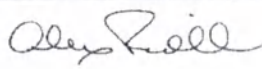


7p Dec 18

State of California Secretary of State

This Certificate is not valid for use anywhere within the United States of America, its territories or possessions.

APOSTILLE (Convention de La Haye du 5 octobre 1961)			
1. Country: Pays / País:		United States of America	
This public document Le présent acte public / El presente documento público			
2. has been signed by a été signé par ha sido firmado por		D. K. Picard	
3. acting in the capacity of agissant en qualité de quien actúa en calidad de		Notary Public, State of California	
4. bears the seal / stamp of est revêtu du sceau / timbre de y está revestido del sello / timbre de		D. K. Picard , Notary Public, State of California	
Certified Attesté / Certificado			
5. at à / en		Sacramento, California	6. the le / el día 8th day of December 2023
7. by par / por		Secretary of State, State of California	
8. N° sous n° bajo el número		69289	
9. Seal / stamp: Sceau / timbre: Sello / timbre:			10. Signature: Signature: Firma: 

This Apostille only certifies the authenticity of the signature and the capacity of the person who has signed the public document, and, where appropriate, the identity of the seal or stamp which the public document bears.

This Apostille does not certify the content of the document for which it was issued.

To verify the issuance of this Apostille, see: apostille-search.sos.ca.gov/.

This certificate does not constitute an Apostille under the Hague Convention of 5 October 1961, when it is presented in a country which is not a party to the Convention. In such cases, the certificate should be presented to the consular section of the mission representing that country.

Cette Apostille atteste uniquement la véracité de la signature, la qualité en laquelle le signataire de l'acte a agi et, le cas échéant, l'identité du sceau ou timbre dont cet acte public est revêtu.

Cette Apostille ne certifie pas le contenu de l'acte pour lequel elle a été émise.

Cette Apostille peut être vérifiée à l'adresse suivante: apostille-search.sos.ca.gov/.

Ce certificat ne constitue pas une Apostille en vertu de la Convention de La Haye du 5 Octobre 1961, lorsque présenté dans un pays qui n'est pas partie à cette Convention. Dans ce cas, le certificat doit être présenté à la section consulaire de la mission qui représente ce pays.

Esta Apostilla certifica únicamente la autenticidad de la firma, la calidad en que el signatario del documento haya actuado y, en su caso, la identidad del sello o timbre del que el documento público esté revestido.

Esta Apostilla no certifica el contenido del documento para el cual se expidió.

Esta Apostilla se puede verificar en la dirección siguiente: apostille-search.sos.ca.gov/.

Este certificado no constituye una Apostilla en virtud del Convenio de La Haya de 5 de octubre de 1961 cuando se presenta en un país que no es parte del Convenio. En estos casos, el certificado debe ser presentado a la sección consular de la misión que representa a ese país.

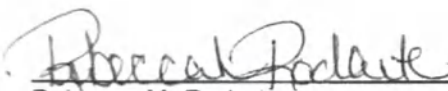




Instructions for Use

To Whom It May Concern,

The attached document is the Instruction for Use for PD-L1 IHC 22C3 pharmDx


Rebecca M. Rodarte
Regulatory Affairs

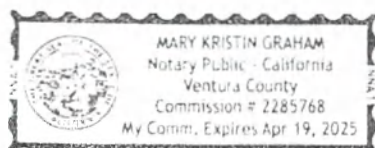
2023 Nov 27
Date

A notary public or other officer completing this certificate verifies only the identity of the individual who signed the document to which this certificate is attached, and not the truthfulness, accuracy, or validity of that document.

State of California

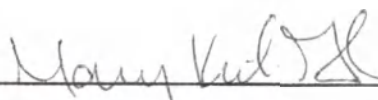
County of Ventura

Subscribed and sworn to (or affirmed) before me on this 27 day of
November, 2023, by Rebecca M. Rodarte, proved to me on the basis of
satisfactory evidence to be the person(s) who appeared before me.



(Seal)

Signature





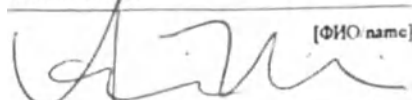


Одобрено Аджилент Текнолоджис, Инк /
Approved by Agilent Technologies, Inc.

Regulatory Affairs Program Manager - CDx

[должность position]

Alisha Miller

 [ФИО name]

[подпись signature]

"01" November 2023г

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ / INSTRUCTIONS FOR USE

Набор реагентов для иммуногистохимического анализа по определению
белка PD-L1 в тканях человека (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx) /

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx

СОДЕРЖАНИЕ

Руководство для оператора	
1. Наименование	3
2. Назначение	3
2.1 Область применения	3
2.2 Функциональное назначение	3
2.3 Популяционные, демографические аспекты применения медицинского изделия	3
2.4 Противопоказания	3
2.5 Описание целевого анализа	3
2.6 Квалификация пользователя	4
2.7 Риски применения медицинского изделия, противопоказания, ожидаемые и предсказуемые побочные эффекты, связанные с применением медицинского изделия по назначению	4
2.8 Биологический референтный интервал применения медицинского изделия	4
3. Потенциальный потребитель	4
4. Состав. Содержимое упаковки (комплектность поставки)	4
5. Информация о наличии в медицинском изделии лекарственного средства для медицинского применения, материалов животного и /или человеческого происхождения	7
6. Информация о прослеживаемости контрольных материалов	9
7. Срок годности	9
8. Утилизация	9
9. Условия транспортировки, хранения и эксплуатации изделия	10
10. Гарантии изготовителя	10
11. Неклинические характеристики. Аналитическая эффективность. Диагностическая чувствительность и специфичность по данным испытаний в Российской Федерации	11
11.1 Аналитическая эффективность	11
11.1.1 Аналитическая специфичность	
11.1.2 Аналитическая чувствительность	12
11.1.3 Воспроизводимость	12
11.2 Диагностическая чувствительность и специфичность по данным испытаний в Российской Федерации	13
12. Упаковка	14
13. Маркировка	15
13.1 Макет маркировки на русском языке	15
13.2 Маркировка картонной упаковки	16
14. Сведения об охране окружающей среды	16
15. Сведения о стерильности	16
16. Информация о порядке обработки медицинского изделия для его повторного использования	17
17. Уполномоченный представитель в РФ	17
18. Информация о производителе и месте производства	17
Инструкция по применению	
Набор реагентов для иммуногистохимического анализа по определению белка PD-L1 в тканях человека (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx)	18

1. Наименование

Набор реагентов для иммуногистохимического анализа по определению PD-L1 в тканях человека (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx).

Далее по тексту- Набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx; изделие.

2. Назначение

Для диагностики *in vitro*.

Набор реагентов для иммуногистохимического анализа по определению белка PD-L1 в тканях человека (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx) с использованием антитела моноклонального мышинового к PD-L1 человека, клон 22C3, предназначен для качественного определения белка PD-L1 в зафиксированных в формалине и залитых в парафин (FFPE) клинических образцах ткани немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), рака желудка, трижды негативного рака молочной железы (ТНРМЖ)*, рака шейки матки и уротелиальной карциномы с использованием системы детекции "ЭнВижн ФЛЕКС" (EnVision FLEX) на станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48» (Autostainer Link 48).

*Трижды негативный рак молочной железы (ТНРМЖ)- подтип рака молочной железы, при котором не экспрессируется рецептор эстрогена (ER-), рецептор прогестерона (PR-) и человеческий эпидермальный фактор роста (HER2-).

2.1 Область применения

См. в разделе «Область применения основной части Инструкции по применению»

2.2 Функциональное назначение

Качественная оценка экспрессии PD-L1 в опухолях эпителиальной природы.

2.3 Популяционные, демографические аспекты применения медицинского изделия

Применение изделия не зависит от популяционных и демографических аспектов.

2.4 Противопоказания

Не применять набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx не по назначению. Противопоказанием к применению набора реагентов является нарушение целостности упаковки при хранении и транспортировании, истекший срок годности, не соблюдение условий хранения, транспортирования и требований инструкции.

2.5 Описание целевого анализа

PD-L1- лиганд 1 белка программируемой гибели клетки (1). Лиганд программируемой гибели 1 представляет собой трансмембранный белок типа 1 с молекулярной массой 40 кДа и является лигандом для рецептора PD-1 (2). Связывание лигандов PD-1, PD-L1 и PD-L2 с рецептором PD-1, находящимся на Т-клетках, ингибирует пролиферацию Т-клеток и выработку цитокинов (2). В некоторых опухолях имеет место стимулирующая регуляция лигандов PD-1, и передача сигналов через этот путь может способствовать ингибированию активного Т-клеточного иммунного надзора за опухолями (3). Блокирование взаимодействия PD-1 с лигандами PD-L1 и PD-L2 высвобождает опосредованное путем PD-1 ингибирование иммунного ответа, в том числе противоопухолевого иммунного ответа (4).

2.6 Квалификация пользователя

Настоящее изделие применяется только квалифицированным специалистом (например, врачом патморфологом, цитологом, медицинским технологом), прошедшим обучение.

2.7 Риски применения медицинского изделия, ожидаемые и предсказуемые побочные эффекты, связанные с применением медицинского изделия по назначению

Не применимо для данного изделия.

2.8 Биологический референтный интервал применения медицинского изделия

Минимальная определяемая концентрация белка PD-L1 с использованием Антитела моноклонального мышиноного против PD-L1 человека, клон 22C3, как было показано методом Вестерн-блотт, составляет 0,5 нг/ мл белка.

3. Потенциальный потребитель

Патологоанатомические лаборатории/отделения медицинских организаций. Медицинский персонал патологоанатомических лабораторий/отделений должен иметь документированное подтверждение проведенного обучения, связанного с потенциальным риском, сочетающимся с работой с любым медицинским (клиническим) лабораторным устройством. Квалифицированный специалист (например, врач патморфолог, цитолог, медицинский технолог) должен быть специально обучен интерпретировать алгоритмы окрашивания и оценки.

4. Состав. Содержимое упаковки (комплектность поставки)

Набор реагентов для иммуногистохимического анализа по определению белка PD-L1 в тканях человека (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx), в составе:

1. Реагент блокирующий пероксидазу - 1 шт. (34,5 мл);
2. Антитело моноклональное мышиноное к PD-L1, клон 22C3 - 1 шт. (19,5 мл);
3. Реагент отрицательного контроля - 1 шт. (15 мл);
4. Линкер, антимышиный - 1 шт. (34,5 мл);
5. Реагент для визуализации - пероксидаза хрена - 1 шт. (34,5 мл);
6. ДАБ+ забуференный субстрат - 15 шт. (7,2 мл);
7. ДАБ+ хромоген - 1 шт. (5 мл);
8. Усилитель ДАБ - 1 шт. (34,5 мл);
9. Раствор для демаскировки антигена с низким pH EnVision FLEX (50x) - 6 шт. (30 мл);
10. Предметные стекла с контрольными клеточными линиями - 15 шт.
11. Инструкция по применению.

Набор реагентов для иммуногистохимического анализа по определению белка PD-L1 в тканях человека (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx) упакован и поставляется в виде набора реагентов, как показано на рисунке ниже (рисунок 1).

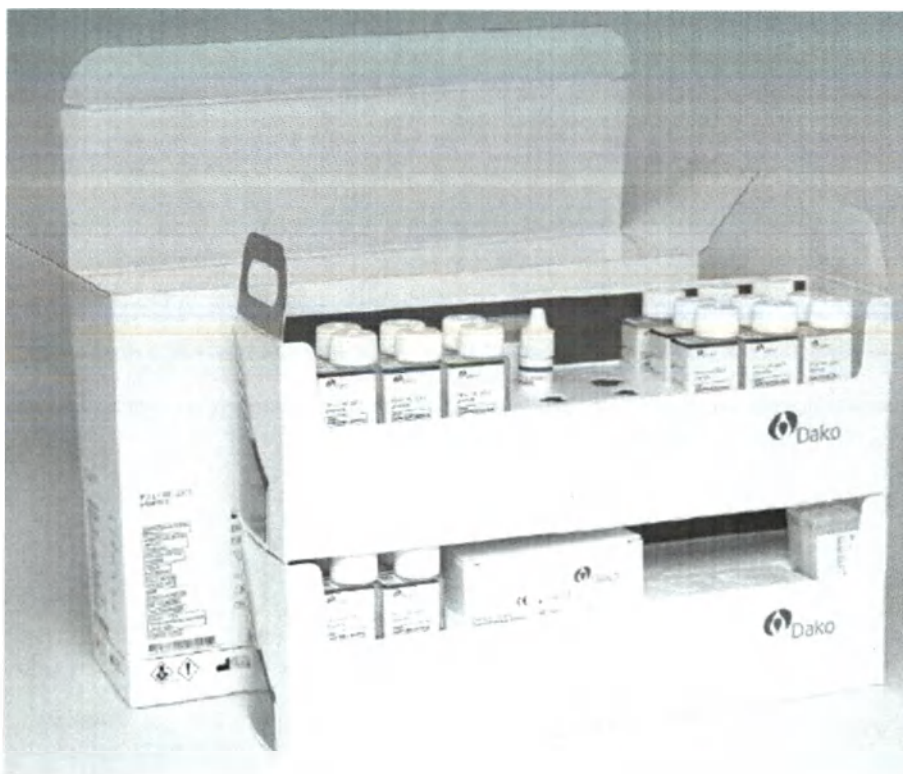


Рисунок 1. Изображение набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx (номер по каталогу SK006).

Набор реагентов PD-L1 22C3 pharmDx содержит 28 флаконов с реагентами и 15 предметных стекол с контрольными клеточными линиями. Изделие следует использовать только на станции иммуногистохимического окрашивания "Автостейнер Линк 48" (Autostainer Link 48) производства Agilent Technologies Singapore (International) Pte. Ltd. ("Аджилент Текнолоджис Сингапур (Интернэшнл) Пте. Лтд."); ФСЗ 2010/08443 (далее по тексту- станция иммуногистохимического окрашивания "Автостейнер Линк 48"; ASL 48).

Описание компонентов набора реагентов представлено в таблице ниже. Этого количества достаточно для выполнения **50 тестов; не более 15 отдельных циклов окрашивания**. Изделие предназначено для однократного дробного применения по назначению.

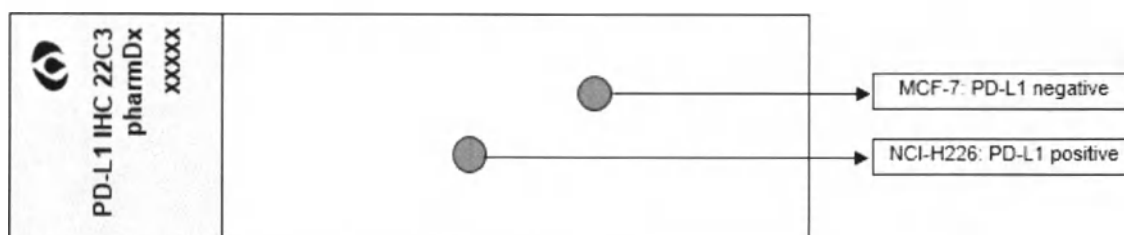
Таблица 1. Компоненты набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx.

Описание компонента	Описание	Кол-во x объем
Реагент, блокирующий пероксидазу (Peroxidase-Blocking Reagent)	Буферный раствор, содержащий перекись водорода, детергент и 0,015 моль/л азида натрия.	1 флакон x 34,5 мл
Антитело моноклональное мышиное к PD-L1, клон 22C3 (Monoclonal Mouse anti-PD-L1, Clone 22C3)	Антитело моноклональное мышиное к PD-L1, клон 22C3 (IgG ₁) в буферном растворе, содержащем стабилизирующий белок и 0,015 моль/л азида натрия.	1 флакон x 19,5 мл
Реагент отрицательного контроля (Negative Control Reagent)	Антитело моноклональное контрольное мышиное (IgG ₁) в буферном растворе, содержащем стабилизирующий белок, и 0,015 моль/л азида натрия.	1 флакон x 15 мл

Описание компонента	Описание	Кол-во x объем
Линкер, антимышиный (Linker, Anti-Mouse)	Кроличье вторичное антитело против мышиных иммуноглобулинов в буферном растворе, содержащем стабилизирующий белок и 0,015 моль/л азида натрия.	1 флакон x 34,5 мл
Реагент для визуализации - пероксидаза хрена (Visualization Reagent-HRP)	Конъюгат декстрана с молекулами пероксидазы и молекулами вторичных козьих антител против кроличьих и мышиных иммуноглобулинов в буферном растворе, содержащем стабилизирующий белок и антибактериальное средство.	1 флакон x 34,5 мл
ДАБ+ забуференный субстрат (DAB+ Substrate Buffer)	Буферный раствор, содержащий перекись водорода и антибактериальное средство.	15 флаконов x 7,2 мл
ДАБ+ хромоген (DAB+ Chromogen)	3,3'-диаминобензидина тетрагидрохлорид в органическом растворителе.	1 флакон x 5 мл
Усилитель ДАБ (DAB Enhancer)	Раствор сульфата меди в воде.	1 флакон x 34,5 мл
Раствор для демаскировки антигена с низким pH EnVision FLEX (50x) (Envision FLEX Target Retrieval Solution Low pH (50X))	Буферный раствор, pH 6,1, содержащий детергент и антибактериальное средство.	6 флаконов x 30 мл
*Предметные стекла с контрольными клеточными линиями (Control Slides)	Каждое предметное стекло содержит срезы двух осажденных центрифугированием, зафиксированных в формалине, залитых в парафин клеточных линий: NCI-H226** с умеренной экспрессией белка PD-L1 и MCF-7** с отрицательной экспрессией белка PD-L1.	Контрольные предметные стекла 3 x 5 (15)

- Инструкция по применению уложена в коробку.

*Предметные стекла с контрольными клеточными линиями (Control Slides) описаны на рисунке ниже:



PD-L1 IHC 22C3 pharmDx XXXXX

MCF-7: PD-L1 negative

NCI-H226: PD-L1 positive

Набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx лот (код партии)

MCF-7: PD-L1 отрицательный

NCI-H226: PD-L1 положительный

** Выражаем благодарность Д-р А.Ф. Газдар и Д-р Дж.Д. Минна в Национальном институте здравоохранения США (NIH) за их вклад в разработку NCI-H226 (номер Американской коллекции клеточных культур (ATCC): CRL-5826) [11].

Рисунок 2. Изображение предметного стекла с контрольными клеточными линиями (Control Slides).

Примечание: все включенные реагенты приготовлены специально для применения с настоящим изделием. Для выполнения анализа в соответствии с назначением и указаниями, недопустима замена растворов, кроме раствора для демаскировки с низким pH EnVision FLEX (50x) (номер по каталогу K8005). Набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx

предназначен для использования со станцией иммуногистохимического окрашивания "Автостейнер Линк 48". Дополнительную информацию см. в Руководствах пользователя к станции «Автостейнер Линк 48» и Модулю предварительной подготовки для депарафинизации и восстановления антигена PT Link; Agilent Technologies Singapore (International) Pte. Ltd. ("Аджилент Текнолоджис Сингапур (Интернэшнл) Пте. Лтд."), ФСЗ 2010/08443.

5. Информация о наличии в медицинском изделии лекарственного средства для медицинского применения, материалов животного и /или человеческого происхождения

Изделие содержит материалы животного происхождения, перечисленные в таблице ниже.

Таблица 2. Информация о компонентах животного происхождения.

Компонент	Характер	Тип	Источник	Происхождение
Антитело моноклональное мышинное к PD-L1, клон 22C3 (Monoclonal Mouse anti-PD-L1, Clone 22C3)	Потенциальный возбудитель инфекции*	Очищенное рекомбинантное моноклональное мышинное антитело в буферном растворе 0.05 моль/л Tris HCl, содержащем 0.015 моль/л азида натрия. Очистка методом аффинной хроматографии.	Мышь	«Аджилент Текнолоджис, Инк.», США (Agilent Technologies, Inc., USA)
Казеин, [Антитело моноклональное мышинное к PD-L1, клон 22C3 (Monoclonal Mouse anti-PD-L1, Clone 22C3)] [Реагент отрицательного контроля (Negative Control Reagent)]	Потенциальный возбудитель инфекции*	Биологическое экстрагирование и/или очистка. Для производства использовано свежее коровье молоко, прошло пастеризацию.	Корова	Новая Зеландия
Бычий сывороточный альбумин [Антитело моноклональное мышинное к PD-L1, клон 22C3 (Monoclonal Mouse anti-PD-L1, Clone 22C3)] [Линкер, антимышинный (Linker, Anti-Mouse)]	Потенциальный возбудитель инфекции*	Преимущественно гамма-глобулин. Животные прошли предубойный и посмертный контроль. Изделие производится исключительно из тканей, которые не содержат агента, вызывающего губчатую энцефалопатию крупного рогатого скота (ГЭКРС).	Бык	«Пролиант Биолоджикалз, Инк.» (Proliant Biologicals, Inc., USA)

Козьи антитела против кроличьих и мышиных иммуноглобулинов [Реагент для визуализации - пероксидаза хрена (Visualization Reagent-HRP)]	Потенциальный возбудитель инфекции*	Очищенная фракция иммуноглобулинов, выделенных из козливой антисыворотки.	Козел	«Аджилент Текнолоджис Денмарк АпС», США (Agilent Technologies Denmark ApS, USA)
Кроличье антитело против мышиных иммуноглобулинов [Линкер, антимышиный (Linker, Anti-Mouse)]	Потенциальный возбудитель инфекции*	Очищенная фракция иммуноглобулинов, выделенных из кроличьей антисыворотки.	Кролик	«Аджилент Текнолоджис Денмарк АпС», США (Agilent Technologies Denmark ApS, USA)
Реагент отрицательного контроля (Negative Control Reagent)	Потенциальный возбудитель инфекции*	Очистка методом аффинной хроматографии из супернатанта гибридной культуральной жидкости на белках А и G.	Мышь	«Аджилент Текнолоджис Денмарк АпС», США (Agilent Technologies Denmark ApS, USA)
Предметные стекла с контрольными клеточными линиями (Control Slides)**	Потенциальный возбудитель инфекции***	Фиксированные формалином, залитые в парафин (FFPE) клеточные линии человека. •Клеточная линия MCF7 эпителиоподобная клеточная линия, полученная из инвазивной аденокарциномы протоков молочной железы человека. •Клеточная линия NCI-H226-рак легкого.	Человек	«ATCC», США (ATCC, USA)

* Материалы, являющиеся потенциальными возбудителями инфекции, могут содержать инфекционные жизнеспособные трансмиссивные агенты, хотя и с низкой вероятностью заражения. Производитель утверждает, что материалы животного происхождения не содержат агентов инфекционной губчатой энцефалопатии. Однако, так как никакие известные методы не гарантируют отсутствия инфекционных агентов, обращайтесь с изделием и образцами пациентов как с потенциально инфекционно опасными. Необходимо применять средства индивидуальной защиты (перчатки, защита для глаз), тщательно мыть руки после анализа.

