрилабораторная прецизионность) на различных приборах одной аппаратной платформы (BenchMark ULTRA, BenchMark XT и BenchMark GX). Интенсивность фоновое окрашивания не меньше чем у 90% всех образцов тканей должна составлять менее или быть равным 0,5 балла фоновое окрашивания.

Для межплатформенной согласованности:

По показателям PPA (положительная процентная согласованность) и NPA (отрицательная процентная согласованность) не менее чем для 85 % окрашенных образцов должен наблюдаться одинаковый положительный или отрицательный статус PD-L1 при окрашивании на приборах компании «Вентана» BenchMark GX и BenchMark ULTRA с использованием рекомендованного протокола.

По показателям PPA (положительная процентная согласованность) и NPA (отрицательная процентная согласованность) не менее чем для 85 % окрашенных образцов должен наблюдаться одинаковый положительный или отрицательный статус PD-L1 при окрашивании на приборах компании «Вентана» BenchMark XT и BenchMark ULTRA с использованием рекомендованного протокола.

Уровень фоновое окрашивания не должен превосходить 0,5 для 90% и более образцов тканей, испытанных на каждом приборе (BenchMark ULTRA, BenchMark XT и BenchMark GX).

Для прецизионности исследователя

Межисследовательские показатели: Результаты применения алгоритма оценки PD-L1 должны подтверждать согласованность клинически положительного / отрицательного статуса для 85 % или более пар образцов, проанализированных несколькими исследователями.

Внутриисследовательские показатели: Результаты применения алгоритма оценки PD-L1 должны подтверждать согласованность клинически положительного / отрицательного статуса не менее чем для 85 % образцов, проанализированных одним наблюдателем в течение времени.

Таким образом, уровень общей процентной межисследовательской и внутриисследовательской согласованности (OPA) должен быть не менее 85 %.

Для межлабораторной воспроизводимости:

По показателям PPA (положительная процентная согласованность) и NPA (отрицательная процентная согласованность) не менее чем для 85 % окрашенных образцов должен наблюдаться одинаковый положительный или отрицательный статус PD-L1 при окрашивании на приборах компании «Вентана» BenchMark GX и BenchMark ULTRA с использованием рекомендованного протокола.

Диагностическая чувствительность и специфичность

Данные по диагностической чувствительности и специфичности приведены в разделах «Исследование клинических результатов – уротелиальная карцинома» и «Исследование клинических результатов – NSCLC» данной инструкции.

Упаковка

Реагент Ventana PD-L1 (SP142) Assay поставляется в пластиковой дозаторе, упакованном в коробку из мелованной бумаги. Один дозатор содержит достаточное количество реагента для проведения 50 тестов.

На каждой упаковочной коробке находится магнитная «кнопка памяти», которая содержит всю необходимую информацию о реагенте.

Более подробно о «кнопке памяти» читайте в Руководстве по эксплуатации к иммунофлуоресцентным автоматическим серии Ventana BenchMark.

Первичная упаковка - дозатор.

Материал: полипропилен

Вес: 20,5 гр ($\pm 0,2$ гр)

Объем: 34,1 мл ($\pm 0,2$ мл)

Размеры дозатора:

Высота: 126,7 мм (± 2 мм)

Длина: 62,7 мм (± 1 мм)

Ширина: 37,9 мм (± 1 мм)

Толщина стенок: 0,98 мм ($\pm 0,03$ мм)

Вторичная упаковка: коробка из мелованной бумаги (размеры (длина x ширина x высота) не более (66,7 x 54,0 x 149,2) мм, магнитная «кнопка памяти» (диаметр не более 17 мм).

Упаковка изделия обеспечивает достаточную защиту от механических, климатических воздействий при условии соблюдения правил транспортировки.

Маркировка

Производитель использует следующие символы и знаки:

Приложение 1 (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.)