** Примечание: Производитель благодарит Dr. AF Gazdar и Dr. JD Minna из NIH (Национальный Институт Здоровья National Institutes of Health) за бесценный вклад в разработку NCI-H226 (ATCC Number: CRL-5826).

***Производитель подтверждает: у доноров антитела к ВИЧ 1, 2 и вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют.

5.1 Изделие не содержит лекарственных средств.

6. Информация о прослеживаемости контрольных материалов

Для белка PD-L1 не существует метрологически прослеживаемых контрольных материалов. Набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx содержит Предметные стекла с контрольными клеточными линиями (Control Slides): MCF-7 и NCI-H226 (см. рисунок 2). Производитель выражает признательность А.Ф. Газдар и д-р Дж. Д. Минна из NIH за их вклад в разработку NCI-H226 (номер ATCC: CRL-5826™) [11].

7. Срок годности

Срок годности Набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx – 9 мес. при 2-8°C при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации. После первого вскрытия флаконов с компонентами изделия, реагенты, входящие в состав Набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx, сохраняют свои свойства до окончания срока годности (указанного на этикетке) при соблюдении условий хранения, транспортирования и эксплуатации.

Не использовать набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx по истечении срока годности, указанного на внешней стороне коробки набора.

Срок годности приготовленного раствора Раствор ДАБ + субстрат-хромоген: ДАБ+ хромоген (DAB+ Chromogen) + ДАБ+ забуференный субстрат (DAB+ Substrate Buffer) -5 дней при 2-8 °С, при хранении в темноте.

Срок годности приготовленного однократного (x1) раствора буфера промывного ЭнВижн ФЛЕКС (ФСЗ 2010/08215), для использования на станции иммуногистохимического окрашивания "Автостейнер Линк 48" - не более 1 месяца при температуре 2–8 °С. Если буфер мутный, его утилизируют. Дополнительную информацию см. в Руководстве пользователя для станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48».

Срок годности приготовленного однократного (x1) Раствора для демаскировки антигена с низким pH EnVision FLEX для использования на станции иммуногистохимического окрашивания "Автостейнер Линк 48" - не более 5 дней при температуре 2–8 °С.

Очевидные признаки, указывающие на нестабильность Набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx, отсутствуют, поэтому, одновременно с анализом образцов пациентов должен выполняться анализ положительного и отрицательного контроля (предметные стекла с контрольными клеточными линиями: MCF-7 и NCI-H226).

8. Утилизация

- Неиспользованные изделия, изделия с истекшим сроком годности, использованные реагенты, в т.ч. стекла, содержащие образцы тканей, реакционные смеси, после проведения анализа, следует уничтожать (хранить и транспортировать) в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно- эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий. Неиспользованные изделия, изделия с истекшим сроком годности относятся к классу Г. Отходы упаковки

относятся к классу А. Использованные изделия, реагенты, биологический материал, включая инструменты и предметы, загрязненные материалом, относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

- Утилизация проводится специализированными организациями, которые имеют лицензию на право утилизации медицинских отходов.

- Изделие содержит азид натрия, который может вступать в реакцию со свинцом и медью в канализационной системе и формировать взрывоопасные скопления азидов металлов. После утилизации смыть большим количеством воды, чтобы предотвратить накопление азидов металла в канализационной системе.

По вопросам, касающимся утилизации Набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx, следует обращаться к авторизованному представителю в РФ: АО «Эрба Рус»: 109029, Россия, г. Москва, ул. Нижегородская, д. 32, стр. 15, эт. 5, помещ. I, ком. 35А, 37, 38, 39. Тел.: +7 (495) 755-78-81, +7 (495) 755-78-92.

9. Условия транспортировки, хранения и эксплуатации изделия

Информация, об особенностях транспортирования должна учитываться всеми лицами, участвующими в хранении, перевозке и утилизации (уничтожении) этого изделия.

9.1 Транспортирование/хранение

Транспортирование/хранение изделия, включая предметные стекла с контрольными клеточными линиями, должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, установленными на данном виде транспорта, при температуре от плюс 2÷8 °С в темноте.

Изделия, транспортированные/храняемые с нарушением температурного режима, применению не подлежат. Не транспортируйте/храните изделие после истечения срока годности.

Условия хранения описаны в основной части Инструкции по применению «Хранение».

9.2 Эксплуатация

- не использовать изделие после окончания срока годности;
- не использовать изделие, если упаковка повреждена;
- использовать реагенты и расходные материалы, рекомендованные компанией Agilent Technologies, Inc. («Аджилент Текнолоджис, Инк.»);
- неправильное обращение с образцами и изменение процедуры проведения анализа могут повлиять на результаты. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению;
- Изделие не подлежит ремонту и техническому обслуживанию.

10. Гарантии изготовителя

Изделие не подлежит гарантийному обслуживанию.

Производитель Agilent Technologies, Inc. («Аджилент Текнолоджис, Инк.») гарантирует, что его продукция будет иметь качество, пригодное для продажи, и будет соответствовать информации, содержащейся в данной инструкции, а также в соответствующих спецификациях Agilent Technologies, Inc. («Аджилент Текнолоджис, Инк.») и брошюрах по продуктам. Производитель не дает никаких гарантий относительно

пригодности продукции для применения покупателем, отличающегося от назначения изделия.

Пригодность для применения должна определяться покупателем или пользователем продукции. Ответственность за качество продукции ограничивается возмещением стоимости или заменой.

Эксплуатационные характеристики изделия гарантируются до истечения срока годности Набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx. Производитель гарантирует срок годности Набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx – до даты окончания срока годности, указанной на упаковке, при условии соблюдения условий хранения и транспортировки (2-8 °C). Дата окончания срока годности отпечатана на упаковке изделия.

Станция иммуногистохимического окрашивания "Автостейнер Линк 48" (Autostainer Link 48) не позволит использовать изделие с истекшим сроком годности.

Клиенты должны уведомить компанию Agilent Technologies, Inc. («Аджилент Текнолоджис, Инк.») и уполномоченного представителя в течение 30 рабочих дней с момента получения информации о каких-либо дефектах изделия (за исключением повреждений при транспортировке), чтобы запросить возврат средств или замену изделия.

Данная гарантия распространяется на все компоненты изделия.

Отдел рекламаций

В соответствии с нормами действующего законодательства Российской Федерации, регулирующего вопросы по защите прав потребителей, при выявлении брака и возникновении спорных вопросов обращайтесь в Отдел рекламаций уполномоченного представителя.

Уполномоченный представитель в РФ:

Акционерное общество «Эрба Рус» (АО «Эрба Рус»)

109029, Россия, г. Москва, ул. Нижегородская, д. 32, стр. 15, эт. 5, помещ. I, ком. 35А, 37, 38, 39

Тел.: +7 (495) 755-78-81, +7 (495) 755-78-92

e-mail: sale@erbamannheim.com

11. Неклинические характеристики. Аналитическая эффективность.

Диагностическая чувствительность и специфичность по данным испытаний в Российской Федерации.

11.1 Аналитическая эффективность

11.1.1 Аналитическая специфичность

Специфичность Набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx, а именно специфичность связывания первичного антитела моноканального мышинового к PD-L1, клон 22C3, определяли с использованием клеток с повышенным уровнем экспрессии PD-L1 и PD-L2. Клетки с повышенным уровнем экспрессии PD-L2 не окрашивались антителом моноканальным мышинным к PD-L1, клон 22C3. Эти результаты доказывают, что клон 22C3 антител против PD-L1 является специфичным в отношении белка PD-L1 человека.

Интерферирующие вещества: не применимо.

Ткани людей, инфицированных вирусом гепатита В и содержащие поверхностный антиген гепатита В (HBsAg), могут проявлять неспецифическое окрашивание пероксидазой хрена (6).

Ложноположительные результаты могут быть получены из-за неиммунологического связывания белков или продуктов реакции субстрата. Они также могут быть вызваны псевдопероксидазной активностью (эритроциты) и эндогенной пероксидазной активностью (цитохром C) (18).

11.1.2 Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность определена методом Вестерн блоттинга. Аналитическая чувствительность составляет 0,5 нг/мл белка PD-L1.

11.1.3 Воспроизводимость

Воспроизводимость результатов между лотами (кодами партии) Набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx (intra-run)

ИГХ окрашивание с использованием Набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx, должно 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 одного цикла окрашивания на одной станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48» (Autostainer Link 48).

Воспроизводимости результатов в пределах одного цикла и между циклами на станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48» (Autostainer Link 48) (inter-run):

ИГХ окрашивание с использованием Набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx, должно приводить к такому воспроизводимому окрашиванию, при котором одинаковый отрицательный или положительный клинический показатель экспрессии PD-L1 будет выявляться не менее чем на 90% стекол с одним образцом ткани, испытанным в рамках одного цикла на одной станции «Автостейнер Линк 48» в течение пяти непоследовательных дней по одному протоколу окрашивания.

Критерий приемлемости для фона:

Набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx должен обеспечивать фоновое окрашивание $\leq 1,0$.

11.1.3.1 Результаты испытания прецизионности в условиях повторяемости и прецизионности в условиях воспроизводимости в РФ

Прецизионность в условиях повторяемости

Прецизионность в условиях повторяемости была изучена на 10 образцах для каждого типа эпителиальной опухоли: НМРЛ, рак желудка, ТНРМЖ, рака шейки матки и уротелиальной карциномы. Для оценки прецизионности использовали критерии порогов отсечки из раздела 1.1 основного документа Инструкции по применению («Сопутствующие диагностические показания к применению»). Результаты показали, что значения TPS и CPS для каждого типа эпителиальной опухоли совпадают в 100% случаев.

Прецизионность в условиях воспроизводимости

Воспроизводимость результатов между лотами (кодами партии) Набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx

Ткани миндалин в качестве положительного контроля.

Оценка воспроизводимости ИГХ окрашивания эпителиальных опухолевых тканей

набором реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx, с использованием критериев порога отсечки из раздела 1.1 основного документа Инструкции по применению («Сопутствующие диагностические показания к применению»)), была проведена на 10 срезах для каждой ткани с использованием двух лотов (кодов партий) Набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx и двух Станций иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48» (Autostainer Link 48), производства Agilent Technologies Singapore (International) Pte. Ltd. («Аджилент Текнолоджис Сингапур (Интернэшнл) Пте. Лтд.»). Окрашивание выполнялось двумя операторами, интерпретация результатов иммуногистохимического окрашивания была проведена двумя квалифицированными специалистами. Общий процент воспроизводимости между лотами (кодами партии) изделия составил 100 %.

Межплатформенная воспроизводимость

Оценка межплатформенной воспроизводимости ИГХ окрашивания набором реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx с использованием двух Станций иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48» (Autostainer Link 48), производства Agilent Technologies Singapore (International) Pte. Ltd. («Аджилент Текнолоджис Сингапур (Интернэшнл) Пте. Лтд.») с использованием одного лота (кода партии) изделия была проведена на 10 уникальных образцах для каждой эпителиальной опухолевой ткани, с учетом критериев порогов отсечки, по одному протоколу одним оператором. Критерии порогов отсечки указаны в разделе 1.1 основного документа Инструкции по применению. Интерпретация результатов иммуногистохимического окрашивания была проведена двумя квалифицированными специалистами. Общий процент межплатформенной воспроизводимости составил 100 %.

11.2 Диагностическая чувствительность и специфичность по данным испытаний в Российской Федерации

Было проведено валидационное/инструментальное исследование с целью продемонстрировать соответствие набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx предполагаемому использованию в лабораторных условиях потребителя и продемонстрировать соответствие эксплуатационных качеств изделия запросам потребителя.

При помощи набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx было выполнено окрашивание каждой тканевой матрицы с образцами ткани НМРЛ, рака желудка, ТНРМЖ, рака шейки матки и уротелиальной карциномы, заданный объем выборки в совокупности составлял более 500 уникальных случаев. Ткани окрашивали набором реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx и «Реагентом Ventana PD-L1 (SP263) Assay для качественного обнаружения лиганда-1 белка программируемой смерти Programmed Death Ligand 1 (PD-L1) иммуногистохимическим анализом в *in vitro* диагностике к иммуностейнерам автоматическим серии Ventana BenchMark»; производитель (Roche Diagnostics GmbH, Рош Диагностика, ГмбХ, Германия; РЗН 2018/7620).

При статистическом анализе образцов НМРЛ, рака желудка, ТНРМЖ, рака шейки матки и уротелиальной карциномы использовали критерии порогов отсечки, указанные в разделе 1.1 Инструкции по применению.

Для определения согласованности результатов ИГХ окрашивания эпителиальных опухолевых тканей исследовали значения коэффициента каппа, используя пороги отсечки.

Результаты анализа согласованности исследований тестируемого изделия и референтного изделия- реагента VENTANA PD-L1 (SP263), производства Roche Diagnostics GmbH (Рош Диагностика ГмбХ, Германия); РЗН 2018/7620:

НМРЛ TPS<1% коэффициент каппа – 1,0 с доверительным интервалом (1,0 до 1,0) – практически идеальное согласие;

НМРЛ TPS≥1% коэффициент каппа – 0,968 с доверительным интервалом (0,905 до 1,0) –

практически идеальное согласие;

HMPЛ TPS $\geq$ 50% коэффициент каппа – 1,0 с доверительным интервалом (1,0 до 1,0) – практически идеальное согласие;

ТНPMЖ CPS<10 коэффициент каппа – 1,0 с доверительным интервалом (1,0 до 1,0) – практически идеальное согласие;

ТНPMЖ CPS $\geq$ 10 коэффициент каппа – 0,936 с доверительным интервалом (0,849 до 1,0) – практически идеальное согласие;

Рак желудка CPS<1 коэффициент каппа – 0,656 с доверительным интервалом (0,0312 до 1,0) – существенное согласие;

Рак желудка CPS $\geq$ 1 коэффициент каппа – 0,936 с доверительным интервалом (0,849 до 1,0) – практически идеальное согласие;

Рак шейки матки CPS<1 коэффициент каппа – 0,656 с доверительным интервалом (0,0312 до 1,0) – существенное согласие;

Рак шейки матки CPS $\geq$ 1 коэффициент каппа – 0,936 с доверительным интервалом (0,849 до 1,0) – практически идеальное согласие;

Уротелиальная карцинома CPS<10 коэффициент каппа – 0,656 с доверительным интервалом (0,0312 до 1,0) – существенное согласие;

Уротелиальная карцинома матки CPS $\geq$ 10 коэффициент каппа – 0,968 с доверительным интервалом (0,906 до 1,0) – идеальное согласие;

Диагностическая чувствительность и специфичность для тканей HMPЛ была оценена методом ROC-анализа:

Результаты ROC-анализа результатов тестируемого изделия и референтного реагента VENTANA PD-L1 (SP263), производства Roche Diagnostics GmbH (Рош Диагностикас ГмбХ, Германия); PЗН 2018/7620 продемонстрировали диагностическую чувствительность в 97,5 %, доверительный интервал (86,8 % до 99,9 %); диагностическую специфичность в 97,78 %, доверительный интервал (88,2 % до 99,9 %); площадь под ROC кривой – 0,976, доверительный интервал (0,917 – 0,997).

Диагностическая чувствительность и специфичность для тканей уротелиальной карциномы была оценена методом ROC-анализа:

Результаты ROC-анализа результатов тестируемого изделия и референтного реагента VENTANA PD-L1 (SP263), производства Roche Diagnostics GmbH (Рош Диагностикас ГмбХ, Германия); PЗН 2018/7620 продемонстрировали диагностическую чувствительность в 97,5 %, доверительный интервал (86,8 % до 99,9 %); диагностическую специфичность в 95,56 %, доверительный интервал (84,9 % до 99,5%); площадь под ROC кривой – 0,965, доверительный интервал (0,901-0,993).

12. Упаковка

Набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx упакован в белую коробку из ламинированного картона 35,0x10,0x23,0 $\pm$ 0,3 см с двумя вставками (штативами), позволяющими штабелирование компонентов набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Каждый компонент набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx упакован в индивидуальный флакон с завинчивающейся крышкой. Предметные стекла с контрольными клеточными линиями упакованы по 5 штук в пластиковые коробки (всего 3 коробки). На упаковку нанесен штрих-код, содержащий всю необходимую информацию о реагенте. Упаковка способна сохранять целостность продукта в течение срока годности, хранения и транспортировки продукта.

13. Маркировка

В соответствии с ДИРЕКТИВАМИ ЕС производитель использует следующие символы и знаки:

	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Код партии (номер лота)
	Номер по каталогу
	Изготовитель
	Уполномоченный представитель в Европейском сообществе
	Содержимого достаточно для проведения n тестов
	Предел температуры
	Использовать до ...
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Обратитесь к инструкции по применению
	Сигнальное слово «Осторожно»
	Опасность для окружающей среды
	Опасность для здоровья человека
	Биологический риск

13.1 Макет маркировки на русском языке

Набор реагентов для иммуногистохимического анализа по определению белка PD-L1 в тканях человека (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx), в составе:

1. Реагент блокирующий пероксидазу – 1 шт. (34,5 мл);
2. Антитело моноклональное мышинное к PD-L1, клон 22C3 – 1 шт. (19,5 мл);
3. Реагент отрицательного контроля – 1 шт. (15 мл);
4. Линкер, антимишиный – 1 шт. (34,5 мл);
5. Реагент для визуализации – пероксидаза хрена – 1 шт. (34,5 мл);
6. ДАБ+ забуференный субстрат – 15 шт. (7,2 мл);
7. ДАБ+ хромоген – 1 шт. (5 мл);
8. Усилитель ДАБ – 1 шт. (34,5 мл);
9. Раствор для демаскировки антигена с низким pH EnVision FLEX (50x) – 6 шт. (30 мл);
10. Предметные стекла с контрольными клеточными линиями – 15 шт.
11. Инструкция по применению



50 «только для профессионального применения»

Регистрационное удостоверение № РЗН 2022/17657 от 05 июля 2022г.

Срок годности см. на упаковке (срок годности- 9 мес. с даты производства;

после первого вскрытия компоненты изделия стабильны до окончания срока годности; дата окончания срока годности указана на этикетке).

Температура хранения см. на упаковке

Номер лота см. на упаковке.

Производитель: Agilent Technologies, Inc. («Аджилент Текнолоджис, Инк.»)

5301 Stevens Creek Blvd. Santa Clara, CA 95051, United States (США)

Место производства:

1. Agilent Technologies, Inc. («Аджилент Текнолоджис, Инк.»)

6392 Via Real Carpinteria, CA 93013, United States

(6392 Виа Риал Карпинтерия, Калифорния 93013, США)

2. Agilent Technologies, Inc. («Аджилент Текнолоджис, Инк.»)

1170 Mark Ave., Carpinteria, CA 93013, United States
(1170 Марк Авеню Карпинтерия, Калифорния 93013, США)

Осторожно, содержит азид натрия.

Содержит канцерогенные и мутагенные вещества. Содержит нонилфенол этоксилат – эндокринный разрушитель, воздействующий на окружающую среду.

Содержит вещества животного происхождения.

Изделие предназначено для диагностики in-vitro

Уполномоченный представитель производителя на территории

РФ: Акционерное общество «Эрба Рус» (АО «Эрба Рус»)

109029, Россия, г. Москва, ул. Нижегородская, д. 32, стр. 15, эт. 5, помещ. I, ком. 35А, 37, 38, 39

Тел.: +7 (495) 755-78-81, +7 (495) 755-78-92. E-mail: sale@erbamannheim.com

13.2 Маркировка картонной упаковки

Маркировка картонной упаковки содержит следующую информацию:

- логотип производителя
- состав изделия
- наименование изделия «PD-L1 IHC 22C3 PharmDx»;
- номер по каталогу;
- номер лота (код партии);
- символ «использовать до» XXXX-XX-XX
- символ «предел температуры» (температурный диапазон хранения (2-8°C));
- символ «медицинское изделие для диагностики in vitro»;
- штрих-код;
- символ «содержимого достаточно для N- тестов»
- символ «Обратитесь к инструкции по применению» (со ссылкой agent.com/library/eifu)
- тел. +44 161 492 7050
- символ «Опасность для здоровья человека»
- сигнальное слово «Осторожно»
- символ «Опасность для окружающей среды»
- наименование изготовителя (производителя)
- адрес изготовителя (производителя)
- надпись «Произведено в США»
- символ «Уполномоченный представитель в Европейском сообществе».

Наименование и адрес уполномоченного представителя в Европейском сообществе.

14. Сведения об охране окружающей среды

Изделие содержит азид натрия в неопасной для окружающей среды концентрации. Содержит нонилфенол этоксилат – эндокринный разрушитель, воздействующий на окружающую среду. 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.

15. Сведения о стерильности

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

16. Информация о порядке обработки медицинского изделия для его повторного использования

Изделие не подлежит повторному использованию. Изделие предназначено для однократного дробного применения по назначению.

17. Уполномоченный представитель в РФ

Для получения технической поддержки или обслуживания клиентов обращайтесь по следующим адресам:

Акционерное общество «Эрба Рус» (АО «Эрба Рус»)
109029, Россия, г. Москва, ул. Нижегородская, д. 32, стр. 15, эт. 5, помещ. I, ком. 35А, 37, 38, 39.
Тел.: +7 (495) 755-78-81, +7 (495) 755-78-92
e-mail: sale@erbamannheim.com

18. Информация о Производителе и месте производства:

Разработчик/ Производитель:

Agilent Technologies, Inc. («Аджилент Текнолоджис, Инк.»)
5301 Stevens Creek Blvd. Santa Clara, CA 95051, United States
(5301 Стивенс Крик Бульвар
Санта Клара, Калифорния 95051, США)
+44 161 492 7050
+1 805 566 6655
+1 805 566 6688
e-mail: customercare_russia@agilent.com

Место производства

1. Agilent Technologies, Inc. («Аджилент Текнолоджис, Инк.»)
6392 Via Real Carpinteria, CA 93013, United States
(6392 Виа Риал Карпинтерия, Калифорния 93013, США)
2. Agilent Technologies, Inc. («Аджилент Текнолоджис, Инк.»)
1170 Mark Ave., Carpinteria, CA 93013, United States
(1170 Марк Авеню Карпинтерия, Калифорния 93013, США)

Литература:

1. Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-L1 ligands: from discovery to clinical application. International Immunol 2007(19); 7:813.
2. Brown JA, Dorfman DM, Ma F-R, Sullivan EL, Munoz O, Wood CR, et al. Blockade of Programmed Death-1 Ligands on Dendritic Cells Enhances T Cell Activation and Cytokine Production. J Immunol 2003;170:1257.
3. Cooper WA, Tran T, Vilain RE, Madore J, Seliger CI, Kohonen-Corish M, et al. PD-L1 expression is a favorable prognostic factor in early stage non-small cell carcinoma. Lung Cancer 2015; 89:181.
4. Chen B, Chapuy B, Ouyang J et al. PD-L1 Expression Is Characteristic of a Subset of Aggressive B-cell Lymphomas and Virus-Associated Malignancies. Clin Cancer Res 2013; 19:3462-3473.
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Quality assurance for immunocytochemistry; approved guideline. Villanova, PA, 1999; 19(26): Order code MM4-A.
6. Omata M, Liew C-T, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B s surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Path 1980; 73:626.