V1.0

Символ	Определение	Символ	Определение
	Смотрите инструкцию по применению		Для диагностики <i>in vitro</i>
	Каталожный номер		Код партии
	Производитель		Использовать до (срок годности)
	СЕ-маркировка		Глобальный номер предмета торговли
	Содержит достаточно для п-исследований		Пригоден для вторичной переработки
	Температурные ограничения		Не использовать повторно
Rx Only	Только по рецепту		QR-код
	Дата изготовления		

Маркировка дозатора

Логотип торговой марки
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Глобальный номер предмета торговли
Количество исследований, которые можно сделать
Температура хранения
QR-код
СЕ-маркировка
Предупреждение для диагностики *in-vitro*
Знак «Не использовать повторно»
Знак «Предостережение, обращайтесь к инструкции по применению»
Название и адрес производителя

Маркировка картонной упаковки

Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Глобальный номер предмета торговли
Код партии
Дата производства
Срок годности
Количество тестов, которые можно сделать
Температура хранения
Предупреждение для диагностики *in-vitro*
СЕ-маркировка
Обозначение «Только по рецепту»
Предупреждение - не использовать повторно
QR-код
Производственный код
Обозначение, что пригоден для вторичной переработки
Полное название, адрес, телефон производителя
Ссылка на электронную инструкцию
Страна происхождения

Макет маркировки на русском языке

Реагент Ventana PD-L1 (SP142) Assay для иммуногистохимической оценки лиганда-1 белка программируемой смерти *in vitro*

диагностике к иммунофлуоресценции автоматическим серии Ventana BenchMark

Регистрационное удостоверение № _____ от _____
Срок годности см. на упаковке.
Дату производства см. на упаковке.
Температура хранения см. на упаковке.
Номер лота см. на упаковке
Производитель: «Roche Diagnostics GmbH» ("Рош Диагностикс ГмбХ"), Sandhofer Strasse 116, D- 68305 Mannheim, Germany, Германия
Изделие предназначено для диагностики *in vitro*
Уполномоченный представитель производителя на территории РФ:
Общество с ограниченной ответственностью «Рош Диагностика Рус» (ООО «Рош Диагностика Рус»), 107031, Москва, Трубная площадь, д.2 Тел: +7 495 229-69-99, факс: +7 495 229-62-64. E-mail: moscow.reception_dia@roche.com

Кат.номер 08008540001 (741-4860)

Условия транспортировки

Перед отправкой с завода продукт проходит контрольные проверки. Международные символы на упаковке и специальные инструкции по обращению указывают транспортировщику, как следует обращаться с этим продуктом. При получении продукта внимательно осмотрите упаковку. При наличии любых следов неправильного обращения или повреждения немедленно обратитесь в отдел обслуживания клиентов компании «Roche Diagnostics GmbH» или к региональному поставщику. Транспортировка осуществляется всеми видами транспорта в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на каждом виде транспорта. Температура при транспортировке 2-8°C.

Требования к охране окружающей среды

Медицинское изделие при использовании, транспортировке и хранении не оказывает негативного воздействия на человека и окружающую среду при соблюдении условий применения и мер предосторожности, указанных в инструкции.

Стерилизация

Изделие поставляется нестерильным. Не подлежит повторному использованию и/или стерилизации пользователем.

Утилизация

Во избежание возможного загрязнения окружающей среды Реагент Ventana PD-L1 (SP142) Assay для иммуногистохимической оценки лиганда-1 белка программируемой смерти *in vitro* диагностике к иммунофлуоресценции автоматическим серии Ventana BenchMark с истекшим сроком годности или использованные дозаторы, а также отходы, использованных реагентов, должны утилизироваться в соответствии с местными государственными и/или больничными нормативными требованиями. Правильное уничтожение и утилизация будет поддерживать сохранение природных ресурсов и содействовать защите здоровья человека и окружающей среды.

Утилизация отходов упаковки.