Инструкция по применению

Набор реагентов для иммуногистохимического анализа по определению белка PD-L1 в тканях человека (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx)

Только по предписанию врача

Номер по каталогу SK006

50 исследований только с применением станции иммуногистохимического окрашивания "Автостейнер Линк 48" (Autostainer Link 48)

Содержание

1. Предусмотренное применение.....	20
2. Краткое описание и пояснение	21
2.1 НМРЛ	21
2.2 Рак желудка	21
2.3 Рак шейки матки	22
2.4 Уротелиальная карцинома	22
2.5 Трижды негативный рак молочной железы	22
3. Принцип процедуры	22
4. Предоставляемые материалы	23
5. Необходимые материалы, которые не входят в набор	23
6. Меры предосторожности	24
7. Хранение	27
8. Подготовка гистологического препарата.....	27
8.1 Залитые в парафин образцы	27
8.2 Рекомендации по хранению срезов	28
8.2.1 Рекомендации по хранению срезов НМРЛ	28
8.2.2 Рекомендации по хранению срезов аденокарциномы желудка или гастроэзофагеального перехода (ГЭП)	28
8.2.3 Рекомендации по хранению срезов рака шейки матки.....	28
8.2.4 Рекомендации по хранению срезов уротелиальной карциномы.....	28
8.2.5 Рекомендации по хранению срезов ТНРМЖ.....	28
9. Подготовка реагентов набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx	29
10. Процедура окрашивания с применением станции иммуногистохимического окрашивания "Автостейнер Линк 48"	30
11. Контроль качества.....	31
12. Верификация теста.....	32
13. Окрашивание и интерпретация баллов	32
13.1 НМРЛ — экспрессия PD-L1, определенная с помощью балла пропорции опухоли	32
13.2 Аденокарцинома желудка или гастроэзофагеального перехода (ГЭП); интерпретация CPS, рак шейки матки, уротелиальная карцинома, ТНРМЖ;	

экспрессия PD-L1, определенная с помощью комбинированного показателя позитивности	34
13.2.1 Аденокарцинома желудка или гастроэзофагеального перехода (ГЭП) — интерпретация CPS	34
13.2. Рак шейки матки: интерпретация CPS	36
13.2.3 Уротелиальная карцинома: интерпретация CPS	37
13.2.4 ТНРМЖ: интерпретация CPS	39
14. Оценка предметного стекла	40
15. Ограничения	44
15.1 Общие ограничения	44
15.2 Специфические для изделия ограничения	45
16. Оценка эффективности	45
16.1 Оценка доклинической эффективности: здоровые и неопластические ткани	46
16.2 Оценка доклинической эффективности: НМРЛ	49
16.3 Оценка клинической эффективности: НМРЛ	53
16.4 Оценка доклинической эффективности: аденокарцинома желудка или гастроэзофагеального перехода (ГЭП)	63
16.5 Оценка клинической эффективности: аденокарцинома желудка или гастроэзофагеального перехода (ГЭП)	65
16.6 Оценка доклинической эффективности: рак шейки матки, включая смешанный плоскоклеточный рак	67
16.7 Оценка клинической эффективности: рак шейки матки	71
16.8 Оценка доклинической эффективности: уротелиальная карцинома	72
16.9 Оценка клинической эффективности: уротелиальная карцинома	75
16.10 Оценка доклинической эффективности: ТНРМЖ	77
16.11 Оценка клинической эффективности: ТНРМЖ	80
17. Диагностика и устранение неисправностей	82
18. Список литературы	83

Набор реагентов для иммуногистохимического анализа по определению белка PD-L1 в тканях человека (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx)

№ по каталогу SK006

50 исследований только с применением станции иммуногистохимического окрашивания "Автостейнер Линк 48" (Autostainer Link 48)

1. Предусмотренное применение

Для диагностики in vitro.

Набор реагентов для иммуногистохимического анализа по определению белка PD-L1 в тканях человека (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx) с использованием антитела моноклонального мышинового к PD-L1 человека, клон 22C3, предназначен для качественного определения белка PD-L1 в зафиксированных в формалине и залитых в парафин (FFPE) клинических образцах ткани немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), рака желудка, трижды негативного рака молочной железы (ТНРМЖ)*, рака шейки матки и уротелиальной карциномы с использованием системы детекции "ЭнВижн ФЛЕКС" (EnVision FLEX) на станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48» (Autostainer Link 48).

*Трижды негативный рак молочной железы (ТНРМЖ)- подтип рака молочной железы, при котором не экспрессируется рецептор эстрогена (ER-), рецептор прогестерона (PR-) и человеческий эпидермальный фактор роста (HER2-).

1.1 Область применения

Клиническая лабораторная диагностика. Только для профессионального применения.

Экспрессию белка PD-L1 в НМРЛ определяют с помощью балльной доли опухоли (TPS) — процента жизнеспособных опухолевых клеток с частичным или полным окрашиванием мембраны любой интенсивности.

Экспрессию белка PD-L1 при раке желудка, раке шейки матки, уротелиальной карциноме и ТНРМЖ определяют с помощью комбинированного показателя позитивности (CPS) — количество окрашиваемых клеток PD-L1 (опухолевые клетки, лимфоциты, макрофаги), разделенное на общее число жизнеспособных опухолевых клеток, умноженное на 100.

Сопутствующие диагностические показания к применению

Тип опухоли	Уровень экспрессии PD-L1	Предусмотренное применение
НМРЛ	$TPS \geq 1 \%$	Набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx показан для применения в качестве вспомогательного средства с целью выявления пациентов с НМРЛ для лечения препаратом КИТРУДА (пембролизумаб)*.
Рак желудка	$CPS \geq 1$	Набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx показан для применения в качестве вспомогательного средства с целью выявления пациентов с раком желудка для лечения препаратом КИТРУДА (пембролизумаб).
Рак шейки матки	$CPS \geq 1$	Набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx показан для применения в качестве вспомогательного средства с целью выявления пациентов с раком шейки матки для лечения препаратом КИТРУДА (пембролизумаб).
Уротелиальная карцинома	$CPS \geq 10$	Набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx показан для применения в качестве вспомогательного средства с целью выявления

Тип опухоли	Уровень экспрессии PD-L1	Предусмотренное применение
		пациентов с уротелиальной карциномой для лечения препаратом КИТРУДА (пембролизумаб).
Трижды негативный рак молочной железы	CPS $\geq$ 10	Набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx показан для применения в качестве вспомогательного средства с целью выявления пациентов с ТНRMЖ для лечения препаратом КИТРУДА (пембролизумаб).

*См. листок-вкладыш по применению лекарственного препарата КИТРУДА (КИТРУДА®) с целью проведения терапии в конкретных клинических ситуациях на основании определения уровня экспрессии PD-L1.

2. Краткое описание и пояснение

Связывание лигандов PD-1, PD-L1 и PD-L2, с рецептором PD-1, находящимся на Т-клетках, ингибирует пролиферацию Т-клеток и выработку цитокинов. В некоторых опухолях имеет место стимулирующая регуляция лигандов PD-1, и передача сигналов через этот путь может способствовать ингибированию активного Т-клеточного иммунного надзора за опухолями. КИТРУДА (KEYTRUDA®) (КИТРУДА) представляет собой гуманизированное моноклональное антитело, которое связывается с рецептором PD-1 и блокирует его взаимодействие с PD-L1 и PD-L2, высвобождая опосредованное путем PD-1 ингибирование иммунного ответа, включая противоопухолевый иммунный ответ¹. В сингенных опухолевых моделях на мышах блокирование активности PD-1 привело к снижению роста опухоли².

2.1 НМРЛ

Компания «Мерк Шарп энд Дом» (Merck Sharp & Dohme) спонсировавшая клиническое исследование KEYNOTE-042 (KN042), изучила клиническую валидность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в идентификации экспрессии PD-L1 (TPS $\geq$ 1 %) у пациентов, ранее не получавших лечение стадии III НМРЛ, которые не являются кандидатами для хирургической резекции или радикальной химиолучевой терапии, или у пациентов с метастатическим НМРЛ, которые могут реагировать на лечение препаратом КИТРУДА³. Подробную информацию об исследовании KN042 см. в разделе «Оценка клинической эффективности (НМРЛ)».

Компания «Мерк Шарп энд Дом» (Merck Sharp & Dohme), спонсировавшая клиническое исследование KEYNOTE-024 (KN024), изучила клиническую валидность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в идентификации экспрессии PD-L1 (TPS $\geq$ 50 %) у пациентов, ранее не получавших лечение метастатического НМРЛ, которые могут реагировать на лечение препаратом КИТРУДА⁴. См. подробную информацию об исследовании KN024 см. в разделе «Оценка клинической эффективности (НМРЛ)».

Компания «Мерк Шарп энд Дом» (Merck Sharp & Dohme), спонсировавшая клиническое исследование KEYNOTE-010 (KN010), изучила клиническую валидность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в идентификации экспрессии PD-L1 (TPS $\geq$ 1 %) у пациентов, ранее получавших лечение метастатического НМРЛ, которые могут реагировать на лечение препаратом КИТРУДА⁵. Подробную информацию об исследовании KN010 см. в разделе «Оценка клинической эффективности (НМРЛ)».

2.2 Рак желудка

Компания «Мерк Шарп энд Дом» (Merck Sharp & Dohme), спонсировавшая клиническое исследование KEYNOTE-059 (KN059), изучила клиническую валидность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в идентификации экспрессии PD-L1 ($CPS \geq 1$) у пациентов с аденокарциномой желудка и гастроэзофагеального перехода (ГЭП), получивших не менее двух предварительных системных терапий прогрессирующего заболевания, которые могут реагировать на лечение препаратом КИТРУДА⁶. Подробную информацию об исследовании KN059 см. в разделе «Оценка клинической эффективности (аденокарцинома желудка или гастроэзофагеального перехода (ГЭП))».

2.3 Рак шейки матки

Компания «Мерк Шарп энд Дом» (Merck Sharp & Dohme), спонсировавшая клиническое исследование KEYNOTE-158 (KN158), изучила клиническую валидность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в идентификации экспрессии PD-L1 ($CPS \geq 1$) у пациентов с прогрессирующим раком шейки матки или после химиотерапии рецидивирующего или метастатического заболевания, которые могут реагировать на лечение препаратом КИТРУДА^{7,8}. Подробную информацию об исследовании KN158, когорта E, см. в разделе «Оценка клинической эффективности (рак шейки матки)».

2.4 Уротелиальная карцинома

Компания «Мерк Шарп энд Дом» (Merck Sharp & Dohme), спонсировавшая клиническое исследование KEYNOTE-052 (KN052), изучила клиническую валидность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в идентификации экспрессии PD-L1 ($CPS \geq 10$) у пациентов с неоперабельным / на поздних стадиях или метастатическим уротелиальным раком, не проходивших предварительную системную химиотерапию и не являющихся подходящими кандидатами для получения цисплатина, которые могут реагировать на лечение препаратом КИТРУДА⁹. Подробную информацию об исследовании KN052 см. в разделе «Оценка клинической эффективности (уротелиальная карцинома)».

2.5 Трижды негативный рак молочной железы

Компания «Мерк Шарп энд Дом» (Merck Sharp & Dohme), спонсировавшая клиническое исследование KEYNOTE-355 (KN355), изучила клиническую валидность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в идентификации экспрессии PD-L1 ($CPS \geq 10$) у пациентов, ранее не получавших лечение местно рецидивирующего неоперабельного или метастатического ТНРМЖ, которые могли бы отреагировать на лечение препаратом КИТРУДА в сочетании с химиотерапией¹⁰. Подробную информацию об исследовании KN355 см. в разделе «Оценка клинической эффективности (ТНРМЖ)».

3. Принцип процедуры

Набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx содержит оптимизированные реагенты и протокол, необходимый для выполнения процедуры иммуногистохимического (ИГХ) окрашивания фиксированных формалином и залитых в парафин (FFPE) образцов с использованием станции иммуногистохимического окрашивания "Автостейнер Линк 48" (Autostainer Link 48). После инкубации с антителом моноклональным мышинным к PD-L1, клон 22C3 (Monoclonal Mouse anti-PD-L1, Clone 22C3) или реагентом отрицательного контроля (Negative Control Reagent), кратко- ПОК, образцы инкубируют с кроличьим антителом против мышинных иммуноглобулинов (линкер, антимышиный (Linker, Anti-Mouse)), а затем инкубируют с готовым к использованию реагентом для визуализации -

пероксидаза хрена (Visualization Reagent-HRP), представляющим собой конъюгат козьих антитела против кроличьих и мышиных иммуноглобулинов с пероксидазой хрена, соединенных с основной цепью полимера декстрана. Ферментативное превращение добавленного впоследствии хромогена (ДАБ+ забуференный субстрат (DAB+ Substrate Buffer) и ДАБ+ хромоген (DAB+ Chromogen)) приводит к образованию осадка видимого продукта реакции. Цвет продукта хромогенной реакции изменяется с помощью реагента-усилителя ДАБ (DAB Enhancer). После данных процедур образец может быть докрашен и заклеен покровным стеклом. Результаты интерпретируют с помощью оптического микроскопа.

4. Предоставляемые материалы

Каждый набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx включает в себя 19,5 мл первичного антитела к PD-L1, клон 22C3 (концентрация белка около 3 мкг/мл) и содержит реагенты, необходимые для выполнения 50 анализов в 15 (максимум) отдельных циклах. Материалов, перечисленных ниже, достаточно для выполнения 50 анализов (50 предметных стекол, инкубированных с первичными антителами к PD-L1, и 50 предметных стекол, инкубированных с соответствующим реагентом для отрицательного контроля, всего 100 предметных стекол). Количество испытаний связано с тем, что на каждое стекло наносили 2 x 150 мкл реагента, кроме ДАБ+ и буфера для демаскировки. Для больших срезов ткани может потребоваться три зоны распределения (3 x 150 мкл) на предметное стекло. Следует отметить, что это позволит сократить общее число анализов на один набор.

В наборе реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx содержатся материалы, которых достаточно для выполнения не более 15 отдельных циклов окрашивания.

Детальное описание компонентов набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx представлено в «Руководстве для оператора» Таблица 1.

5. Необходимые материалы, которые не входят в набор реагентов

- Модуль предварительной подготовки для депарафинизации и восстановления антигена PT Link (№ по каталогу PT100/PT101/PT200); ФСЗ 2010/08443; производитель Agilent Technologies Singapore (International) Pte. Ltd. («Аджилент Текнолоджис Сингапур (Интернэшнл) Пте. Лтд.»);

- Станция иммуногистохимического окрашивания "Автостейнер Линк 48" (Autostainer Link 48) (№ по каталогу AS480); ФСЗ 2010/08443; производитель Agilent Technologies Singapore (International) Pte. Ltd. («Аджилент Текнолоджис Сингапур (Интернэшнл) Пте. Лтд.»);

- Буфер промывной ЭнВижн ФЛЕКС, концентрированный x20, для использования в использовании в Автоматической Платформе Линк, 1л; (EnVision FLEX Wash Buffer (20x), 1 L) (№ по каталогу K8007); ФСЗ 2010/08215; производитель Agilent Technologies Singapore (International) Pte. Ltd. («Аджилент Текнолоджис Сингапур (Интернэшнл) Пте. Лтд.»);

- Гематоксилин ЭнВижн ФЛЕКС, Готовый к применению, для использования в Автоматической Платформе Линк, 3 x 45 мл, 400-600 тестов; (EnVision FLEX Hematoxylin, ready-to-use, to be used in the Automatic Link Bench, 3 x 45 ml, 400–600 tests) (№ по каталогу K8008); ФСЗ 2010/08215; производитель Agilent Technologies Singapore (International) Pte. Ltd. («Аджилент Текнолоджис Сингапур (Интернэшнл) Пте. Лтд.»);

- Дистиллированная или деионизированная вода (химически чистая)*;

- Таймер;
- Положительные и отрицательные ткани для использования в качестве контролей процесса (см. раздел 11 «Контроль качества»);
- Положительные и отрицательные ткани для использования в качестве контроля процесса:
 - контрольные стекла PD-L1 «+» ткань миндалины*
 - контрольные стекла PD-L1 «-» ткань мышцы*
- Предметные стекла для микроскопа: предметные стекла для микроскопа FLEX ИНС «Дако» (Dako) (№ по каталогу K8020) или Предметные стекла с положительно заряженным покрытием Superfrost Plus; P3H 2015/3107; производитель New Erie Scientific LLC a subsidiary of EpreDia («Нью Эри Сайентифик ЛЛС, подразделение компании Эпредиа»);
- Покровные стекла, например, Дако Стекло покровное 24x50мм (Dako Coverslip 24 x 50 mm); P3H 2015/3107; производитель New Erie Scientific LLC a subsidiary of EpreDia («Нью Эри Сайентифик ЛЛС, подразделение компании Эпредиа»);
- Среда для заключения без толуола, 500 мл; (Dako Toluene-Free Mounting Medium, 500 mL); ФСЗ 2011/11187; производства Agilent Technologies Singapore (International) Pte. Ltd. («Аджилент Текнолоджис Сингапур (Интернэшнл) Пте. Лтд.»);
- Набор емкостей для реагентов для калибровки при монтаже 12 мл (упаковка 25 шт.), 1 упаковка; (User-Fillable Reagent Bottles, 25 bottles, 12 mL); ФСЗ 2010/08443; производства Agilent Technologies Singapore (International) Pte. Ltd. («Аджилент Текнолоджис Сингапур (Интернэшнл) Пте. Лтд.»);
- Лента клейкая для маркировки предметных стекол Seymour Label Kit for 3000 Labels; (Seymour Label Kit f 3000 Labels); ФСЗ 2007/00214; производства Agilent Technologies Singapore (International) Pte. Ltd. («Аджилент Текнолоджис Сингапур (Интернэшнл) Пте. Лтд.»);
- вспомогательные реагенты, необходимые для заклеивания покровными стеклами;
- Оптический микроскоп (увеличение объектива 4х–40х);
- Измеритель уровня pH (калиброванный согласно рекомендациям производителя).

*Примечание: не все источники дистиллированной или деионизированной воды могут обладать достаточным уровнем качества для подготовки реагентов для иммуногистохимии. «Аджилент Текнолоджис, Инк.» рекомендует использовать для подготовки реагентов химически чистую дистиллированную или деионизированную воду [соответствующую стандартам для клинической лабораторной химически чистой воды (CLRW), указанным Институтом клинических и лабораторных стандартов (CLSI)¹²] или аналогичную по качеству воду.

6. Меры предосторожности

1. Для диагностики In-vitro. Только для профессионального применения.
2. Для профессионального применения.
3. Данное изделие содержит азид натрия (NaN_3). Азид натрия в концентрации, присутствующей в изделии, не классифицируется как опасное вещество, однако NaN_3 способен вступать в реакции со свинцовыми и медными трубами, образуя взрывоопасные соединения азидов металлов. При утилизации требуется промыть большим количеством воды, чтобы предотвратить образование азидов в трубах¹³.
4. Компоненты изделия: раствор для демаскировки антигена с низким pH EnVision FLEX (50x) (Envision FLEX Target Retrieval Solution Low pH (50X))

и ДАБ+ забуференный субстрат (DAB+ Substrate Buffer) содержат нонилфенол этоксилат – эндокринный разрушитель, воздействующий на окружающую среду

5. Первичное антитело- Антитело моноклональное мышинное к PD-L1, клон 22C3 (Monoclonal Mouse anti-PD-L1, Clone 22C3), Реагент отрицательного контроля (Negative Control Reagent), Линкер, антимышиный (Linker, Anti-Mouse) и Реагент для визуализации - пероксидаза хрена (Visualization Reagent-HRP) содержат материалы животного происхождения.

6. С образцами (до и после фиксации) и всеми материалами, которые подвергаются воздействию образцов, следует обращаться как с материалом, способным передавать инфекцию, и утилизировать с соблюдением надлежащих мер предосторожности¹⁴.

7. Время инкубации, температуры или методы, отличные от рекомендованных, могут выдать неправильные результаты. Необходимо строго следовать настоящей инструкции по применению.

8. Концентрация реагентов оптимальна подобрана. Дальнейшее разбавление может привести к потере окраски антигена.

9. Чрезмерные уровни светового освещения могут оказать негативное воздействие на Реагент для визуализации - пероксидаза хрена (Visualization Reagent-HRP), жидкий ДАБ+ хромоген (DAB+ Chromogen) и подготовленный раствор ДАБ+ забуференный субстрат (DAB+ Substrate Buffer)- хромоген. Не следует хранить компоненты изделия или выполнять окрашивание при интенсивном освещении, например, под прямыми солнечными лучами.

10. Наличие остатков парафина может привести к ложноотрицательным результатам.

11. Использование объемов реагентов набора, отличных от рекомендованных, может привести к потере видимой иммунологической реактивности PD-L1.

12. Результаты небольшого исследования показали сходный динамический диапазон экспрессии PD-L1 у пар образцов первичного и метастатического НМРЛ. Вполне возможны различия в экспрессии PD-L1 в первичных опухолях по сравнению с метастазами у одного и того же пациента.

13. Для крупных срезов ткани может потребоваться 3 x 150 мкл реагента.

14. Как правило, лица, не достигшие 18-летнего возраста, не допускаются к работе с этим продуктом. Пользователи должны получить подробные инструкции по поводу надлежащих рабочих процедур, опасных свойств продукта, а также необходимые инструкции по технике безопасности. Дополнительную информацию см. в паспорте безопасности материала (SDS), предоставляется по требованию.

15. Необходимо носить надлежащие средства индивидуальной защиты, позволяющие избежать контакта с глазами и кожей.

16. Неиспользованные растворы подлежат утилизации в соответствии с местными, государственными и федеральными нормами.

17. Паспорта безопасности доступны на сайте www.agilent.com или могут быть предоставлены по запросу.

18. См. утвержденные показания к применению и пороговые значения экспрессии для препарата КИТРУДА (KEYTRUDA®) в местной инструкции лекарственного препарата для контроля лечения.



Danger (сигнальное слово «Опасно»)

ДАБ+ забуференный субстрат (DAB+ Substrate Buffer): содержит имидазол. Содержит нонилфенол этоксилат – эндокринный разрушитель, воздействующий на окружающую среду.

- H360 Может отрицательно повлиять на способность к деторождению или на неродившегося ребенка.
- P201 Ознакомиться с инструкциями по технике безопасности.
- P202 Перед использованием пройти инструктаж по работе с продукцией.
- P280 Использовать перчатки/спецодежду/средства защиты глаз/лица.
- P308 + P313 При подозрении на возможность воздействия обратиться за медицинской помощью.
- P405 Хранить в не доступном для посторонних месте.
- P501 Удалить упаковку/содержимое в соответствии с местными, региональными, национальными или международными законодательными актами.



Danger (сигнальное слово «Опасно»)

ДАБ+ хромоген (DAB+ Chromogen): содержит 3,3-диаминобензидина тетрагидрохлорид.

- H319 При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение.
- H350 Может вызывать раковые заболевания.
- H341 Предполагается, что данная химическая продукция вызывает генетические дефекты.
- P201 Получить особые инструкции перед использованием.
- P202 Перед началом использования внимательно ознакомиться со всеми мерами предосторожности.
- P280 Использовать перчатки/спецодежду/средства защиты глаз/лица.
- P264 После работы тщательно вымыть руки.
- P308 + P313 При воздействии или обеспокоенности: обратиться за медицинской помощью.
- P305 + P351 + P338 ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если Вы ими пользуетесь и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз.
- P337 + P313 Если раздражение глаз не проходит, обратиться за медицинской помощью.
- P405 Хранить в не доступном для посторонних месте.
- P501 Удалить упаковку/содержимое в соответствии с местными, региональными, национальными или международными законодательными актами.



Warning (сигнальное слово «Осторожно»)

Усилитель ДАБ (DAB Enhancer):

H400	Чрезвычайно токсично для водных организмов.
H411	Оказывает длительное токсическое воздействие на водные организмы.
P273	Избегать попадания в окружающую среду.
P391	Ликвидировать просыпания/проливы/утечки.
P501	Удалить упаковку/содержимое в соответствии с местными, региональными, национальными или международными законодательными актами.



Раствор для демаскировки антигена с низким pH EnVision FLEX («ЭнВижен Флекс») (50x) (Envision FLEX Target Retrieval Solution Low pH (50X)). Содержит нонилфенол этоксилат – эндокринный разрушитель, воздействующий на окружающую среду:

H319	При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение.
H411	Токсичен для водных организмов с долгосрочными последствиями.
P280	Использовать перчатки/спецодежду/средства защиты глаз/лица.
P273	Избегать попадания в окружающую среду.
P264	После работы с раствором тщательно вымыть руки.
P305 + P351 + P338	ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промывать водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если таковые имеются и их можно легко снять. Продолжать промывание.
P337 + P313	При сохранении раздражения глаз: обратиться за медицинской помощью.
P501	Удалить упаковку/содержимое в соответствии с местными, региональными, национальными или международными законодательными актами.

7. Хранение

Хранить все компоненты набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, включая предметные стекла с контрольными клеточными линиями, когда они не используются на станции иммуногистохимического окрашивания "Автостейнер Линк 48" (Autostainer Link 48), в темном месте при температуре 2–8 °С.

Не использовать изделие по истечении срока годности, указанного на внешней стороне коробки набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx.

Очевидные признаки, указывающие на нестабильность этого изделия, отсутствуют, поэтому, одновременно с анализом образцов пациентов должен выполняться анализ положительного и отрицательного контроля.

8. Подготовка гистологического препарата

Образцы тканей следует подготовить для ИГХ окрашивания, руководствуясь Приказом от 24.03.2016 № 179Н «О правилах проведения патолого-анатомических исследований» и иными релевантными нормативными документами.

Использование изделия на декальцифицированных тканях не валидировалось и не рекомендуется. Для всех образцов следует использовать стандартные методы обработки тканей.

8.1 Залитые в парафин образцы

Для использования пригодны зафиксированные в нейтральном забуференном формалине, залитые в парафин ткани (FFPE). Альтернативные фиксаторы не были валидированы и могут дать ошибочные результаты. Рекомендуемое время фиксации составляет 12–72 часа в 10 % нейтральном забуференном формалине (NBF), однако исследование с использованием ограниченного числа образцов показало, что время фиксации 4–168 часов в 10 % NBF систематически не изменило обнаружение PD-L1. Время фиксации ≤ 3 часов может привести к вариабельности обнаружения PD-L1. Образцы должны быть приготовлены в виде блоков толщиной 3 или 4 мм, зафиксированы в формалине, обезвожены и очищены в серии спиртов и ксилола с последующей инфильтрацией расплавленным парафином. Температура парафина не должна превышать 60 °C. В блоках ткани НМЛР, фиксированных в формалине и залитых парафином (FFPE), которые хранятся в течение 5 лет или более, может быть утрачена иммунореактивность PD-L1. Рекомендации по хранению срезов указаны в разделах 15.2 и 8.2.

Образцы ткани должны быть разрезаны на срезы толщиной 4–5 мкм. После изготовления срезов, ткани необходимо залить в среду на предметных стеклах для микроскопа FLEX INC («Флекс ИГХ») производства «Дако» (№ по каталогу K8020) или предметных стеклах положительно заряженным покрытием, например Superfrost Plus («Суперфрост Плюс») (производитель Gerhard Menzel B.V. & Co.KG ("Герхард Менцель Б. В. & Ко.КГ"), Германия) и поместить в термостат при температуре $58\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ на 1 час.

8.2 Рекомендации по хранению срезов

Чтобы сохранить антигенность, после заливки в среду срезов ткани на предметных стеклах их нужно хранить в темноте при температуре 2–8 °C (предпочтительно) или при комнатной температуре до 25 °C. Для обеспечения целостности и антигенности ткани условия хранения и обработки предметных стекол не должны превышать 25 °C в любой момент времени после заливки в среду на стеклах.

8.2.1 Рекомендации по хранению срезов НМРЛ

Срезы необходимо окрасить в течение 6 месяцев при хранении при температуре 2–8 °C (предпочтительно) или 25 °C.

8.2.2 Рекомендации по хранению срезов аденокарциномы желудка или гастроэзофагеального перехода (ГЭП).

Срезы необходимо окрасить в течение 5 месяцев при хранении при температуре 2–8 °C (предпочтительно) или 25 °C.

8.2.3 Рекомендации по хранению срезов рака шейки матки

Срезы необходимо окрасить в течение 2 месяцев при хранении при температуре 2–8 °C (предпочтительно) или в течение 1 месяца при хранении при температуре 25 °C.

8.2.4 Рекомендации по хранению срезов уротелиальной карциномы

Срезы необходимо окрасить в течение 5 месяцев при хранении при температуре 2–8 °C (предпочтительно) или в течение 2 месяцев при хранении при температуре 25 °C.

8.2.5 Рекомендации по хранению срезов ТНРМЖ

Срезы необходимо окрасить в течение 7,5 месяцев при хранении при температуре 2–8 °С (предпочтительно) или в течение 4 месяцев при хранении при температуре 25 °С.

9. Подготовка реагентов набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx

Перед ИГХ окрашиванием необходимо подготовить следующие реагенты:

Раствор для демаскировки антигена с низким pH ЭнВижи ФЛЕКС (50x) (Envision FLEX Target Retrieval Solution Low pH (50X))

Готовят достаточное количество 1x раствора для демаскировки антигена с низким pH путем разбавления раствора для демаскировки с низким pH (50x) в соотношении 1:50 дистиллированной или деионизированной водой; pH 1x раствора для демаскировки должен составлять $6,1 \pm 0,2$. Не следует менять pH 1x раствора для демаскировки антигена после приготовления ни при каких обстоятельствах. Если кажется, что с pH раствора для демаскировки антигена возникли проблемы, см. раздел «Диагностика и устранение неисправностей» для получения дополнительной информации. Один флакон объемом 30 мл раствора для демаскировки антигена с низким pH (50x), разбавленный в соотношении 1:50, позволит получить 1,5 л 1x реагента, достаточного для заполнения одного резервуара модуля предварительной подготовки для депарафинизации и восстановления антигена PT Link, в котором будет обрабатываться до 24 предметных стекол на одно использование. После трех использований 1x раствор для демаскировки антигена утилизируют и не используют его по прошествии 5 дней после разбавления. Обратите внимание, что раствор для демаскировки FLEX с низким pH (50x) красного цвета. Дополнительный раствор доступен под № по каталогу K8005.

Буфер промывной ЭнВижи ФЛЕКС, концентрированный x20, для использования в Автоматической Платформе Линк (EnVision FLEX Wash Buffer (20x))

Готовят достаточное количество промывного буфера путем разбавления промывного буфера (20x) в соотношении 1:20 дистиллированной или деионизированной водой для этапов промывания. Неиспользованный 1x раствор хранят при температуре 2–8 °С в течение не более 1 месяца. Если буфер мутный, его утилизируют. Дополнительную информацию см. в Руководствах пользователя к станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48». Дополнительно доступен под № каталогу K8007.

Раствор ДАБ + субстрат-хромоген: ДАБ+ хромоген (DAB+ Chromogen)+ ДАБ+ забуференный субстрат (DAB+ Substrate Buffer)

Этот раствор тщательно перемешивают перед использованием. Осадок, образовавшийся в растворе, не влияет на качество окрашивания.

Для подготовки раствора ДАБ + субстрат-хромоген используют одну каплю жидкого ДАБ+ хромоген (DAB+ Chromogen) на миллилитр ДАБ+ забуференный субстрат (DAB+ Substrate Buffer) и смешивают*. Подготовленный раствор ДАБ+ субстрат-хромоген стабилен в течение 5 дней при хранении в темноте при температуре 2–8 °С.

***Важные примечания:**

- при использовании целого флакона ДАБ+ забуференный субстрат (DAB+ Substrate Buffer) добавляют 9 капель ДАБ+ хромоген (DAB+ Chromogen). Несмотря на

то, что на упаковке указан объем 7,2 мл, это является полезным объемом — «мертвый объем» (1,8 мл) во флаконе не учитывается;

- цвет жидкого хромогена во флаконе может варьироваться от прозрачного до сиренево-коричневого. Это не повлияет на характеристики данного продукта. Разводят согласно описанным выше указаниям. Добавление избытка жидкого ДАБ+ хромогена в субстратный буфер ДАБ+ приведет к ослаблению положительного сигнала.

10. Процедура окрашивания с применением Станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48» (Autostainer Link 48)

Примечания к проведению процедуры

Пользователь должен внимательно прочесть эту инструкцию и ознакомиться со всеми компонентами и инструментами перед использованием (см. раздел 6 «Меры предосторожности»).

Перед ИГХ окрашиванием температура всех реагентов должна быть доведена до комнатной температуры (20–25 °C). Точно также все этапы инкубации следует выполнять при комнатной температуре.

Не допускать высыхания срезов ткани во время процедуры окрашивания. Высохшие срезы ткани могут демонстрировать повышенное неспецифическое окрашивание.

Все необходимые этапы и время инкубации для окрашивания предварительно запрограммированы в программном обеспечении Dako Link («Дако Линк»), версия A8 и выше. Дополнительную информацию о протоколах программирования и загрузке предметных стекол и реагентов см. в Руководствах пользователя к станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48» и модулю предварительной подготовки для депарафинизации и восстановления антигена PT Link.

Примечание: реагенты и инструкции, предоставляемые с этим изделием, были разработаны для обеспечения оптимальной производительности при применении с рекомендованными реагентами и материалами. Дальнейшее разбавление реагентов или изменение времени инкубации или температуры может привести к ошибочным или противоречивым результатам.

Протокол окрашивания

Необходимо выбрать протокол окрашивания PD-L1 IHC 22C3 pharmDx из опций выпадающего меню Dako Link («Дако Линк»).

Все необходимые этапы и время инкубации для окрашивания предварительно запрограммированы в программном обеспечении станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48» (далее по тексту- «Автостейнер»). Если на вашем сервере нет соответствующих протоколов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx необходимо обратиться к местному представителю технической службы, чтобы получить протоколы.

Этап 1: процедура депарафинизации, регидратации и демаскировки (3 в 1)

Подробная информация приведена в руководстве пользователя модуля предварительной подготовки для депарафинизации и восстановления антигена PT Link (далее по тексту- PT Link)

На PT Link (№ по каталогу PT100/PT101/PT200) устанавливают «Предварительный нагрев и охлаждение до 65 °С». Устанавливают «Нагрев до 97 °С в течение 20 минут».

- ▶ В емкости PT Link заливают по 1,5 л/емкость раствора для демаскировки антигена с низким pH (1х рабочего раствора) для покрытия срезов ткани.
- ▶ Предварительно нагревают раствор для демаскировки до 65 °С.
- ▶ Погружают стойки станции «Автостейнер», содержащие фиксированные в формалине и залитые в парафин срезы тканей, в предварительно нагретый раствор для демаскировки антигена с низким pH (1х рабочий раствор) в емкость модуля предварительной обработки PT Link. Инкубируют в течение 20 минут при температуре 97 °С.
- ▶ После завершения инкубации в растворе для демаскировки антигена и снижения температуры до 65 °С вынимают каждую стойку станции «Автостейнер», с предметными стеклами из резервуара модуля предварительной обработки PT Link и сразу же помещают их в емкость (например, станции для промывания PT Link, № по каталогу PT109), содержащую разведенный (1х) промывной буфер комнатной температуры (№ по каталогу K8007).
- ▶ Предметные стекла инкубируют в разведенном промывочном буфере комнатной температуры в течение 5 минут.

Этап 2: процедура окрашивания

После процедуры депарафинизации, регидратации и демаскировки (3 в 1) стойки станции «Автостейнер» с предметными стеклами помещают на станцию иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48». Прибор будет выполнять процесс окрашивания, применяя соответствующий реагент, контролируя время инкубации и промывая предметные стекла между реагентами. Времена реагентов предварительно запрограммированы в программном обеспечении Dako Link («Дако Линк») (версия A8 и выше).

Этап 3: докрасивание

Предметные стекла необходимо докрасить гематоксилином ЭнВижн ФЛЕКС, готовым к применению, для использования в Автоматической Платформе Линк (№ по каталогу K8008) в течение 5 минут. Время инкубации с гематоксилином предварительно запрограммировано в протоколе.

Этап 4: заливка в среду

Необходимо использовать безводные среды для постоянной заливки.

Примечание: может происходить некоторое выцветание окрашенных предметных стекол, зависящее от нескольких факторов, включая, помимо прочего, докрасивание, материалы и методы заливки, а также условия хранения предметных стекол. Для минимизации выцветания предметные стекла следует хранить в темном месте при комнатной температуре (20–25 °С).

11. Контроль качества

Контроль ИГХ окрашивания с использованием набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx осуществляется с помощью иммуногистохимического метода с использованием процедур демаскировки и окрашивания, описанных выше. Отклонения от рекомендуемых

процедур фиксации тканей, обработки и заливки в лаборатории пользователя могут привести к значительной вариабельности результатов. В каждый цикл окрашивания должны включаться контрольные образцы. Эти контрольные образцы приведены в **таблице 10** и включают: поставляемый лабораторией образец ткани пациента, окрашенный гематоксином и эозином (ГиЭ); поставляемые в наборе реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx предметные стекла с контрольными микроскопическими препаратами клеточных линии (предметные стекла с контрольными клеточными линиями (Control Slides)); положительные и отрицательные контрольные ткани, полученные из лаборатории, охарактеризованные группой экспертов- патоморфологов¹⁵. См. руководящие принципы Программы сертификации специалистов в иммуногистохимии Коллегии американских патоморфологов (CAP)¹⁶; см. также Одобренное руководство по обеспечению качества для иммуноцитохимии Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI)¹⁷ для получения дополнительной информации.

12. Верификация теста

Перед началом использования изделия для окрашивания в диагностической процедуре пользователь должен проверить рабочие характеристики набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx путем его тестирования на поставляемой лабораторией серии тканей с известными ИГХ характеристиками, представляющих собой известные положительные и отрицательные ткани. См. процедуры контроля качества, описанные выше в разделе по контролю качества. Эти процедуры контроля качества должны повторяться для каждого нового лота изделия или при каждом изменении параметров теста. Варианты диагностики и устранения возможных проблем, их причины и предлагаемые корректирующие меры изложены в **таблице 36**.

13. Окрашивание и интерпретация баллов

Принятие решений медицинского характера только после консультации с врачом.

13.1 НМРЛ — экспрессия PD-L1, определенная с помощью балльной доли опухоли

Следует оценить и включить в оценку экспрессии PD-L1 все жизнеспособные опухолевые клетки на всем срезе ткани. Чтобы образец считался подходящим для оценки PD-L1, на PD-L1 окрашенном предметном стекле должно присутствовать минимум 100 жизнеспособных опухолевых клеток.

Оценка предметного стекла должна выполняться квалифицированным специалистом, например, патоморфологом с помощью оптического микроскопа. Для оценки иммуногистохимического окрашивания и оценки целесообразно использовать объектив с 10–40-кратным увеличением. В балльную оценку должно быть включено любое видимое окрашивание мембраны опухолевых клеток.

Экспрессию белка PD-L1 в НМРЛ определяют с помощью балльной доли опухоли (TPS), который представляет собой процент жизнеспособных опухолевых клеток с частичным или полным окрашиванием мембраны любой интенсивности.

$$TPS (\%) = \frac{\text{кол-во окрашиваемых клеток PD-L1 (опухолевые клетки)}}{\text{общее кол-во жизнеспособных опухолевых клеток}} \times 100$$

Оценивают в баллах ($\geq 1+$) частичное или полное окрашивание клеточной мембраны, которое отличается от окрашивания цитоплазмы. Окрашивание цитоплазмы должно считаться неспецифическим окрашиванием и исключается при оценке интенсивности окрашивания. Здоровые клетки и ассоциированные с опухолью иммунные клетки, такие как инфильтрирующие лимфоциты или макрофаги, *не должны* включаться в балльную оценку для определения уровня экспрессии PD-L1.

В таблице 1 приведены подробные сведения об элементах ткани, которые включаются/исключаются для определения TPS.

Таблица 1. Критерии включения/исключения TPS для HMPJ

Элементы ткани	Включено в оценку TPS для HMPJ	Исключено из оценки TPS для HMPJ
Опухолевые клетки	Убедительное частичное или полное окрашивание клеточной мембраны (любой интенсивности) жизнеспособных опухолевых клеток	Исключить любое цитоплазматическое окрашивание
Иммунные клетки	Не входит в оценку	Исключить любое окрашивание иммунных клеток, таких как: • мононуклеарные воспалительные клетки (большие лимфоциты, моноциты, легочные макрофаги); • плазмциты; • нейтрофилы.
Прочее	Не входит в оценку	Исключить любое окрашивание: • нормальных клеток, близких к опухолевым клеткам; • стромальные клетки (фибробласты); • некротические клетки и (или) клеточный дебрис; • антракотический пигмент.

Для каждого цикла окрашивания предметные стекла должны рассматриваться в порядке, представленном в таблице 10 (раздел 14 «Инструкции по применению»), чтобы определить валидность цикла окрашивания и дать оценку окрашиванию ткани образца. При оценке экспрессии PD-L1 исследуются образцы пациентов, окрашенные PD-L1 и реагентом отрицательного контроля (ПОК) из набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Образцы, окрашенные ПОК, должны иметь специфическое окрашивание 0 и неспецифическое окрашивание $\leq 1+$.

Следует считать, что образец имеет экспрессию PD-L1, если $TPS \geq 1\%$ жизнеспособных опухолевых клеток демонстрирует мембранное окрашивание любой интенсивности. Следует считать, что образец имеет высокий уровень экспрессии PD-L1, если $TPS \geq 50\%$ жизнеспособных опухолевых клеток демонстрирует мембранное окрашивание любой интенсивности.

Балл пропорции опухоли			
Уровни экспрессии PD-L1	$TPS < 1\%$	$TPS \geq 1\%$	$TPS \geq 50\%$
Статус экспрессии PD-L1	Отсутствие экспрессии PD-L1	Экспрессия PD-L1	Высокий уровень экспрессии PD-L1

См. дополнительные указания в Руководстве по интерпретации анализа PD-L1 IHC 22C3 pharmDx HMPJ.

13.2 Аденокарцинома желудка и гастроэзофагеального перехода (ГЭП); интерпретация CPS, рак шейки матки, уротелиальная карцинома, ТНРМЖ; экспрессия PD-L1, определенная с помощью комбинированного показателя позитивности

Следует оценить и включить в оценку экспрессии PD-L1 все жизнеспособные опухолевые клетки на всем срезе ткани, лимфоциты и макрофаги.

Экспрессия PD-L1 определяется с помощью комбинированного показателя позитивности (CPS) — количество окрашиваемых клеток PD-L1 (опухолевые клетки, лимфоциты, макрофаги), разделенное на общее число жизнеспособных опухолевых клеток, умноженное на 100. Различие жизнеспособных опухолевых клеток, лимфоцитов и макрофагов является необходимым для точной оценки знаменателя. Хотя результат расчетов может превышать 100 баллов, максимальный балл определяется как CPS 100. CPS определяется следующим образом:

$$\text{CPS} = \frac{\text{кол-во окрашиваемых клеток PD-L1 (опухолевые клетки, лимфоциты, макрофаги)}}{\text{общее кол-во жизнеспособных опухолевых клеток}} \times 100$$

Оценка предметного стекла должна выполняться квалифицированным специалистом, например патоморфологом, с помощью оптического микроскопа. Для оценки иммуногистохимического окрашивания целесообразно использовать объектив с 10–20-кратным увеличением. Для определения экспрессии PD-L1 требуется объектив с 20-кратным увеличением.

По определению, окрашиваемыми клетками PD-L1 являются:

- опухолевые клетки с убедительным частичным или полным линейным окрашиванием мембраны (любой интенсивности), которое отличается от цитоплазматического окрашивания и
- лимфоциты и макрофаги (мононуклеарные воспалительные клетки, МВК) в опухолевых гнездах и (или) прилегающей опорной строме с убедительным мембранным и (или) цитоплазматическим окрашиванием (любой интенсивности). Мононуклеарные воспалительные клетки (МВК) непосредственно связаны с реакцией на опухоль.

Для каждого цикла окрашивания предметные стекла должны рассматриваться в порядке, представленном в таблице 10 (раздел 14 «Инструкции по применению»), чтобы определить валидность цикла окрашивания и дать оценку окрашиванию ткани образца. При оценке экспрессии PD-L1 исследуются образцы пациентов, окрашенные PD-L1 и РОК из набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Образцы, окрашенные РОК должны иметь специфическое окрашивание 0 и неспецифическое окрашивание $\leq 1+$.

Информацию по типам опухоли см. в разделах 13.2.1–13.2.4.

13.2.1 Аденокарцинома желудка или гастроэзофагеального перехода (ГЭП) — интерпретация CPS

Чтобы образец считался подходящим для оценки на PD-L1 окрашенном предметном стекле (биопсия и резекция) должно присутствовать минимум 100 жизнеспособных

опухолевых клеток. Если образцы пациента на предметном стекле включают ткани, взятые более чем при одной биопсии (то есть 3–5 эндоскопических биопсий), все ткани на предметном стекле следует оценивать для получения одной CPS с целью определения уровня экспрессии PD-L1. Не следует регистрировать каждую биопсию отдельно.

В таблицах 2 и 3 содержатся подробные сведения о том, какие тканевые элементы включены и исключены из числителя и знаменателя CPS, соответственно, при аденокарциноме желудка или гастроэзофагеального перехода (ГЭП).