Упаковка продукции «Roche Diagnostics GmbH» разработана с целью сведения к минимуму загрязнения окружающей среды при сохранении целостности продукта во время транспортировки и хранения. Упаковочные отходы должны утилизироваться в местных пунктах сбора упаковки, в специализированные контейнеры, расположенные в муниципалитетах.

Утилизация изделия с истекшим сроком годности и отходов, использованных реагентов.

При утилизации и уничтожении изделий с истекшим сроком годности, а также отходов, использованных реагентов, необходимо действовать в соответствии с гигиеническими нормативами и следовать официальным инструкциям по утилизации и уничтожению потенциально инфекционного и химического

Приложение 1 (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.)

V1.0

материала, принятым на территории Российской Федерации и в данном ЛПУ.

Ключевыми вопросами в стратегии управления отходами является оптимизация тактик и подходов к конечным продуктам, а также минимизация возможного загрязнения окружающей среды.

Более подробную информацию можно получить у производителя / уполномоченного представителя производителя.

Утилизация должна проводиться в соответствии с местными нормами законодательства, а также в соответствии с протоколами медицинского учреждения, где используются данные медицинские изделия.

Не утилизировать совместно с бытовыми отходами.

Гарантийные обязательства

Производитель (компания «Roche Diagnostics GmbH» гарантирует, что Реагент Ventana PD-L1 (SP142) Assay для иммуногистохимической оценки лиганда-1 белка программируемой смерти в *in vitro* диагностике к иммуностейнерам автоматическим серии Ventana BenchMark соответствуют спецификациям, заявленным на этикетке. Производитель несет ответственность за работу изделий только в случае их правильного использования в соответствии с инструкцией, а также соблюдения правил хранения и транспортировки.

Производитель гарантирует стабильность Ventana PD-L1 (SP142) Assay до окончания срока годности при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, указанных в инструкции.

Производитель гарантирует безопасность медицинского изделия, отсутствие недопустимого риска причинения вреда жизни, здоровью человека и окружающей среде при использовании Ventana PD-L1 (SP142) Assay по назначению в условиях, предусмотренных производителем.

Изделия должны использоваться только до истечения срока годности, который указан на упаковке.

НАСТОЯЩАЯ ОГРАНИЧЕННАЯ ГАРАНТИЯ ЗАМЕНЯЕТ СОБОЙ ИНЫЕ ГАРАНТИИ, ОДНОЗНАЧНО ВЫРАЖЕННЫЕ ИЛИ ПОДРАЗУМЕВАЕМЫЕ, ВКЛЮЧАЯ ЛЮБУЮ ПОДРАЗУМЕВАЕМУЮ ГАРАНТИЮ ПРИГОДНОСТИ ДЛЯ КОММЕРЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИЛИ ДЛЯ ЛЮБОЙ ИНОЙ ЦЕЛИ. КОМПАНИЯ ПРОИЗВОДИТЕЛЬ НЕ НЕСЕТ ОТВЕТСТВЕННОСТИ ЗА СЛУЧАЙНЫЕ, НЕПРЯМЫЕ, СПЕЦИАЛЬНЫЕ ИЛИ КОСВЕННЫЕ УБЫТКИ.

По вопросам, связанным с качеством изделий, а также с их работой, нужно обращаться к Уполномоченному представителю производителя на территории РФ:

Общество с ограниченной ответственностью «Рош Диагностика Рус» (ООО «Рош Диагностика Рус»), 107031, Москва, Трубная площадь, д.2, тел.: (495) 229-69-99, факс: (495) 229-62-64

Претензии по качеству (рекламация)

Порядок предъявления рекламаций и ответов на них регулируется гражданским правом. Рекламация может предъявляться только по таким вопросам, которые не являлись предметом приемки товара, произведенной в соответствии с условиями договора.

По всем вопросам, связанным с обслуживанием изделия, необходимо обратиться к Уполномоченному представителю производителя.