Таблица 2. Критерии включения/исключения числителя CPS для аденокарциномы желудка или гастроэзофагеального перехода (ГЭП)

Элементы ткани	Включено в числитель	Исключено из числителя
Опухолевые клетки	Убедительное частичное или полное линейное окрашивание мембраны (любой интенсивности) жизнеспособных инвазивных опухолевых клеток аденокарциномы желудка или гастроэзофагеального перехода (ГЭП).	- Не окрашиваемые опухолевые клетки - Опухолевые клетки только с цитоплазматическим окрашиванием - Аденома, дисплазия и карцинома in situ
Иммунные клетки	- Мембранное и (или) цитоплазматическое окрашивание (любой интенсивности) мононуклеарных воспалительных клеток (МВК) в опухолевых гнездах и прилегающей опорной строме^{**}: - лимфоциты (включая скопления лимфоцитов); - макрофаги^{***}. - Оцениваются только мононуклеарные воспалительные клетки (МВК), непосредственно связанные с реакцией на опухоль.	- Неокрашиваемые мононуклеарные воспалительные клетки (МВК) - Мононуклеарные воспалительные клетки (МВК), связанные с аденомой, дисплазией или карциномой in situ - Мононуклеарные воспалительные клетки (МВК) (включая агрегации лимфоцитов), связанные с язвами, хроническими гастритами и другие процессы, не связанные с опухолью - Мононуклеарные воспалительные клетки (МВК), связанные с нормальными структурами - Нейтрофилы, эозинофилы и плазмоциты
Другие клетки	Не входит в набор	- Нормальные клетки (включая ганглионарные клетки) - Стромальные клетки (включая фибробласты) - Некротические клетки и (или) клеточный дебрис

^{*}В мононуклеарных воспалительных клетках (МВК) мембранное и цитоплазматическое окрашивание часто являются неразличимыми из-за высокого соотношения ядро/цитоплазма. Таким образом, мембранное и (или) цитоплазматическое окрашивание МВК включается в числитель CPS.

^{**}Смежные мононуклеарные воспалительные клетки (МВК) определяются как находящиеся в пределах идентичного 20-кратного поля, что и опухоль. Однако следует исключить мононуклеарные воспалительные клетки (МВК), которые непосредственно НЕ связаны с реакцией на опухоль.

^{***}Макрофаги и гистиоциты считаются идентичными клетками.

Таблица 3. Критерии включения/исключения знаменателя CPS для аденокарциномы желудка и гастроэзофагеального перехода (ГЭП)

Элементы ткани	Включаются в знаменатель	Исключаются из знаменателя
Опухолевые клетки	Все жизнеспособные инвазивные опухолевые клетки (окрашенные или не окрашенные PD-L1)	Аденома, дисплазия и карцинома in situ
Иммунные клетки	Не входит в набор	- Мононуклеарные воспалительные клетки (лимфоциты и макрофаги; MBK) - Нейтрофилы, эозинофилы и плазмциты
Другие клетки	Не входит в набор	- Нормальные клетки (включая ганглионарные клетки) - Стромальные клетки (включая фибробласты) - Некротические клетки и (или) клеточный дебрис

Следует считать, что образец имеет экспрессию PD-L1, если $CPS \geq 1$.

Комбинированный показатель позитивности		
Уровень экспрессии PD-L1	$CPS < 1$	$CPS \geq 1$
Статус экспрессии PD-L1	Отсутствие экспрессии PD-L1	Экспрессия PD-L1

См. дополнительные указания в Руководстве по интерпретации анализа PD-L1 IHC 22C3 pharmDx аденокарцинома желудка или ГЭП.

13.2.2 Рак шейки матки: интерпретация CPS

Чтобы образец считался подходящим для оценки на PD-L1 окрашенном предметном стекле должно присутствовать минимум 100 жизнеспособных опухолевых клеток.

В таблицах 4 и 5 содержатся подробные сведения о том, какие тканевые элементы включены и исключены из числителя и знаменателя CPS, соответственно, при раке шейки матки.

Таблица 4. Критерии включения/исключения числителя CPS для рака шейки матки

Элементы ткани	Включено в числитель	Исключено из числителя
Опухолевые клетки	Убедительное частичное или полное линейное окрашивание мембраны (любой интенсивности) жизнеспособных опухолевых клеток инвазивного рака шейки матки	- Не окрашиваемые опухолевые клетки - Опухолевые клетки только с цитоплазматическим окрашиванием
Иммунные клетки	- Мембранное и (или) цитоплазматическое* окрашивание (любой интенсивности) мононуклеарных воспалительных клеток (MBK) в опухолевых гнездах и прилегающей опорной строме**: ○ лимфоциты (включая скопления лимфоцитов); ○ макрофаги***. - Оцениваются только мононуклеарные воспалительные клетки	- Неокрашиваемые мононуклеарные воспалительные клетки (MBK) - Мононуклеарные воспалительные клетки (MBK), связанные с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (CIN I-III) - Мононуклеарные воспалительные клетки (MBK), связанные с доброкачественными клетками, включая плоскую и железистую слизистую оболочку, полипы шейки матки и микроглангулярную гиперплазию - Мононуклеарные воспалительные клетки (MBK) (включая агрегации лимфоцитов),

Элементы ткани	Включено в числитель	Исключено из числителя
	(МВК), непосредственно связанные с реакцией на опухоль.	связанные с язвами и другие процессы, не связанные с опухолью, такие как цервицит
Другие клетки	• Не входит в набор	• Нейтрофилы, эозинофилы и плазмциты • Цервикальная интраэпителиальная неоплазия I-III • Доброкачественные клетки, включая плоскую и железистую слизистую оболочку, полипы шейки матки и микроглангулярную гиперплазию • Стромальные клетки (включая фибробласты) • Некротические клетки и (или) клеточный дебрис

**В мононуклеарных воспалительных клетках (МВК) мембранное и цитоплазматическое окрашивание часто являются неразличимыми из-за высокого соотношения ядро/цитоплазма. Таким образом, мембранное и (или) цитоплазматическое окрашивание МВК включается в числитель CPS.*

***Смежные мононуклеарные воспалительные клетки (МВК) определяются как находящиеся в пределах идентичного 20-кратного поля, что и опухоль. Однако следует исключить мононуклеарные воспалительные клетки (МВК), которые непосредственно НЕ связаны с реакцией на опухоль.*

****Макрофаги и гистиоциты считаются идентичными клетками.*

Таблица 5. Критерии включения/исключения знаменателя CPS для рака шейки матки

Элементы ткани	Включаются в знаменатель	Исключаются из знаменателя
Опухолевые клетки	• Все видимые инвазивные опухолевые клетки	• Любые омертвевшие или нежизнеспособные опухолевые клетки
Иммунные клетки	• Не входит в набор	• Иммуноциты любого типа
Другие клетки	• Не входит в набор	• Цервикальная интраэпителиальная неоплазия I-III • Доброкачественные клетки, включая плоскую и железистую слизистую оболочку, полипы шейки матки и микроглангулярную гиперплазию • Стромальные клетки (включая фибробласты) • Некротические клетки и (или) клеточный дебрис

Для рака шейки матки, ткань НМРЛ с соответствующим алгоритмом оценки TPS может использоваться в качестве положительной и (или) отрицательной контрольной ткани, если отсутствует для контроля окрашивания ткань шейки матки.

Следует считать, что образец имеет экспрессию PD-L1, если CPS $\geq$ 1.

Комбинированный показатель позитивности		
Уровень экспрессии PD-L1	CPS < 1	CPS $\geq$ 1
Статус экспрессии PD-L1	Отсутствие экспрессии PD-L1	Экспрессия PD-L1

См. дополнительные указания в Руководстве по интерпретации анализа PD-L1 IHC 22C3 pharmDx рака шейки матки.

13.2.3 Уротелиальная карцинома: интерпретация CPS

Чтобы образец считался подходящим для оценки PD-L1, на PD-L1 окрашенном предметном стекле должно присутствовать минимум 100 жизнеспособных опухолевых клеток.

В таблицах 6 и 7 содержатся подробные сведения о том, какие тканевые элементы включены и исключены из числителя и знаменателя CPS соответственно при уротелиальной карциноме.

Таблица 6. Критерии включения/исключения числителя CPS для уротелиальной карциномы

Элементы ткани	Включено в числитель	Исключено из числителя
Опухолевые клетки	- Убедительное частичное или полное линейное окрашивание мембраны (любой интенсивности) жизнеспособных опухолевых клеток уротелиальной карциномы, включая: - папиллярную карциному высокой степени злокачественности; - карциному in situ (CIS); - любую собственную пластинку, мускулатуру или серозную инвазию; - метастатическую карциному.	- Не окрашиваемые опухолевые клетки - Опухолевые клетки только с цитоплазматическим окрашиванием - Папиллярная карцинома низкой степени злокачественности[†]
Иммунные клетки	- Мембранное и (или) цитоплазматическое* окрашивание (любой интенсивности) мононуклеарных воспалительных клеток (МВК) в опухолевых гнездах и прилегающей опорной строме:** - лимфоциты (включая скопления лимфоцитов); - макрофаги***. - Оцениваются только мононуклеарные воспалительные клетки (МВК), непосредственно связанные с реакцией на опухоль.	- Неокрашиваемые мононуклеарные воспалительные клетки (МВК) - Мононуклеарные воспалительные клетки (МВК) (включая агрегации лимфоцитов), связанные с язвами, хроническим циститом и другие процессы, не связанные с опухолью - Мононуклеарные воспалительные клетки (МВК), связанные с нормальными структурами - Нейтрофилы, эозинофилы и плазмocyты - БКГ^{††} — индуцированные гранулемы
Другие клетки	Не входит в набор	- Нормальные клетки - Стромальные клетки (включая фибробласты) - Некротические клетки и (или) клеточный дебрис

**В мононуклеарных воспалительных клетках (МВК) мембранное и цитоплазматическое окрашивание часто являются неразличимыми из-за высокого соотношения ядро/цитоплазма. Таким образом, мембранное и (или) цитоплазматическое окрашивание МВК включается в оценку.*

***Смежные мононуклеарные воспалительные клетки (МВК) определяются как находящиеся в пределах идентичного 20-кратного поля, что и опухоль. Однако следует исключить мононуклеарные воспалительные клетки (МВК), которые непосредственно НЕ связаны с реакцией на опухоль.*

****Макрофаги и гистиоциты считаются идентичными клетками.*

†Если опухоль состоит исключительно из папиллярной карциномы низкой степени злокачественности, то результат должен быть отмечен как таковой.

††Бациллы Кальметта-Герена.

Таблица 7. Критерии включения/исключения знаменателя CPS для уротелиальной карциномы

Элементы ткани	Включаются в знаменатель	Исключаются из знаменателя
Опухолевые клетки	• Все жизнеспособные опухолевые клетки, включая: ○ папиллярную карциному высокой степени злокачественности; ○ карциному in situ (CIS); ○ любую собственную пластинку, мускулатуру или серозную инвазию; ○ метастатическую карциному.	• Любые омертвевшие или нежизнеспособные опухолевые клетки • Папиллярную карциному низкой степени злокачественности^{††}
Иммунные клетки	• Не входит в набор	• Иммуноциты любого типа
Другие клетки	• Не входит в набор	• Нормальные клетки • Стромальные клетки (включая фибробласты) • Некротические клетки и (или) клеточный дебрис

^{††}Если опухоль состоит исключительно из папиллярной карциномы низкой степени злокачественности, то результат должен быть отмечен как таковой.

Следует считать, что образец имеет экспрессию PD-L1, если CPS ≥ 10 .

См. дополнительные указания в Руководстве по интерпретации анализа PD-L1 IHC 22C3 pharmDx уротелиальной карциномы.

13.2.4 ТНPMЖ: интерпретация CPS

Чтобы образец считался подходящим для оценки PD-L1, на PD-L1 окрашенном предметном стекле должно присутствовать минимум 100 жизнеспособных опухолевых клеток.

В таблицах 8 и 9 содержатся подробные сведения о том, какие тканевые элементы включены и исключены из числителя и знаменателя CPS, соответственно, при ТНPMЖ.

Таблица 8. Критерии включения/исключения числителя CPS для ТНPMЖ

Элементы ткани	Включено в числитель	Исключено из числителя
Опухолевые клетки	• Убедительное частичное или полное линейное окрашивание мембраны (любой интенсивности) жизнеспособных инвазивных опухолевых клеток	• Не окрашиваемые опухолевые клетки • Опухолевые клетки только с цитоплазматическим окрашиванием • Карцинома in situ (ПКИС и ЛКИС)
Иммунные клетки	• Мембранное и (или) цитоплазматическое* окрашивание (любой интенсивности) мононуклеарных воспалительных клеток (МВК) в опухолевых гнездах и прилегающей опорной строме^{**}: ○ лимфоциты (включая скопления лимфоцитов); ○ макрофаги^{***}.	• Неокрашиваемые мононуклеарные воспалительные клетки (МВК) • МВК, связанные с ПКИС и ЛКИС • Мононуклеарные воспалительные клетки (МВК),

	Оцениваются только моноклеарные воспалительные клетки (МВК), непосредственно связанные с реакцией на опухоль.	связанные с доброкачественными структурами - МВК (включая агрегации лимфоцитов), не связанные напрямую с ответом на опухоль - Нейтрофилы, эозинофилы и плазмоциты
Другие клетки	Не входит в набор	- Доброкачественные эпителиальные клетки - Стромальные клетки (включая фибробласты) - Некротические клетки и (или) клеточный дебрис

**В моноклеарных воспалительных клетках (МВК) мембранное и цитоплазматическое окрашивание часто являются неразличимыми из-за высокого соотношения ядро/цитоплазма. Таким образом, мембранное и (или) цитоплазматическое окрашивание МВК включается в оценку.*

***Смежные моноклеарные воспалительные клетки (МВК) определяются как находящиеся в пределах идентичного 20-кратного поля, что и опухоль. Однако клетки МВК, связанные с ответом на опухоль НЕ напрямую, следует исключить.*

****Макрофаги и гистиоциты считаются идентичными клетками.*

Таблица 9. Критерии включения/исключения знаменателя CPS для ТНPMЖ

Элементы ткани	Включаются в знаменатель	Исключаются из знаменателя
Опухолевые клетки	Все видимые инвазивные опухолевые клетки	- Нежизнеспособные опухолевые клетки - Карцинома in situ (ПКИС и ЛКИС)
Иммунные клетки	Не входит в набор	Все иммунные клетки
Другие клетки	Не входит в набор	- Доброкачественные клетки - Стромальные клетки (включая фибробласты) - Некротические клетки и (или) клеточный дебрис

Следует считать, что образец имеет экспрессию PD-L1, если CPS ≥ 10 .

См. дополнительные указания в Руководстве по интерпретации анализа PD-L1 IHC 22C3 pharmDx ТНPMЖ.

14. Оценка предметного стекла

Таблица 10. Рекомендуемый порядок оценки предметных стекол

Образцы	Обоснование	Требования
1. ГиЭ (гематоксилин и эозин) (поставляемое лабораторией)	Сначала проводится оценка окрашивания образца ткани гематоксилином и эозином (ГиЭ), чтобы оценить гистологию тканей и качество сохранения.	Анализ с использованием набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx и окрашивание ГиЭ должны выполняться на серийных срезах из того же парафинового блока с образцом. Образцы тканей должны быть неповрежденными, хорошо сохранившимися и с подтвержденным типом опухоли.

Образцы	Обоснование	Требования
2. Контрольный микроскопический препарат клеточных линий (поставляемое с набором) Каждое предметное стекло содержит срезы двух осажденных центрифугированием, зафиксированных в формалине, залитых парафином клеточных линий: NCI-H226 с умеренной экспрессией белка PD-L1 и MCF-7 с отрицательной экспрессией белка PD-L1.	Необходимо исследовать контрольный микроскопический препарат клеточной линии, окрашенной с использованием первичного антитела моноклонального мышинового к PD-L1, клон 22C3 из набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, чтобы определить, что все реагенты действуют должным образом.	Контрольный микроскопический препарат клеточной линии должен краситься первичным антителом моноклональным мышинным к PD-L1, клон 22C3 в каждой серии окрашивания. <i>Критерии приемлемости NCI-H226 (PD-L1-положительная контрольная клеточная линия):</i> • окрашивание клеточной мембраны ≥ 70 % клеток; • средняя интенсивность окрашивания $\geq 2+$; • неспецифическое окрашивание с интенсивностью $< 1+$. <i>Критерии приемлемости MCF-7 (PD-L1-отрицательная контрольная клеточная линия):</i> • нет специфического окрашивания; • неспецифическое окрашивание с интенсивностью $< 1+$. Следует отметить, что иногда может наблюдаться окрашивание нескольких клеток в клеточном осадке MCF-7. Применяются следующие критерии приемлемости: приемлемым является наличие ≤ 10 от общего числа клеток с отчетливым окрашиванием плазматической мембраны или цитоплазматическое окрашивание с интенсивностью $\geq 1+$ в пределах границ клеточного осадка MCF-7. Если какая-либо из контрольных клеточных линий не соответствует этим критериям, то все результаты с образцами пациентов следует считать недействительными.
3. Предметные стекла с положительной контрольной тканью (представляемые лабораторией) внутрилабораторный позитивный и негативный контроль, подтвержденные группой высококвалифицированных специалистов	Затем следует рассматривать предметное стекло с положительной контрольной тканью, окрашенное первичным антителом моноклональным мышинным к PD-L1, клон 22C3 и реагентом отрицательного контроля. Эти предметные стекла позволяют проверить эффективность метода фиксации и процесса демаскировки. Известные положительные тканевые контроли должны использоваться только для мониторинга надлежащего окрашивания обработанных тканей, тестовых реагентов, но НЕ в качестве помощи в	Контрольные материалы должны представлять собой биопсийные/хирургические образцы с идентичными типами опухоли, что и у образца пациента, зафиксированные, обработанные и залитые как можно скорее идентичным способом, что и образец (образцы) пациента. Для интерпретации результатов окрашивания используют неповрежденные клетки, поскольку некротические или дегенерировавшие клетки часто окрашиваются неспецифически. Ткани, отобранные для использования в качестве положительных тканевых контролей, должны давать слабое или

Образцы	Обоснование	Требования
	формулировке конкретного диагноза образцов пациентов.	умеренное положительное окрашивание при окрашивании PD-L1. Два предметных стекла с положительной контрольной тканью должны быть включены в каждую серию окрашивания. Предметное стекло, окрашенное антителом моноклональным мышинным к PD-L1, клон 22C3: должно наблюдаться коричневое окрашивание плазматической мембраны. Неспецифическое окрашивание должно составлять $\leq 1+$. Предметное стекло, окрашенное реагентом отрицательного контроля: отсутствие окрашивания мембраны. Неспецифическое окрашивание должно быть $\leq 1+$. Если положительные тканевые контроли не демонстрируют надлежащего положительного окрашивания, результаты с испытуемыми образцами следует считать недействительными. Дополнительное руководство по контрольной ткани, связанной с раком шейки матки, см. в разделе 13.2.2.
4. Предметные стекла с отрицательной контрольной тканью (поставляемое лабораторией)	Предметные стекла с отрицательной контрольной тканью (известные как PD-L1 отрицательные), окрашенные первичным антителом моноклональным мышинным к PD-L1, клон 22C3 и реагентом отрицательного контроля должны быть изучены после проверки специфичности маркировки целевого антигена первичным антителом. В качестве альтернативы, отрицательные участки положительной контрольной ткани могут служить в качестве отрицательной контрольной ткани, но это должно быть проверено пользователем.	Контрольные материалы должны представлять собой биопсийные/хирургические образцы с идентичными типами опухоли, что и у образца пациента, зафиксированные, обработанные и залитые как можно скорее идентичным способом, что и образец (образцы) пациента. Два предметных стекла с отрицательной контрольной тканью должны быть включены в каждую серию окрашивания. Предметное стекло, окрашенное антителом моноклональным мышинным к PD-L1, клон 22C3: отсутствие окрашивания мембраны опухолевых клеток. Неспецифическое окрашивание должно быть $\leq 1+$. Предметное стекло, окрашенное реагентом отрицательного контроля: отсутствие окрашивания мембраны. Неспецифическое окрашивание должно быть $\leq 1+$.

Образцы	Обоснование	Требования
		Если происходит нежелательное специфическое окрашивание клеточной мембраны на предметных стеклах с отрицательной контрольной тканью, результаты с образцом пациента должны считаться недействительными. Дополнительное руководство по контрольной ткани, связанной с раком шейки матки, см. в разделе 13.2.2.
5. Контрольная ткань миндалин (дополнительно) (поставляемое лабораторией)	Используйте ткань миндалин/мышцы человека, зафиксированную, обработанную так же, как и в образцах пациента в качестве дополнительного контрольного материала для фонового окрашивания анализа.	Сильное положительное окрашивание должно обнаруживаться в участках эпителия крипт, а слабое или умеренное окрашивание фолликулярных макрофагов — в герминативных центрах. Отрицательное окрашивание должно наблюдаться в эндотелии, фибробластах, а также поверхностном эпителии.
6. Предметное стекло с тканью пациента, окрашенной с использованием реагента отрицательного контроля	Исследуют образцы пациента, окрашенные с использованием реагента отрицательного контроля из набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. ПОК используется вместо первичного антитела и помогает в интерпретации специфического окрашивания на поверхности антигена.	Отсутствие окрашивания клеточной мембраны верифицирует специфическое мечение антигенами первичным антителом. Неспецифическое окрашивание должно быть $\leq 1+$.
7. Предметное стекло с тканью пациента, окрашенной с использованием первичного антитела к PD-L1	Последним исследуют предметное стекло с образцом пациента, окрашенным с использованием первичного антитела моноклонального мышинового к PD-L1, клон 22C3 из набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx.	Интенсивность положительного окрашивания следует оценивать в контексте любого неспецифического фонового окрашивания, наблюдаемого на предметном стекле, окрашенном реагентом отрицательного контроля в рамках того же цикла. Как и в случае с любым иммуногистохимическим анализом, отрицательный результат означает, что антиген не был обнаружен, но необязательно, что антиген отсутствовал в тестируемых клетках/тканях. Следует оценить и включить в оценку балла PD-L1 все жизнеспособные опухолевые клетки на всем предметном стекле пациента окрашенном PD-L1. Чтобы образец считался подходящим для оценки PD-L1 должно присутствовать минимум 100 жизнеспособных опухолевых клеток. Руководство по интерпретации баллов экспрессии PD-L1 см. в разделе 13.