В случае рекламации обращаться к производителю и / или уполномоченному представителю производителя.

Уполномоченный представитель производителя на территории РФ:

Общество с ограниченной ответственностью «Рош Диагностика Рус» (ООО «Рош Диагностика Рус»), 107031, Москва, Трубная площадь, д.2, тел.: (495) 229-69-99, факс: (495) 229-62-64

Уполномоченный представитель производителя на территории РФ:

Общество с ограниченной ответственностью «Рош Диагностика Рус» (ООО «Рош Диагностика Рус»), 107031, Москва, Трубная площадь, д.2, тел.: (495) 229-69-99, факс: (495) 229-62-64



[Перевод с немецкого и английского языков на русский язык]

[На бланке нотариальной конторы «Нотариальная контора Зеелер энд Д-р. Феллмет»]

«Нотариальная контора Зеелер энд Д-р. Феллмет» (Seeler & Dr. Fellmeth) • Q7, 23 • 68161 МАННХАЙМ

Удостоверение копии

Настоящим удостоверяется соответствие приведенной ниже фотокопии представленному
мне оригиналу.

г. Маннхайм, [Штамп: 17 июля 2020 г.]

/подпись/

Клаудия Зеелер (Claudia Seeler)
Нотариус г. Маннхайм

[Рельефная печать:

Клаудия Зеелер (Claudia Seeler)
Нотариус в г. Маннхайм]

[На бланке компании «Рош Диагностикс ГмбХ»]

[Логотип компании «Вентана Медикал Системс, Инк.»]

Ventana PD-L1 (SP142) Assay

[Логотип компании «Рош»]
Вер. 1.0

[Заголовок документа «Инструкция по применению на медицинское изделие „Реагент Ventana PD-L1 (SP142) Assay для иммуногистохимической оценки лиганда-1 белка программируемой смерти в in vitro диагностике к иммуностеймерам автоматическим серии Ventana BenchMark“», представленный на русском языке.]

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

«Рош Диагностикс ГмбХ» (Roche Diagnostics GmbH), Сандхофер Штрассе 116, D-68305 Маннхайм, Германия (Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim, Germany)

Утверждено
«Рош Диагностикс ГмбХ»
(Roche Diagnostics GmbH)
Дата: 16 июля 2020 г.

/подпись/
Андреа Вебер (Andrea Weber)
Руководитель проекта по международно-
правовому регулированию

Штамп: [Штамп:
«Рош Диагностикс ГмбХ»
(Roche Diagnostics GmbH)
Сандхофер Штрассе 116
D-68305 Маннхайм*
(Sandhofer Straße 116
D-68305 Mannheim)]

2020 г.

«Рош Диагностикс ГмбХ» (Roche Diagnostics GmbH); Сандхофер Штрассе 116; D-68305 Маннхайм (Sandhofer Straße 116; D-68305 Mannheim); телефон: +49-621-759-0; телефакс: +49-621-759-2890
Юридический адрес: Маннхайм — регистрационный суд: Участковый суд Маннхайма HRB 3962, Руководство: Клаус Хаберда (Claus Haberd), Андреас Шмитц (Andreas Schmitz) — председатель наблюдательного совета: Д-р Томас Шинекер (Dr. Thomas Schinecker)

[Далее следует текст документа «Инструкция по применению на медицинское изделие „Реагент Ventana PD-L1 (SP142) Assay для иммуногистохимической оценки лиганда-1 белка программируемой смерти в *in vitro* диагностике к иммуностейнерам автоматическим серии Ventana BenchMark“», представленного на русском языке.]