15. Ограничения

15.1 Общие ограничения

1. Применяется только по предписанию врача. Применяется только квалифицированным специалистом (например, врачом патморфологом, цитологом, медицинским технологом), прошедшим обучение.
2. Иммуногистохимический анализ является многостадийным диагностическим процессом, который требует специальной подготовки при выборе соответствующих реагентов; выборе, фиксации и обработке ткани; подготовке предметных стекол для иммуногистохимического анализа; и интерпретации результатов окрашивания.
3. Окрашивание ткани зависит от манипуляций и обработки ткани до окрашивания. Неправильные фиксация, замораживание, размораживание, мойка, сушка, нагрев, изготовление срезов или контаминация другими тканями или жидкостями могут производить артефакты, приводить к накоплению антител или ложноотрицательным результатам. Противоречивые результаты могут быть получены из-за вариаций методов фиксации и заливки или присущих нарушений внутри ткани.
4. Чрезмерное или неполное докрасивание может негативно повлиять на правильную интерпретацию результатов.
5. Клиническая интерпретация любого окрашивания при помощи набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx должна выполняться в контексте клинической картины, морфологии и других гистопатологических критериев. Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями и надлежащим контролем, а также другими диагностическими тестами. Обязанность по интерпретации окрашенного препарата лежит на квалифицированном патоморфологе, который осведомлен об антителах, реагентах и используемых методах. Окрашивание должно выполняться в сертифицированной лицензированной лаборатории под руководством патоморфолога, который несет ответственность за рассмотрение окрашенных предметных стекол и обеспечение пригодности положительного и отрицательного контроля.
6. Ткани от лиц, инфицированных вирусом гепатита В, и содержащие поверхностный антиген гепатита В (HBsAg) могут проявлять неспецифическое окрашивание пероксидазой хрена¹⁸.
7. Реагенты могут продемонстрировать неожиданные реакции в ранее нетестированных типах тканей. Возможность непредвиденных реакций не может быть полностью исключена даже в протестированных типах тканей из-за биологической изменчивости экспрессии антигена в новообразованиях или других патологических тканях. При регистрации непредвиденных реакций необходимо обратиться в службу технической поддержки компании «Аджилент Текнолоджис, Инк.».
8. Могут наблюдаться ложноположительные результаты в связи с неиммунологическим связыванием белков или продуктов реакции с субстратом. Они также могут быть вызваны активностью псевдопероксидазы (эритроциты) и эндогенной пероксидазы (цитохром C)¹⁵.
9. Реагенты и инструкции, поставляемые с этим изделием, были разработаны для обеспечения оптимальной производительности. Дальнейшее разбавление реагентов или

изменение времени инкубации или температуры может привести к ошибочным или противоречивым результатам.

15.2 Специфические для изделия ограничения

1. Ложноотрицательные результаты могут быть вызваны разрушением антигена в тканях с течением времени. Образцы должны быть окрашены в течение рекомендованных сроков по хранению срезов (см. раздел 8.2).
2. Для получения оптимальных и воспроизводимых результатов при стандартной фиксации (нейтральным забуференным формалином) и заливке парафином ткани, белок PD-L1 требует предварительной обработки для демаскировки.
3. Запрещается заменять реагенты на реагенты из других лотов (кодов партии) данного изделия или из наборов других производителей. Единственным исключением является раствор для демаскировки антигена с низким pH EnVision FLEX («ЭнВижн Флекс») (50x) (Envision FLEX Target Retrieval Solution Low pH (50X)), который при необходимости доступен под № по каталогу K8005.
4. Окрашенные предметные стекла с контрольными клеточными линиями (Control Slides) следует использовать только для валидации цикла окрашивания и нельзя использовать для балльной оценки реакции окрашивания срезов ткани.
5. Использование набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx на тканях с фиксатором, отличным от НЗФ, не было валидировано.
6. Использование набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx на образцах, полученных с помощью тонкоигольной аспирации, не было валидировано.
7. Использование набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx на декальцифицированной ткани, не было валидировано.
8. Клиническое исследование аденокарциномы желудка и гастроэзофагеального перехода (ГЭП) было проведено с целью обеспечить не менее 3–5 пункционных биопсий ткани на пациента. Достоверность определения уровня экспрессии PD-L1 у пациентов на основе тестирования меньшего количества прохождений неизвестна. Руководство по интерпретации баллов см. в разделе 13.2.
9. Клиническое исследование уротелиальной карциномы было проведено с целью обеспечить не менее 3–5 пункционных биопсий ткани на пациента. Достоверность определения уровня экспрессии PD-L1 у пациентов на основе тестирования меньшего количества прохождений неизвестна. Руководство по интерпретации баллов см. в разделе 13.2.
10. Если экспрессия PD-L1 не обнаруживается в архивном* образце аденокарциномы желудка и гастроэзофагеального перехода (ГЭП), необходимо оценить возможность получения дополнительной биопсии опухоли для тестирования PD-L1. (См. таблицу 24 в Клиническом разделе 16.5).

*В рамках клинических испытаний KN059 вновь полученная биопсия была определена как образец, полученный за 6 недель (42 дня) до начала лечения в 1-й день (цикл 1) препаратом KEYTRUDA («КИТРУДА») и без дополнительной противоопухолевой терапии после получения образца. Образцы, которым было >42 дней, классифицировались как архивные.

16. Оценка эффективности

16.1 Оценка доклинической эффективности: здоровые и неопластические ткани

Нормальные ткани: В таблице 11 приводятся краткие сведения об иммунологической реактивности антитела моноклонального мышиног к PD-L1, клон 22C3 на рекомендуемой панели нормальных тканей. Окрашивание плазматической мембраны наблюдалось у иммунных клеток и клеток эпителиального происхождения. В некоторых типах клеток отмечалось окрашивание цитоплазмы, но оно не регистрировалось как положительное окрашивание. Все ткани были зафиксированы в формалине, залиты парафином и окрашены с использованием набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в соответствии с настоящей инструкцией. В тестируемых типах клеток или типах тканей непредвиденных результатов не отмечалось. Наблюдаемое окрашивание соответствовало данным, опубликованным в литературе об ИГХ экспрессии PD-L1 в здоровых тканях^{19,20}.

Таблица 11. Краткие сведения о реактивности набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в здоровых тканях

Тип ткани (кол-во испытанных)	Положительное окрашивание плазматической элементы ткани мембраны:	Положительное окрашивание цитоплазмы: элементы ткани	Неспецифическое окрашивание
Надпочечник (3)	0/3	1/3 медуллярные клетки	0/3
Мочевой пузырь (3)	0/3	0/3	0/3
Костный мозг (3)	3/3 мегакариоциты	3/3 мегакариоциты	0/3
Молочная железа (3)	0/3	0/3	0/3
Мозжечок (3)	0/3	0/3	0/3
Головной мозг (3)	0/3	0/3	0/3
Шейка матки (3)	1/3 эпителий	0/3	0/3
Ободочная кишка (3)	2/3 макрофаги	0/3	0/3
Пищевод (3)	0/3	0/3	0/3
Почка (3)	1/3 тубулярный эпителий	0/3	0/3
Печень (3)	1/3 макрофаги 1/3 гепатоциты	0/3	0/3
Легкие (3)	3/3 альвеолярные макрофаги	0/3	0/3
Мезотелиальные клетки (3)	0/3	0/3	0/3
Мышца, сердечная (3)	0/3	0/3	0/3
Мышца, скелетная (3)	0/3	0/3	0/3
Нерв, периферический (3)	0/3	1/3 соединительная ткань / сосуды	0/3
Яичник (3)	0/3	0/3	0/3
Поджелудочная железа (3)	0/3	0/3	0/3
Паращитовидная железа (3)	1/3 железистый эпителий	0/3	0/3
Гипофиз (3)	1/3 Передняя доля гипофиза 1/3 Задняя доля гипофиза	1/3 Передняя доля гипофиза 1/3 Задняя доля гипофиза	0/3
Предстательная железа (3)	3/3 Эпителий	0/3	0/3
Слюнная железа (3)	0/3	0/3	0/3
Кожа (3)	0/3	0/3	0/3
Тонкий кишечник (3)	0/3	0/3	0/3
Селезенка (3)	2/3 макрофаги	0/3	0/3
Желудок (3)	2/3 лимфоциты	1/3 желудочные железы	0/3

Тип ткани (кол-во испытанных)	Положительное окрашивание плазматической мембраны: элементы ткани	Положительное окрашивание цитоплазмы: элементы ткани	Неспецифическое окрашивание
	1/3 желудочные железы		
Яичко (3)	0/3	0/3	0/3
Тимус (3)	3/3 медуллярный эпителий	0/3	0/3
Щитовидная железа (3)	0/3	0/3	0/3
Миндалины (3)	3/3 эпителий крипт 2/3 герминативный центр (макрофаги)	0/3	0/3
Матка (3)	0/3	0/3	0/3

Неопластические ткани: в таблице 12 приводятся краткие сведения об иммунологической реактивности антитела моноклонального мышиног к PD-L1, клон 22C3 на панели неопластических тканей. Окрашивание плазматической мембраны наблюдалось у иммунных клеток и клеток эпителиального происхождения. В некоторых типах клеток отмечалось окрашивание цитоплазмы, но оно не регистрировалось как положительное окрашивание. Все ткани были зафиксированы в формалине, залиты в парафин и окрашены с использованием набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в соответствии с настоящей инструкцией. В протестированных образцах опухоли непредвиденных результатов не отмечалось. Наблюдаемое окрашивание соответствовало данным, опубликованным в литературе для ИГХ экспрессии PD-L1 в неопластических тканях^{19–22}.

Таблица 12. Краткие сведения о реактивности набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в неопластических тканях

Тип опухоли	Локализация	PD-L1- положительный/всего N = 159
Аденокарцинома	Аппендикс	0/1
	Молочная железа, ПКИС	0/2
	Молочная железа, инвазивная протоковая карцинома	0/7
	Молочная железа, инвазивная протоковая карцинома с метастазами в лимфатические узлы	0/1
	Шейка матки, эндоцервикальный тип	0/1
	Толстый кишечник	0/5
	Толстая кишка, метастазы в печень	0/1
	Толстая кишка, слизистый	0/1
	Пищевод	0/1
	Жёлчный пузырь	1/5
	ЖКТ, метастазы в легкие	0/1
	Голова и шея, твердое небо	0/1
	Легкое	1/4
	Яичник	0/1
	Яичник, эндометриодный	0/1
	Яичник, слизистый	0/1
	Яичник, серозный	0/1
	Поджелудочная железа	0/2
	Поджелудочная железа, протоковая	0/3
	Предстательная железа	0/5
	Прямая кишка	0/4
	Слюнные/паращитовидные железы	0/2
	Тонкий кишечник	0/2

Тип опухоли	Локализация	PD-L1-положительный/всего N = 159
	Желудок	0/6
	Желудок, слизистый	0/1
	Щитовидная железа, фолликулярная	0/1
	Щитовидная железа, фолликулярно-папиллярная	0/1
	Щитовидная железа, папиллярная	0/3
	Матка, светлоклеточный	0/1
	Матка, эндометрий	0/3
Адренокортикальная карцинома	Надпочечник	0/1
Астроцитома	Головной мозг	0/3
Базальноклеточная карцинома	Кожа	0/1
Карцинома	Насофарингеальная карцинома	0/1
Хондросаркома	Кость	0/1
Хордома	Полость таза	0/1
Эмбриональная карцинома	Яичко	0/1
Эпендимома	Головной мозг	0/1
Глиобластома	Головной мозг	0/1
Гепатобластома	Печень	0/1
Гепатоцеллюлярная карцинома	Печень	0/5
Инсулома	Поджелудочная железа	0/1
Опухоль из интерстициальных клеток	Толстый кишечник	0/1
	Прямая кишка	0/1
	Тонкий кишечник	0/1
Лейомиосаркома	Мягкие ткани, грудная стенка	0/1
	Мочевой пузырь	0/1
Лимфома		
Анапластическая крупноклеточная	Лимфатический узел	0/1
Диффузная В-клеточная	Лимфатический узел	0/4
Ходжкинская	Лимфатический узел	2/2
Неходжкинская	Лимфатический узел	1/1
Медуллобластома	Головной мозг	0/1
Медуллярная карцинома	Щитовидная железа	0/1
Меланома	Прямая кишка	0/1
	Носовая полость	0/1
Менингиома	Головной мозг	0/2
Мезотелиома	Брюшная полость	0/1
Нейробластома	Забрюшинное пространство	0/1
Нейрофиброма	Мягкие ткани, поясница	0/1
Остеосаркома	Кость	0/2
Феохромоцитома	Надпочечник	0/1
Примитивная нейроэктодермальная опухоль (ПНЭО)	Забрюшинное пространство	0/1
Почечно-клеточный рак		
Папиллярная	Почка	0/1
Светлоклеточный	Почка	0/6
Рабдомиосаркома	Мягкие ткани, эмбриональная	0/1
	Предстательная железа	0/1
	Забрюшинное пространство	0/1
Семинома	Яичко	0/2
Перстневидноклеточная карцинома	Метастазы перстневидно-клеточного рака ободочной кишки в яичник	0/1
	Толстый кишечник	0/1
Мелкоклеточная карцинома	Легкое	0/1
Сперматоцитома	Яичко	0/2

Тип опухоли	Локализация	PD-L1-положительный/всего N = 159
Плоскоклеточная карцинома	Метастазы плоскоклеточного рака пищевода в лимфатические узлы	0/1
	Шейка матки	2/5
	Пищевод	0/7
	Голова и шея	0/2
	Легкое	1/2
	Кожа	0/2
	Матка	0/1
Синовиальная саркома	Полость таза	0/1
Тимома	Средостение	1/1
Переходноклеточная карцинома	Мочевой пузырь	0/6
	Почка	0/1

16.2 Оценка доклинической эффективности: НМРЛ

Чувствительность и специфичность: НМРЛ

Чувствительность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDX была протестирована на 127 уникальных случаях образцов НМРЛ стадий I-IV, фиксированных в формалине и залитых в парафин (FFPE), с использованием лота выпускаемой продукции. Оценка экспрессии PD-L1 продемонстрировала окрашивание в диапазоне 0–100 % положительных опухолевых клеток и интенсивность окрашивания 0–3.

Прецизионность: НМРЛ

Прецизионность для набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx оценивали в компании «Аджилент Текнолоджис, Инк.». Средняя отрицательная процентная согласованность (ANA), средняя положительная процентная согласованность (APA) и общая процентная согласованность (OA) были рассчитаны с двусторонними доверительными интервалами 95 % с использованием перцентильного метода множественной выборки для порогового значения $TPS \geq 1\%$ и порогового значения $TPS \geq 50\%$. Для исследований, которые привели к согласованности 100 %, отрицательная процентная согласованность (NPA), положительная процентная согласованность (PPA) и общая процентная согласованность (OA) были рассчитаны с двусторонними доверительными интервалами 95 % с использованием метода оценки Уилсона для порогового значения $TPS \geq 1\%$ и порогового значения $TPS \geq 50\%$.

Таблица 13. Прецизионность для набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, испытанного на одной площадке ($TPS \geq 1\%$)

Исследование прецизионности	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
Между приборами	$TPS \geq 1\%$	Все 24 образца НМРЛ (12 PD-L1-отрицательных и 12 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1 тестировались с использованием 6 станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48».	NPA 100,0 % (94,0–100,0 %) PPA 100,0 % (94,0–100,0 %) OA 100,0 % (96,9–100,0 %)

Исследование прецизионности	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
Между операторами	TPS $\geq$ 1 %	Все 24 образца НМРЛ (12 PD-L1-отрицательных и 12 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1 тестировались 6 лаборантами с использованием 1 станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48».	NPA 100,0 % (93,9–100,0 %) PPA 100,0 % (94,0–100,0 %) OA 100,0 % (96,9–100,0 %)
Между днями	TPS $\geq$ 1 %	Все 24 образца НМРЛ (12 PD-L1-отрицательных и 12 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1 тестировались в течение 6 непоследовательных дней с использованием станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48».	NPA 100,0 % (94,0–100,0 %) PPA 100,0 % (94,0–100,0 %) OA 100,0 % (96,9–100,0 %)
Между лотами	TPS $\geq$ 1 %	Все 24 образца НМРЛ (13 PD-L1-отрицательных и 11 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1 тестировались в 3 повторностях с 3 лотами (кодами парии) реагентов с использованием станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48».	ANA 98,3 % (95,9–100,0 %) APA 97,9 % (94,6–100,0 %) OA 98,1 % (95,3–100,0 %)
Внутри цикла (повторяемость)	TPS $\geq$ 1 %	Все 24 образца НМРЛ (12 PD-L1-отрицательных и 12 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1 тестировались в 6 повторностях за один цикл с использованием станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48».	NPA 100,0 % (94,0–100,0 %) PPA 100,0 % (93,8–100,0 %) OA 100,0 % (96,8–100,0 %)

NPA — отрицательная процентная согласованность; PPA — положительная процентная согласованность; OA —общая процентная согласованность; ANA — средняя отрицательная процентная согласованность; APA — средняя положительная процентная согласованность; TPS — балл пропорции опухоли.

Таблица 14. Прецизионность для набора реагентов PD-L1 ИHC 22C3 pharmDx, испытанного на одной площадке (TPS $\geq$ 50 %)

Исследование прецизионности	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
Между приборами	TPS $\geq$ 50 %	Все 16 образцов НМРЛ (10 PD-L1-отрицательных и 6 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1 тестировались с использованием 6 станций иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48».	NPA 100,0 % (92,9–100,0 %) PPA 100,0 % (88,6–100,0 %) OA 100,0 % (95,4–100,0 %)
Между операторами	TPS $\geq$ 50 %	Все 16 образцов НМРЛ (10 PD-L1-отрицательных и 6 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-	NPA 100,0 % (92,7–100,0 %) PPA 100,0 % (88,6–100,0 %) OA 100,0 % (95,4–100,0 %)

Исследование прецизионности	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
		экспрессии PD-L1 тестировались 6 лаборантами с использованием одной станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48».	
Между днями	TPS $\geq$ 50 %	Все 16 образцов НМРЛ (10 PD-L1-отрицательных и 6 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1 тестировались в течение 6 непоследовательных дней с использованием станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48».	NPA 100,0 % (92,9–100,0 %) PPA 100,0 % (88,6–100,0 %) OA 100,0 % (95,4–100,0 %)
Между лотами (кодами партии)	TPS $\geq$ 50 %	Все 16 образцов НМРЛ (8 PD-L1-отрицательных и 8 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1 тестировались в 3 повторностях с 3 лотами (код партии) реагентов с использованием станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48».	NPA 100,0 % (92,6–100,0 %) PPA 100,0 % (92,6–100,0 %) OA 100,0 % (96,2–100,0 %)
Внутри цикла (повторяемость)	TPS $\geq$ 50 %	Все 16 образцов НМРЛ (10 PD-L1-отрицательных и 6 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1 тестировались в 6 повторностях за один цикл с использованием станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48».	NPA 100,0 % (92,9–100,0 %) PPA 100,0 % (88,6–100,0 %) OA 100,0 % (95,4–100,0 %)
Внутридневная	TPS $\geq$ 50 %	Все 16 образцов НМРЛ (10 PD-L1-отрицательных и 6 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1 тестировались в ходе двух циклов в день, повторяемых в течение 3 дней, с использованием станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48».	NPA 100,0 % (88,3–100,0 %) PPA 100,0 % (82,4–100,0 %) OA 100,0 % (92,4–100,0 %)

NPA — отрицательная процентная согласованность; PPA — положительная процентная согласованность; OA — общая процентная согласованность; TPS — балл пропорции опухоли

Внешняя воспроизводимость: НМРЛ

Воспроизводимость для набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx оценивали на трех независимых площадках по проведению испытаний. Были рассчитаны средние согласованности, поскольку не существует естественной базы отсчета для параметров воспроизводимости, таких как площадка и наблюдатель. Средняя отрицательная процентная согласованность (ANA), средняя положительная процентная согласованность (APA) и общая процентная согласованность (OA) были рассчитаны с двусторонними доверительными интервалами 95 % с использованием перцентильного метода

множественной выборки для порогового значения $TPS \geq 1\%$ и порогового значения $TPS \geq 50\%$.

Таблица 15. Воспроизводимость для набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, испытанного на трех сторонних площадках ($TPS \geq 1\%$)

Исследование воспроизводимости	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
Между площадками	$TPS \geq 1\%$	Все 36 образцов НМРЛ (16 PD-L1-отрицательных и 20 PD-L1-положительных) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1 тестировались в течение 5 непоследовательных дней. Анализ между площадками выполняли между тремя площадками всего на 2700 парных сравнениях.	ANA 94,8 % (90,3–98,4 %) APA 95,5 % (91,2–98,7 %) OA 95,2 % (90,8–98,6 %)
Внутри площадки	$TPS \geq 1\%$	Все 36 образцов НМРЛ (16 PD-L1-отрицательных и 20 PD-L1-положительных) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1 тестировались в течение 5 непоследовательных дней на каждой из 3 площадок исследования. Анализ внутри площадки выполняли для трех площадок всего на 1080 парных сравнениях.	ANA 96,2 % (94,1–97,5 %) APA 96,7 % (95,0–97,9 %) OA 96,5 % (95,2–97,4 %)
Между наблюдателями	$TPS \geq 1\%$	Все 62 образца НМРЛ (28 PD-L1-отрицательных и 34 PD-L1-положительных) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1, окрашенных с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами, по 1 на каждой из 3 площадок исследования, в течение 3 непоследовательных дней. Анализ между площадками выполняли между тремя площадками всего на 1674 парных сравнениях.	ANA 85,8 % (79,3–91,8 %) APA 88,2 % (82,2–93,3 %) OA 87,1 % (81,0–92,6 %)
У одного наблюдателя	$TPS \geq 1\%$	Все 62 образца НМРЛ (28 PD-L1-отрицательных и 34 PD-L1-положительных) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1, окрашенных с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами, по 1 на каждой из 3 площадок исследования, в течение 3 непоследовательных дней. Анализ у одного наблюдателя выполняли для трех площадок всего на 558 парных сравнениях.	ANA 93,7 % (90,0–96,1 %) APA 94,8 % (91,6–96,7 %) OA 94,3 % (92,0–95,9 %)

ANA — средняя отрицательная процентная согласованность; APA — средняя положительная процентная согласованность; OA — общая процентная согласованность; TPS — балл пропорции опухоли

Таблица 16. Воспроизводимость для набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, испытанного на трех сторонних площадках (TPS $\geq$ 50 %)

Исследование воспроизводимости	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
Между площадками	TPS $\geq$ 50 %	Все 36 образцов НМРЛ (21 PD-L1-отрицательный и 15 PD-L1-положительных) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1 тестировались в течение 5 непоследовательных дней. Анализ между площадками выполняли между тремя площадками всего на 2700 парных сравнениях.	ANA 90,3 % (84,4–95,2 %) APA 85,2 % (75,6–92,9 %) OA 88,3 % (81,4–94,3 %)
Внутри площадки	TPS $\geq$ 50 %	Все 36 образцов НМРЛ (21 PD-L1-отрицательный и 15 PD-L1-положительных) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1 тестировались в течение 5 непоследовательных дней на каждой из 3 площадок исследования. Анализ внутри площадки выполняли для трех площадок всего на 1080 парных сравнениях.	ANA 91,9 % (88,8–94,8 %) APA 87,6 % (82,5–92,2 %) OA 90,2 % (86,3–93,7 %)
Между наблюдателями	TPS $\geq$ 50 %	Все 62 образца НМРЛ (30 PD-L1-отрицательных и 32 PD-L1-положительных) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1, окрашенных с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами, по 1 на каждой из 3 площадок исследования, в течение 3 непоследовательных дней. Анализ между площадками выполняли между тремя площадками всего на 1674 парных сравнениях.	ANA 92,6 % (87,8–96,7 %) APA 92,8 % (88,1–96,8 %) OA 92,7 % (88,1–96,8 %)
У одного наблюдателя	TPS $\geq$ 50 %	Все 62 образца НМРЛ (30 PD-L1-отрицательных и 32 PD-L1-положительных) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1, окрашенных с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами, по 1 на каждой из 3 площадок исследования, в течение 3 непоследовательных дней. Анализ у одного наблюдателя выполняли для трех площадок всего на 558 парных сравнениях.	ANA 96,4 % (94,0–98,5 %) APA 96,5 % (94,3–98,6 %) OA 96,4 % (94,3–98,6 %)

ANA — средняя отрицательная процентная согласованность; APA — средняя положительная процентная согласованность; OA — общая процентная согласованность; TPS — балл пропорции опухоли.