1. Блэнк С., Маккенсен А. Вклад пути PD-L1/PD-1 в истощение Т-клеток: обновленная информация о последствиях для хронических инфекций и уклонения опухоли от иммунологического ответа. Иммунология рака, иммунотерапия, 2007 г.; 56(5):739–745 (Blank C, Mackensen A. Contribution of the PD-L1/PD-1 pathway to T-cell exhaustion: an update on implications for chronic infections and tumor evasion. Cancer Immunol Immunother. 2007;56(5):739–745).
2. Батте М. Дж., Кейр М. Э., Фамдуй Т. Б. и соавт. Белок программируемой клеточной смерти лиганд-1 взаимодействует исключительно с костимулирующей молекулой B7-1 для ингибирования реакций Т-клеток. Иммунитет, 2007 г.; 27(1):111–122 (Butte MJ, Keir ME, Phamduy TB, et al. Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T cell responses. Immunity. 2007;27(1):111–122).
3. Хербст Р. С., Сория Дж. К., Кованец М. и соавт. Предиктивные корреляты ответа на антитела к PD-L1 MPDL3280A у онкологических больных. Природа, 2014 г.; 515(7528):563–567 (Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. Nature. 2014;515(7528):563–567).
4. Беллмунт Дж., Муллейн С. А., Вемер Л. и соавт. Связь экспрессии PD-L1 в опухолеинфильтрирующих мононуклеарных клетках и общей выживаемости у пациентов с уротелиальной карциномой. Вестник онкологии, 2015 г.; 26 (4): 812–817 (Bellmunt J, Mullane SA, Werner L, et al. Association of PD-L1 expression on tumor-infiltrating mononuclear cells and overall survival in patients with urothelial carcinoma. Ann Oncol. 2015;26(4):812–817).
5. Брамер Дж. Р., Дрейк К. Дж., Вольнер И. и соавт. Фаза I исследования одноагентной анти-программируемой смерти 1 (MDX-1106) при резистентных солидных опухолях: безопасность, клиническая активность, фармакодинамика и иммунологические корреляты. Журнал клинической онкологии, 2010 г.; 28 (19): 3167–3175 (Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. J Clin Oncol. 2010;28(19):3167–3175).
6. Ференбахер Л., Спира А., Белинджер М. и соавт. Атезолизумаб по сравнению с доцетакселом для пациентов, ранее проходивших лечение немелкоклеточного рака легких (POPLAR): многоцентровое открытое рандомизированное контролируемое исследование во 2-й фазе. Ланцет, 2016 г.; 387(10030):1837–1846 (Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. Lancet. 2016;387(10030):1837–1846).
7. Паулс Т., Эдер Дж. П., Файн Дж. Д. и соавт. Лечение MPDL3280A (анти-PD-L1) приводит к клинической активности при метастатическом раке мочевого пузыря. Природа, 2014 г.; 515(7528):558–562 (Powles T, Eder JP, Fine GD, et al. MPDL3280A (anti-PD-L1) treatment leads to clinical activity in metastatic bladder cancer. Nature. 2014;515(7528):558–562).
8. Розенберг Дж. И., Хоффман-Кензис Дж., Паулс Т. и соавт. Атезолизумаб у пациентов с местнораспространенной и метастатической карциномой мочевого пузыря, которые прогрессировали после лечения платиносодержащей химиотерапией: неконтролируемое многоцентровое исследование во 2-й фазе. Ланцет, 2016 г.; 387 (10031): 1909–20 (Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. Lancet 2016;387(10031):1909–20).
9. Топалиан С. Л., Ходи Ф. С., Брамер Дж. Р. и соавт. Безопасность, активность и иммунные корреляты анти-PD-1 при раке. Медицинский журнал Новой Англии, 2012 г.; 366(26):2443–

2454 (Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. N Engl J Med. 2012;366(26):2443–2454).

10. Карсон Ф., Хладик С. Гистотехнология: текст для самообучения, 3-е издание. Гонконг: Пресса Американского общества клинической патологии; 2009 г. (Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009).

11. Рош П.К., Си Э.Д. Иммуногистохимия — принципы и достижения. Руководство по клинической лабораторной иммунологии, 6-е издание. В: Н.Р. Роуз, под ред. изд-ва «АСМ Пресс»; 2002 г. (Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002).