16.3 Оценка клинической эффективности: НМРЛ

KN042: лечение первой линии метастатического НМРЛ в виде монотерапии

Эффективность препарата КИТРУДА (KEYTRUDA®) изучалась в рамках KEYNOTE-042 (NCT02220894) — рандомизированного, многоцентрового, открытого, активно контролируемого исследования, проведенного с участием 1274 пациентов с НМРЛ III стадии, которые не были кандидатами на хирургическую резекцию или окончательную

химиотерапию, или пациенты с метастатическим НМРЛ, у которых опухоли экспрессировали PD-L1 ($TPS \geq 1\%$) при применении иммуногистохимического анализа с использованием набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, и которые ранее не получали системного лечения метастатического НМРЛ³. Пациенты с геномными опухолевыми абберациями EGFR или ALK; аутоиммунными заболеваниями, требующими системной терапии в течение 2 лет лечения; заболеваниями, требующими иммуносупрессии; или те, кто получил облучение в области грудной клетки в дозе более 30 Гр в течение предыдущих 26 недель, не включались в исследование. Рандомизация была стратифицирована по общему состоянию по классификации Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG) (0 и 1), гистологии (плоский и неплоский эпителий), географическому региону (Восточная Азия и не Восточная Азия) и экспрессии PD-L1 ($TPS \geq 50\%$ против $TPS 1-49\%$). Пациенты были рандомизированы в соотношении (1:1) для получения препарата КИТРУДА 200 мг внутривенно каждые 3 недели или одного из следующих курсов химиотерапии на основе препаратов платины по выбору исследователя:

- пеметрексед 500 мг/м² каждые 3 недели и карбоплатин (средняя концентрация в моче) 5–6 мг/мл/мин каждые 3 недели в 1-й день в течение не более 6 циклов с последующим дополнительным приемом препарата пеметрексед 500 мг/м² каждые 3 недели для пациентов с неплоскоклеточной гистологией;

- паклитаксел 200 мг/м² каждые 3 недели и карбоплатин (средняя концентрация в моче) 5–6 мг/мл/мин каждые 3 недели в 1-й день в течение не более 6 циклов с последующим дополнительным приемом препарата пеметрексед 500 мг/м² каждые 3 недели для пациентов с неплоскоклеточной гистологией.

Лечение препаратом КИТРУДА продолжалось до тех пор, пока не было определено прогрессирование заболевания по Критериям оценки объективного ответа при солидных опухолях (RECIST), вер. 1.1 (модифицированным таким образом, чтобы отслеживать максимум 10 целевых поражений и максимум 5 целевых поражений на орган) или была выявлена неприемлемая токсичность, или пока срок лечения не достигал 24 месяцев. Применение препарата КИТРУДА было разрешено без ограничений, связанных с определенным прогрессированием заболевания по RECIST, если пациент был клинически стабильным и, по мнению исследователя, получал клиническую пользу. Лечение препаратом КИТРУДА может быть возобновлено во время последующего прогрессирования заболевания и может применяться в течение периода длительностью до 12 месяцев. Оценка состояния опухоли проводилась каждые 9 недель. Основным показателем эффективности является OS. Дополнительные итоговые показатели эффективности включали выживаемость без прогрессирования заболевания (ВБПЗ) и общую частоту ответа (ОЧО), оцененные с помощью слепой независимой централизованной оценки (BICR) в соответствии с RECIST, вер.1.1, модифицированным таким образом, чтобы отслеживать максимум 10 целевых поражений и максимум 5 целевых поражений на орган.

Характеристика популяции исследования: медианный возраст 63 года (диапазон: 25-90 лет), 45 % в возрасте 65 лет и старше; 71 % мужчин; 64 % европеоидной, 30 % монголоидной и 2 % негроидной расы. Девятнадцать процентов составляли пациенты испанского или латиноамериканского происхождения. У 69 % отмечали общее состояние по шкале ECOG 1; 39 % — плоскоклеточная и 61 % — неплоскоклеточная гистология;

87 % — заболевание M1 и 13 % — стадия IIIA (2 %) или стадия IIIB (11 %), которые не являлись кандидатами для хирургической резекции или радикальной химиолучевой терапии в соответствии с оценкой исследователя; и 5 % пациентов, прошедших лечение метастаз в головном мозге в начале исследования. У сорока семи процентов пациентов TPS составил ≥ 50 % НМРЛ и у 53 % составил TPS 1–49 % НМРЛ.

Исследование показало статистически значимое улучшение в OS у пациентов, рандомизированных для лечения препаратом КИТРУДА, по сравнению с химиотерапией. В таблице 17 и на рисунке 1 приведены обобщенные результаты эффективности в подгруппе пациентов с TPS ≥ 50 % и у всех рандомизированных пациентов с TPS ≥ 1 %.

Таблица 17. Результаты эффективности всех рандомизированных пациентов (TPS ≥ 1 % и TPS ≥ 50 %) в исследовании KEYNOTE 042

	TPS ≥ 1 %		TPS ≥ 50 %	
Конечная точка	КИТРУДА 200 мг каждые 3 недели n = 637	Химиотерапия n = 637	КИТРУДА 200 мг каждые 3 недели n = 299	Химиотерапия n = 300
OS				
Количество явлений (%)	371 (58 %)	438 (69 %)	157 (53 %)	199 (66 %)
Медиана в месяцах (95 % ДИ)	16,7 (13,9, 19,7)	12,1 (11,3, 13,3)	20,0 (15,4, 24,9)	12,2 (10,4, 14,2)
Соотношение рисков* (95 % ДИ)	0,81 (0,71, 0,93)		0,69 (0,56, 0,85)	
p-значение [†]	0,0036		0,0006	
ВБПЗ				
Количество явлений (%)	507 (80 %)	506 (79 %)	221 (74 %)	233 (78 %)
Медиана в месяцах (95 % ДИ)	5,4 (4,3, 6,2)	6,5 (6,3, 7,0)	7,1 (5,9, 9,0)	6,4 (6,1, 6,9)
Соотношение рисков* [‡] (95 % ДИ)	1,07 (0,94, 1,21)		0,81 (0,67, 0,99)	
p-значение [†]	- [‡]		NS [§]	
Частота объективного ответа				
ОЧО [‡] (95 % ДИ)	27 % (24, 31)	27 % (23, 30)	39 % (33,9, 45,3)	32 % (26,8, 37,6)
Процент пациентов с полным объективным ответом	0,5 %	0,5 %	0,7 %	0,3 %
Процент пациентов с частичным объективным ответом	27 %	26 %	39 %	32 %
Длительность ответа				
% с длительностью ≥ 12 месяцев [¶]	47 %	16 %	42 %	17 %
% с длительностью ≥ 18 месяцев [¶]	26 %	6 %	25 %	5 %

* На основании стратифицированной модели пропорциональных рисков Кокса.

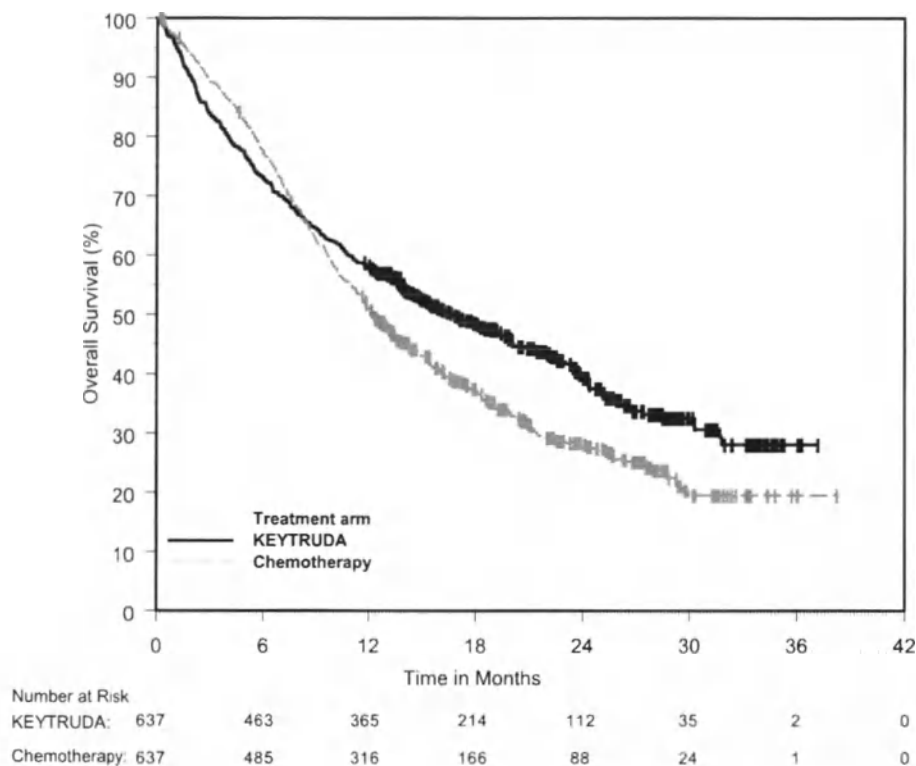
[†] На основании стратификации по логранговому критерию; по сравнению с границей p-значения 0,0291.

[‡] Статистическая значимость не оценивалась в результате последовательного тестирования вторичных конечных точек.

[§] Незначительно по сравнению с границей p-значения 0,0291.

[¶] На основании наблюдаемой длительности ответа.

В анализе заранее определенной исследовательской подгруппы для пациентов с TPS 1–49 % НМРЛ медиана OS составляла 13,4 месяцев (95 % ДИ: 10,7, 18,2) для группы пембролизумаб и 12,1 месяцев (95 % ДИ: 11,0, 14,0) в группе химиотерапии, с соотношением рисков (HR) 0,92 (95 % ДИ: 0,77, 1,11).



Overall Survival (%)

Treatment arm

KEYTRUDA

Chemotherapy

Number at risk

Time in Months

Общая выживаемость (%)

Группа лечения

КИТРУДА

Химиотерапия

Количество пациентов в группе риска

Время в месяцах

Рисунок 1. Кривая Каплана-Мейера по общей выживаемости у всех рандомизированных пациентов в исследовании KEYNOTE 042 (TPS ≥ 1 %)

KEYNOTE 024: контролируемое исследование лечения первой линии пациентов с НМРЛ

Эффективность препарата КИТРУДА изучалась в рамках Исследования 24 — рандомизированного (1: 1), открытого, многоцентрового, контролируемого исследования.⁴ Ключевыми критериями отбора были метастатический НМРЛ, балл пропорции опухоли (TPS) при экспрессии PD-L1 50 % или выше при применении иммуногистохимического анализа с использованием набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx и без предшествующего системного лечения метастатического НМРЛ. Пациенты с геномными опухолевыми абберациями EGFR или ALK; аутоиммунными заболеваниями, требующими системной терапии в течение 2 лет лечения; заболеваниями, требующими иммуносупрессии; или те, кто получил облучение в области грудной клетки в дозе более 30 Гр в течение предыдущих 26 недель, не включались в исследование. Пациенты были рандомизированы для получения препарата КИТРУДА 200 мг каждые 3 недели ($n = 154$) или химиотерапии на основе препаратов платины по выбору исследователя ($n = 151$; включая пеметрексед + карбоплатин, пеметрексед + цисплатин, гемцитабин + цисплатин, гемцитабин + карбоплатин или паклитаксел + карбоплатин. Пациенты с неплоскоклеточным раком могли получать поддержку пеметрекседом). Пациенты получали препарат КИТРУДА до неприемлемой токсичности или прогрессирования

заболевания или до 35 введений препарата. Лечение последующего прогрессирования заболевания можно повторно проводить в течение периода длительностью до 1 дополнительного года. Лечение может быть продолжено и после прогрессирования заболевания, если пациент находился в клинически стабильном состоянии и, по мнению исследователя, получал клиническую пользу. Оценка состояния опухоли проводилась каждые 9 недель. Пациентам, проходившим химиотерапию, которые испытывали прогрессирование заболевания, предлагался препарат КИТРУДА.

Среди 305 пациентов Испытания 24 (KEYNOTE 24) основными характеристиками были: медианный возраст 65 лет (54 % в возрасте 65 лет и старше); 61 % мужчин; 82 % европеоидной и 15 % монголоидной расы; у 35 и 65 % общее состояние по шкале ECOG 0 и 1 соответственно. Характеристики заболевания включали плоскоклеточный рак (18 %) и неплоскоклеточный рак (82 %); M1 (99 %) и метастазы в головной мозг (9 %).

Основным показателем эффективности является выживаемость без прогрессирования (ВБПЗ), оцениваемая слепой независимой централизованной оценкой (BICR) с использованием Критериев оценки объективного ответа при солидных опухолях, вер. 1.1 (RECIST 1.1). Дополнительные итоговые показатели эффективности включали общую выживаемость (ОВ) и частоту объективного ответа (ОЧО), оцененные с помощью BICR в соответствии с RECIST 1.1. В таблице 18 обобщены основные показатели эффективности в отношении всей популяции больных, включенных в испытание (ИТТ).

Таблица 18. Результаты эффективности в Исследовании 24

Конечная точка	КИТРУДА 200 мг каждые 3 недели n = 154	Химиотерапия n = 151
PFS*		
Количество пациентов с явлениями (%)	73 (47 %)	116 (77 %)
Соотношение рисков [†] (95 % ДИ)	0,50 (0,37, 0,68)	---
p-значение [‡]	<0,001	---
Медиана в месяцах (95 % ДИ)	10,3 (6,7, NA)	6,0 (4,2, 6,2)
OS		
Количество пациентов с явлениями (%)	44 (29 %)	64 (42 %)
Соотношение рисков [†] (95 % ДИ)	0,60 (0,41, 0,89)	---
p-значение [‡]	0,005	---
Медиана в месяцах (95 % ДИ)	Не достигнуто (NA, NA)	Не достигнуто (9,4, НП)
Частота объективного ответа *		
ОЧО % (95 % ДИ)	45 % (37, 53)	28 % (21, 36)
Полный ответ %	4 %	1 %
Частичный ответ %	41 %	27 %

*Оценено с помощью BICR с использованием RECIST 1.1.

[†] Соотношение рисков (препарат КИТРУДА по сравнению с химиотерапией) на основании стратифицированной модели пропорциональных рисков Кокса.

[‡] На основании стратификации по логранговому критерию.

Н/П — неприменимо.

Среди 69 пациентов, рандомизированных на получение препарата КИТРУДА 200 мг с объективным ответом, продолжительность ответа варьировалась от 1,9 до 14,5 месяцев. У

восемидесяти восьми процентов респондентов продолжительность ответа составляла 6 месяцев или более (на основании оценки Каплана-Мейера; рисунок 2).

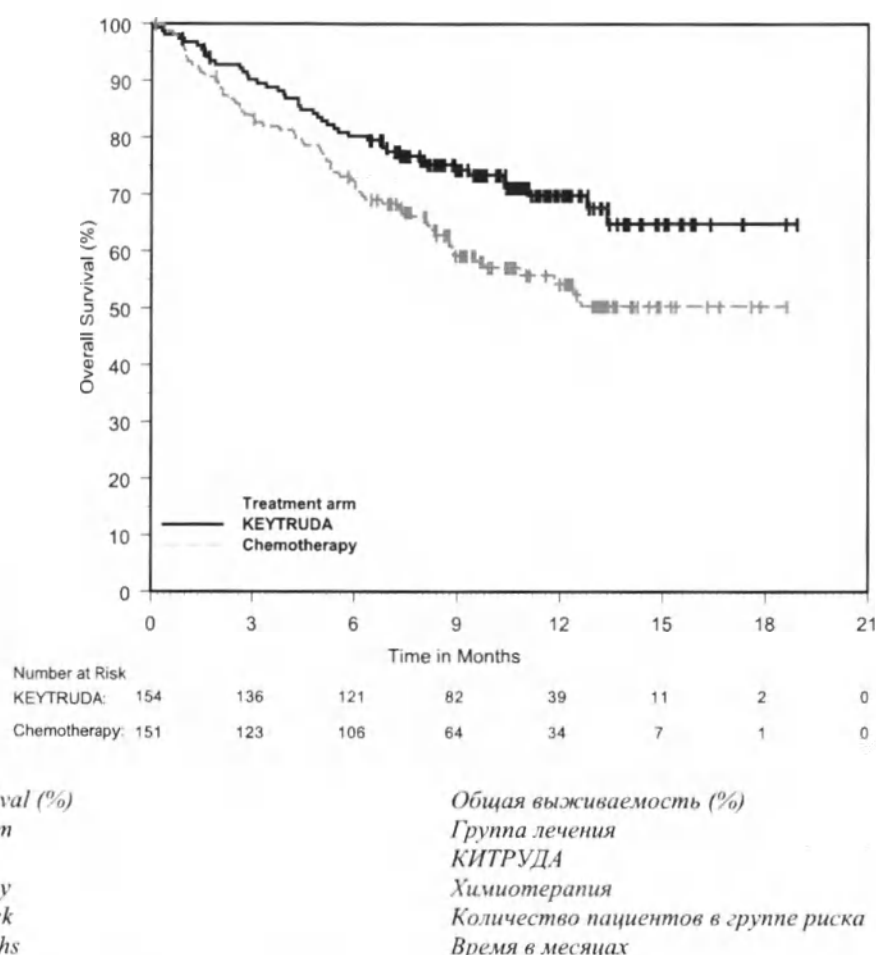


Рисунок 2. Кривая Каплана-Мейера по общей выживаемости в Исследовании 24.

KEYNOTE 010: контролируемое испытание пациентов с НМРЛ, ранее прошедших курс химиотерапии

Эффективность препарата КИТРУДА изучалась в рамках Испытания 10 — рандомизированного (1: 1), открытого, многоцентрового, контролируемого исследования⁵. Ключевыми критериями отбора были НМРЛ на поздних стадиях, прогрессирующий после химиотерапии на основе препаратов платины и, при необходимости, целевая терапия мутаций ALK или EGFR, а также балл пропорции опухоли (TPS) при экспрессии PD-L1 1 % или более с использованием версии набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, валидированной в качестве теста для клинических испытаний (СТА). 44 и 56 % пациентов были включены в исследование по результатам испытаний архивного образца опухоли или нового образца опухоли, соответственно. Пациенты с аутоиммунными заболеваниями; заболеваниями, требующими иммуносупрессии; или те, кто получил облучение в области грудной клетки в дозе более 30 Гр в течение предыдущих 26 недель, не включались в исследование. Пациенты были рандомизированы в соотношении (1:1:1) для получения препарата КИТРУДА 2 мг/кг (n = 344) или 10 мг/кг (n = 346) каждые 3 недели или 75 мг/м² препарата доцетаксел каждые 3 недели (n = 343). Пациенты получали препарат КИТРУДА

до недопустимой токсичности или прогрессирования заболевания, которое было симптоматическим, быстро прогрессирующим, требующим срочного вмешательства, происходившим с ухудшением общего состояния или было подтверждено через 4–6 недель при повторном сканировании. Пациенты без прогрессирования заболевания проходили лечение в течение 24 месяцев или 35 введений, в зависимости от того, какой период дольше. Лечение последующего прогрессирования заболевания можно повторно проводить в течение периода длительностью до 1 дополнительного года. Оценка состояния опухоли проводилась каждые 9 недель. Первичные итоговые показатели эффективности включали ОВ и ВБПЗ, оцененные с помощью BICR в соответствии с RECIST 1.1.

По данным СТА, в общей сложности 1,033 пациентов с НМРЛ были рандомизированы в исследование. Для оценки клинической пригодности набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, архивированные образцы клинического исследования были ретроспективно протестированы в американской эталонной лаборатории с набором реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Из 1033 пациентов опухолевая ткань 529 пациентов была ретроспективно протестирована с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Образцы 413 пациентов имели экспрессию PD-L1 (≥ 1 % жизнеспособных опухолевых клеток, демонстрирующих окрашивание мембраны любой интенсивности), а образцы 94 пациентов не имели экспрессии PD-L1 (< 1 % жизнеспособных опухолевых клеток, демонстрирующих окрашивание мембраны любой интенсивности). Среди 413 пациентов с экспрессией PD-L1, образцы 163 пациентов имели высокий уровень экспрессии PD-L1 (≥ 50 % жизнеспособных опухолевых клеток, демонстрирующих окрашивание мембраны любой интенсивности).

Уровень согласованности, достигнутый между СТА и набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, показан в таблице 19.

Таблица 19. Согласованность СТА по сравнению с набором реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx

Показатели согласованности	Пороговое значение PD-L1	Отрицательная процентная согласованность (95 % Доверительный интервал (ДИ))	Положительная процентная согласованность (95 % доверительный интервал (ДИ))
СТА по сравнению с набором реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx	TPS ≥ 1 %	94,5 % [91,4–96,6 %]	80,0 % [76,9–82,8 %]
	TPS ≥ 50 %	98,3 % [97,1–99,0 %]	73,2 % [67,9–77,9 %]

Среди рандомизированных пациентов, имеющих экспрессию PD-L1, определенную с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, демографические и другие основные характеристики были хорошо сбалансированы между группами лечения. Медианный возраст 63 года (44 % в возрасте 65 лет и старше). Большинство пациентов были европеоидной расы (77 %) и мужчинами (58 %); общее состояние по шкале ECOG в начале испытания 0 (29 %) или 1 (71 %). Семьдесят восемь процентов (78 %) пациентов в прошлом курили / курят в настоящее время. У двадцати двух процентов (22 %) пациентов плоскоклеточная гистология, а у 69 % — неплоскоклеточная гистология. Демографические и исходные характеристики были сбалансированы между группами препарата пембролизумаб и препарата доцетаксел в общем клиническом исследовании.