12. Медицинская инструкция по патологической анатомии Американской коллегии патологов. 28 июля 2015 г. (Anatomic Pathology Checklist College of American Pathologists. Jul 28, 2015).

13. Институт клинических и лабораторных стандартов (CLSI). Обеспечение качества для контроля проектирования и проведения иммуногистохимического анализа: утвержденные руководящие принципы. 2-е издание, Уэйн, Пенсильвания, США: Институт клинических и лабораторных стандартов; 2011 г. (CLSI. Quality assurance for design control and implementation of immunohistochemistry assay: approved guidelines. 2nd edition Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011).

14. Херман Дж. И., Эльфонт Э. А. Приручение иммуногистохимии: новая эра контроля качества. Биотехнология и гистохимия, 1991 г.; 66(4):194–199 (Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194–199).

15. Хаутцер Н. В., Витткун Дж. Ф. МакКохи В. Т. Переваривание трипсином при окрашивании иммунопероксидазой. Журнал гистохимии и цитохимии, 1980 г.; 28(1):52–53 (Hautzer NW, Wittkuhn JF, McCaughey WT. Trypsin digestion in immunoperoxidase staining. J Histochem Cytochem. 1980;28(1):52–53).

16. Омата М., Лью С. Т., Ашкаваи М., Петерс Р. Л. Неиммунологическое связывание пероксидазы хрена с поверхностным антигеном гепатита В. Возможный источник ошибок в иммуногистохимии. Американский журнал клинической патологии, 1980 г.; 73(5):626–632 (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).

17. Наджи М., Моралес А. Р. Иммунопероксидаза: часть 1. Техника и ее подводные камни. Лабораторная медицина, 1983 г.; 14:767 (Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. Lab Med. 1983;14:767).

© «Вентана Медикал Системс, Инк.» (Ventana Medical Systems, Inc.) и «Рош Диагностик Интернэшнл, Инк.» (Roche Diagnostics International, Inc.), 2017 г.

«Рош Диагностик ГмбХ»
(Roche Diagnostics GmbH)
Сандхофер Штрассе 116
D-68305 Маннхайм
Германия
(Sandhofer Straße 116
D-68305 Mannheim
Germany)

1015702RU ред. А

[Рельефная печать:
Клаудия Зеелер (Claudia Seeler)
Нотариус в г. Маннхайм]

Перевела Козлова Дарья Владимировна

Российская Федерация

Город Москва

Четвертого августа две тысячи двадцатого года

Я, Король Виктория Алексеевна, нотариус города Москвы, свидетельствую
подлинность подписи переводчика Козловой Дарьи Владимировны.

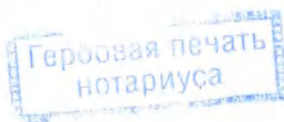
Подпись сделана в моем присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре: № 08/82-н/77-2020- 8-5633

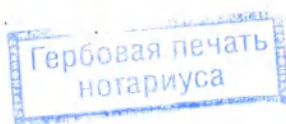
Взыскано государственной пошлины (по тарифу): 100 руб. 00 коп.

Уплачено за оказание услуг правового и технического характера: 300 руб. 00 коп.



В.А. Король

Пронумеровано, пронумеровано и скреплено печатью 16 лист(-а, -ов)



В.А. Король

Российская Федерация
Город Москва

Четвертого августа две тысячи двадцатого года

Я, Король Виктория Алексеевна, нотариус города Москвы,
свидетельствую верность копии с представленного мне
документа.

Зарегистрировано в реестре: N 08/82-н/77-2020-

8-5634

Взыскано государственной пошлины (по тарифу): 280 руб.

Уплачено за оказание услуг правового и технического характера: 1400 руб.
В.А. Король



d

Всего прошнуровано,
пронумеровано и скреплено
печатью 17 лист(-а,-ов)

d