Обобщенные результаты исследования эффективности представлены в таблицах 20 и 21. Препарат КИТРУДА продемонстрировал продолжительную клиническую пользу у пациентов с НМРЛ с экспрессией PD-L1 (TPS 1 %), которая была улучшена у пациентов с высоким уровнем экспрессии PD-L1 (TPS $\geq$ 50 %), как определено с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Степень пользы была сопоставима с результатами общего клинического испытания. В таблицах 20 и 21 обобщены основные показатели эффективности в общей популяции с экспрессией PD-L1 (TPS 1 %) и в подгруппе высокого уровня экспрессии PD-L1 (TPS 50 %) для общего клинического исследования (TPS 1 % при использовании теста для клинических испытаний (СТА)) и в популяции с экспрессией PD-L1, определенной с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Кривая выживаемости Каплана-Мейера в отношении OS (TPS 1 %), определенная с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, показана на рисунке 3. Результаты эффективности были идентичными для групп препарата КИТРУДА 2 и 10 мг/кг.

Таблица 20. Ответ на препарат КИТРУДА у ранее получавших лечение пациентов с НМРЛ: общее клиническое испытание и пациенты с экспрессией PD-L1, TPS 1 %, определенной с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx

Конечная точка	КИТРУДА 2 мг/кг каждые 3 недели		КИТРУДА 10 мг/кг каждые 3 недели		Доцетаксел 75 мг/м ² каждые 3 недели	
	Клиническое исследование	Набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx	Клиническое исследование	Набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx	Клиническое исследование	Набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx
Количество пациентов	344	140	346	142	343	131
OS						
Летальный исход (%)	172 (50 %)	59 (42 %)	156 (45 %)	59 (42 %)	193 (56 %)	67 (51 %)
Соотношение рисков* (95 % ДИ)	0,71 (0,58, 0,88)	0,54 (0,37, 0,78)	0,61 (0,49, 0,75)	0,57 (0,39, 0,82)	---	---
p-значение [†]	<0,001	<0,001	<0,001	0,00115	---	---
Медиана в месяцах (95 % ДИ)	10,4 (9,4, 11,9)	11,8 (9,6, НП)	12,7 (10,0, 17,3)	12,0 (8,7, НП)	8,5 (7,5, 9,8)	7,5 (6,3, 9,9)
ВБПЗ[‡]						
Явления (%)	266 (77 %)	97 (63 %)	255 (74 %)	103 (73 %)	257 (75 %)	94 (72 %)
Соотношение рисков* (95 % ДИ)	0,88 (0,73, 1,04)	0,68 (0,50, 0,92)	0,79 (0,66, 0,94)	0,79 (0,59, 1,06)	---	---
p-значение [†]	0,068	0,00578	0,005	0,05767	---	---
Медиана в месяцах (95 % ДИ)	3,9 (3,1, 4,1)	4,9 (4,1, 6,2)	4,0 (2,6, 4,3)	4,0 (2,2, 4,6)	4,0 (3,1, 4,2)	3,8 (2,2, 4,2)
Частота общего ответа[‡]						
ОЧО % [§] (95 % ДИ)	18 % (14, 23)	24 % (17, 32)	18 % (15, 23)	20 % (14, 28)	9 % (7, 13)	5 % (2, 11)

* Соотношение рисков (препарат КИТРУДА по сравнению с препаратом доцетаксел) на основании стратифицированной модели пропорциональных рисков Кокса.

[†] На основании стратификации по логранговому критерию.

† Оценено с помощью BICR с использованием RECIST 1.1.
§ Все ответы были частичными.

Таблица 21. Ответ на препарат КИТРУДА у ранее получавших лечение пациентов с НМРЛ: общее клиническое испытание и пациенты с высоким уровнем экспрессии PD-L1, TPS 50 %, определенной с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx

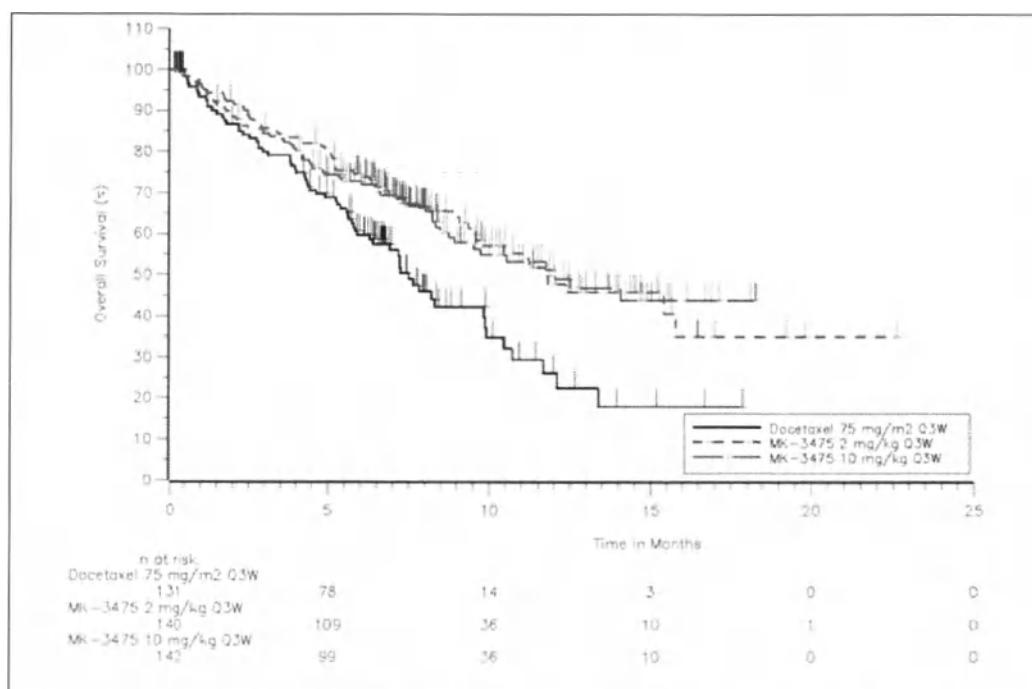
Конечная точка	КИТРУДА 2 мг/кг каждые 3 недели		КИТРУДА 10 мг/кг каждые 3 недели		Доцетаксел 75 мг/м ² каждые 3 недели	
	Клиническое исследование	Набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx	Клиническое исследование	Набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx	Клиническое исследование	Набор реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx
Количество пациентов	139	56	151	60	152	47
OS						
Летальный исход (%)	58 (42 %)	18 (32 %)	60 (40 %)	19 (32 %)	86 (57 %)	25 (53 %)
Соотношение рисков* (95 % ДИ)	0,54 (0,38, 0,77)	0,45 (0,24, 0,84)	0,50 (0,36, 0,70)	0,29 (0,15 0,56)	---	---
р-значение†	<0,001	0,00541	<0,001	<0,001	---	---
Медиана в месяцах (95 % ДИ)	14,9 (10,4, НП)	Не достигнуто (9,3, НП)	17,3 (11,8, НП)	Не достигнуто (8,3, НП)	8,2 (6,4, 10,7)	7,2 (4,4, 8,3)
ВБПЗ‡						
Явления (%)	89 (64 %)	33 (59 %)	97 (64 %)	34 (57 %)	118 (78 %)	33 (70 %)
Соотношение рисков* (95 % ДИ)	0,58 (0,43, 0,77)	0,47 (0,28, 0,80)	0,59 (0,45, 0,78)	0,41 (0,24, 0,70)	---	---
р-значение†	<0,001	0,00221	<0,001	<0,001	---	---
Медиана в месяцах (95 % ДИ)	5,2 (4,0, 6,5)	5,9 (4,2, 9,0)	5,2 (4,1, 8,1)	4,8 (2,8, NA)	4,1 (3,6, 4,3)	3,9 (2,0, 4,3)
Частота общего ответа ‡						
ОЧО %§ (95 % ДИ)	30 % (23, 39)	37 % (25, 52)	29 % (22, 37)	28 % (18, 41)	8 % (4, 13)	4 % (1, 15)

*Соотношение рисков (препарат КИТРУДА по сравнению с препаратом доцетаксел) на основании стратифицированной модели пропорциональных рисков Кокса.

† На основании стратификации по логранговому критерию.

‡ Оценено с помощью BICR с использованием RECIST 1.1.

§ Все ответы были частичными.



Overall Survival (%)

Docetaxel 75 mg/m² Q3W

MK-3475 2 mg/kg Q3W

MK-3475 10 mg/kg Q3W

Time in Months

n at risk

Общая выживаемость (%)

Доцетаксел 75 мг/м² Q3W

МК-3475 2 мг/кг Q3W

МК-3475 10 мг/кг Q3W

Время в месяцах

Кол-во находящихся в группе риска

Рисунок 3. Кривая Каплана-Мейера по общей выживаемости по группе исследования (TPS 1 %, определено с помощью набора PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, популяция больных, включенных в испытание).

Дополнительные анализы на устойчивость были проведены для рассмотрения потенциального воздействия недостающих данных, получаемых от пациентов с экспрессией PD-L1 (TPS ≥ 1 %) с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, но у которых, возможно, не было экспрессии PD-L1 (TPS < 1 %) с использованием СТА. Пациенты с такими результатами тестирования являются частью целевой/подлежащей диагностике популяции для использования набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx; однако они были исключены из клинического испытания из-за отсутствия экспрессии PD-L1 при скрининге СТА. Для учета этих недостающих данных был проведен анализ чувствительности для понимания вероятного диапазона для оценки соотношения рисков (HR) на основе набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в субпопуляциях TPS ≥ 1 % и TPS ≥ 50 % в рамках подлежащей диагностике популяции для проверки соответствия с наблюдаемым HR на основе зачисления с СТА. Результаты анализа чувствительности HR показали, что расчеты HR являются надежными для любой предполагаемой аттенуации эффекта лечения в рамках подлежащей диагностике популяции.

16.4 Оценка доклинической эффективности: аденокарцинома желудка или гастроэзофагеального перехода (ГЭП)

В доклинической оценке эффективности аденокарциномы желудка или гастроэзофагеального перехода (ГЭП) были испытаны следующие гистологии: кишечная, диффузная, включая перстневидноклеточную карциному и слизистые типы.

Чувствительность/специфичность: аденокарцинома желудка или гастроэзофагеального перехода (ГЭП)

Чувствительность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDX была протестирована на 100 образцах рака желудка (стадии I–IV), фиксированных в формалине и залитых парафином (FFPE), с использованием лота выпускаемой продукции. Оценка экспрессии PD-L1 показала окрашивание в диапазоне CPS 0–100. 60 % образцов имели экспрессию PD-L1 с экспрессией, определенной по $CPS \geq 1$.

Прецизионность: аденокарцинома желудка и гастроэзофагеального перехода (ГЭП)

Прецизионность анализа при помощи набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx при аденокарциноме желудка или гастроэзофагеального перехода (ГЭП) оценивали в компании «Аджилент Текнолоджис, Инк.» (Agilent Technologies, Inc.). В комбинированной прецизионности проводились исследования между приборами, между операторами, между днями и между лотами. Повторяемость исследовалась внутри цикла прецизионности. Прецизионность у одного наблюдателя и между наблюдателями также была оценена. Отрицательная процентная согласованность (NPA), положительная процентная согласованность (PPA) и общая процентная согласованность (OA) были рассчитаны с двусторонними доверительными интервалами 95 % в соответствии с методом Уилсона для порогового значения $CPS \geq 1$.

Таблица 22. Прецизионность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в раке желудка, испытанного на одной площадке ($CPS \geq 1$)

Исследование прецизионности	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ):
Комбинированная прецизионность (между приборами, между операторами, между лотами, между днями)	$CPS \geq 1$	Каждый из 24 образцов рака желудка (12 PD-L1-положительных и 12 PD-L1-отрицательных) с диапазоном экспрессии PD-L1 тестировались с использованием 3 станций иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48», 4 операторов, 3 лотов наборов, в течение 3 непоследовательных дней.	NPA 100,0 % (94,9–100,0 %) PPA 95,8 % (88,5–98,6 %) OA 97,9 % (94,1–99,3 %)
Прецизионность внутри цикла (повторяемость)	$CPS \geq 1$	Все 24 образца рака желудка (13 PD-L1-отрицательных и 11 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1 были протестированы в 5 повторностях в рамках одного цикла с использованием станции иммуногистохимического	NPA 96,9 % (89,5–99,2 %) PPA 100,0 % (93,5–100,0 %) OA 98,3 % (94,1–99,5 %)

Исследование прецизионности	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ):
		окрашивания «Автостейнер Линк 48».	
Прецизионность между наблюдателями	$CPS \geq 1$	Все 60 образцов рака желудка (26 PD-L1-отрицательных и 34 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1, окрашенные с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами в течение 3 непоследовательных дней.	NPA 91,5 % (87,2–94,4 %) PPA 96,1 % (93,3–97,7 %) OA 94,1 % (91,8–95,8 %)
Прецизионность у одного наблюдателя	$CPS \geq 1$	Все 60 образцов рака желудка (26 PD-L1-отрицательных и 34 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1, окрашенные с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами в течение 3 непоследовательных дней.	NPA 96,0 % (92,6–97,9 %) PPA 96,8 % (94,3–98,3 %) OA 96,5 % (94,6–97,7 %)

NPA — отрицательная процентная согласованность; PPA — положительная процентная согласованность; OA — общая процентная согласованность; CPS — комбинированный показатель позитивности.

Внешняя воспроизводимость: аденокарцинома желудка или ГЭП

Воспроизводимость набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx оценивали на трех независимых площадках. Отрицательная процентная согласованность (NPA), положительная процентная согласованность (PPA) и общая процентная согласованность (OA) были рассчитаны с двусторонними доверительными интервалами 95 %, с использованием перцентильного метода множественной выборки для порогового значения $CPS \geq 1$. Во время первоначального исследования не были соблюдены критерии приемлемости нижней границы доверительного интервала OA и NPA в отношении воспроизводимости между наблюдателями и нижней границы доверительного интервала NPA в отношении воспроизводимости у одного наблюдателя. Оценка основных причин показала, что один из трех наблюдателей, участвовавших в исследовании, не прошел проверку квалификации после обучения. Второе исследование между наблюдателями и у одного наблюдателя проводилось с участием трех неопытных наблюдателей, и результаты соответствовали критериям приемлемости. Результаты представлены в таблице 23. Оценка квалификации рекомендуется для обеспечения правильной интерпретации баллов наблюдателем.

Таблица 23. Воспроизводимость набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в раке желудка, испытанного на трех сторонних площадках ($CPS \geq 1$)

Исследование воспроизводимости	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
Между площадками	$CPS \geq 1$	Все 36 образцов рака желудка (16 PD-L1-отрицательных и 20 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ экспрессии PD-L1 тестировались в течение 5 непоследовательных дней.	NPA 92,5 % (86,2–97,5 %) PPA 91,7 % (84,7–97,7 %) OA 92,0 % (87,4–96,3 %)

Исследование воспроизводимости	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
		Анализ между площадками выполняли между тремя площадками всего на 540 сравнениях с большинством.	
Внутри площадки	CPS $\geq$ 1	Все 36 образцов рака желудка (16 PD-L1-отрицательных и 20 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ экспрессии PD-L1 тестировались в течение 5 непоследовательных дней на каждой из 3 площадок исследования. Анализ внутри площадки выполняли для трех площадок всего на 540 сравнениях с большинством.	NPA 93,1 % (89,2–96,5 %) PPA 98,2 % (96,4–99,6 %) OA 95,7 % (93,7–97,6 %)
Между наблюдателями	CPS $\geq$ 1	Все 68 образцов рака желудка (36 PD-L1-отрицательных и 32 PD-L1-положительных) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1, окрашенных с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами, по 1 на каждой из 3 площадок исследования, в течение 3 непоследовательных дней. Анализ между площадками выполняли между тремя площадками всего на 612 сравнениях с большинством.	NPA 96,6 % (92,9–99,4 %) PPA 96,5 % (93,1–99,3 %) OA 96,6 % (94,0–98,7 %)
У одного наблюдателя	CPS $\geq$ 1	Все 68 образцов рака желудка (36 PD-L1-отрицательных и 32 PD-L1-положительных) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1, окрашенных с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами, по 1 на каждой из 3 площадок исследования, в течение 3 непоследовательных дней. Анализ у одного наблюдателя выполняли для трех площадок всего на 612 сравнениях с большинством.	NPA 97,2 % (94,8–99,1 %) PPA 97,2 % (94,8–99,3 %) OA 97,2 % (95,3–98,9 %)

NPA — отрицательная процентная согласованность; PPA — положительная процентная согласованность; OA — общая процентная согласованность; CPS — комбинированный показатель позитивности.

16.5 Оценка клинической эффективности: аденокарцинома желудка и гастроэзофагеального перехода (ГЭП)

Эффективность препарата КИТРУДА была исследована в рамках исследования KEYNOTE 059 (KN059) — многоцентрового, нерандомизированного, открытого, многокогортного испытания, включавшего 259 пациентов с аденокарциномой желудка или гастроэзофагеального перехода, которые прошли не менее двух предварительных системных терапий прогрессирующего заболевания⁶. В предыдущее лечение должна была быть включена двухкомпонентная химиотерапия препаратами фторпиримидина и платины. Пациенты с положительным HER2 статусом должны были предварительно пройти утвержденную анти-HER2-терапию. Пациенты с активными аутоиммунными заболеваниями, с заболеваниями, требующими иммуносупрессии, или с клиническим

подтверждением асцитов по результатам физического осмотра были признаны непригодными.

Пациенты получали препарат КИТРУДА 200 мг каждые 3 недели до недопустимой токсичности или прогрессирования заболевания, которое было симптоматическим, быстро прогрессирующим, требующим срочного вмешательства, происходившим с ухудшением общего состояния или было подтверждено по меньшей мере 4 недели спустя при повторном сканировании. Пациенты без прогрессирования заболевания проходили лечение в течение 24 месяцев. Оценка состояния опухоли проводилась каждые 6–9 недель. Значимые итоговые показатели эффективности включали ОЧО в соответствии с RECIST 1.1, оцененные с помощью слепой независимой централизованной оценки и длительностью ответа.

Уровень экспрессии PD-L1 для биопсийных или резекционных образцов опухолевой ткани 259 пациентов (167 архивных и 90 новополученных образцов (см. определение в таблице 24) был определен с использованием набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Уровень экспрессии PD-L1 для двух образцов не оценивался. В общей сложности у 58 % (148/257) пациентов были опухоли, которые экспрессировали PD-L1 с комбинированным показателем позитивности (CPS) ≥ 1 . Семьдесят три процента (66/90) пациентов, опухоли которых были новополученными для PD-L1-тестирования, и 49 % (82/167) пациентов, чьи архивные образцы опухоли были протестированы, экспрессировали PD-L1 при CPS ≥ 1 (таблица 24).

Таблица 24. Экспрессия PD-L1 в опухоли по типу образца

Опухолевая ткань	Экспрессия PD-L1 (CPS ≥ 1) n (%)	Отсутствие экспрессии PD-L1 (CPS < 1) n (%)
Общее исследование n = 257 (%)	148 (58)	109 (42)
Архивные образцы ткани* n = 167	82 (49)	85 (51)
Вновь полученные образцы ткани* n = 90	66 (73)	24 (27)

*В рамках клинических испытаний KN059 вновь полученная биопсия была определена как образец, полученный за 6 недель (42 дня) до начала лечения в 1-й день (цикл 1) препаратом КИТРУДА и без дополнительной противоопухолевой терапии после получения образца. Образцы, которым было >42 дней, классифицировались как архивные.

Из 148 пациентов с экспрессией PD-L1 при CPS ≥ 1 , 143 пациента оценивались, как имеющие статус опухоли — как опухоли с микросателлитной стабильностью стабильный микросателлит (MSS), либо неопределенный статус MSI или MMR. Основными характеристиками 143 пациентов были: медианный возраст 64 года (47 % в возрасте 65 лет и старше); 77 % мужчин; 82 % европеоидной и 11 % монголоидной расы; с общим состоянием по шкале ECOG 0 (43 %) и 1 (57 %). Восемьдесят пять процентов имели заболевание M1, а 7 % — заболевание M0. Пятьдесят один процент имели два, а 49 % имели три или более предшествующих курсов терапии в случаях рецидива или терапии метастатических форм рака.

Для 143 пациентов с экспрессией PD-L1 ($CPS \geq 1$), ОЧО составила 13,3 % (95 % ДИ: 8,2, 20,0); 1,4 % имели полный ответ и 11,9 % имели частичный ответ. В группе 19 пациентов с положительными ответами на терапию продолжительность такого ответа варьировалась от 2,8+ до 19,4+ месяцев. При этом у 11 пациентов (58 %) ответ сохранялся на протяжении 6 месяцев и более, а у 5 пациентов (26 %) — 12 месяцев и более.

16.6 Оценка доклинической эффективности: рак шейки матки, включая смешанный плоскоклеточный рак

Были проведены доклинические исследования по набору реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx на образцах тканей рака шейки матки человека, фиксированных в формалине и залитых парафином (FFPE). В эти серии образцов доклинического исследования в дополнение к плоскоклеточному раку шейки матки также были включены образцы плоскоклеточного рака из вульвы, анальных и слюнных желез. Эти дополнительные типы рака были также включены в исследование KEYNOTE 158 компании «Мерк». Доклинические исследования включали в себя аналитическую валидацию, исследование стабильности и исследования внешней воспроизводимости.

Чувствительность/специфичность: рак шейки матки

Чувствительность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx была проанализирована на 100 образцах рака шейки матки (стадия I–IV), фиксированных в формалине и залитых парафином (FFPE). Оценка экспрессии PD-L1 продемонстрировала окрашивание в диапазоне CPS 0–100. Около 74 % образцов рака шейки матки имели экспрессию PD-L1, экспрессия определялась при $CPS \geq 1$.

Прецизионность: рак шейки матки, включая плоскоклеточный рак

Прецизионность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в раке шейки матки была оценена в компании «Аджилент Текнолоджис, Инк.» с использованием плоскоклеточного рака сквозных клеток (SQ) из вульвы, цервикальной, анальной и слюнной желез. В комбинированной прецизионности проводились исследования между приборами, между операторами, между днями и между лотами. Повторяемость исследовалась внутри цикла прецизионности. Прецизионность между наблюдателями и у одного наблюдателя также была оценена. Отрицательная процентная согласованность (NPA), положительная процентная согласованность (PPA) и общая процентная согласованность (OA) были рассчитаны с двусторонними доверительными интервалами 95 % в соответствии с методом Уилсона для порогового значения $CPS \geq 1$.

Таблица 25. Прецизионность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в раке шейки матки (включая плоскоклеточный рак), испытанного на одной площадке ($CPS \geq 1$)

Исследование прецизионности	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
Комбинированная прецизионность гистологической подгруппы плоскоклеточной карциномы (между	$CPS \geq 1$	Все 36 образцов плоскоклеточного рака (17 PD-L1-отрицательных и 19 PD-L1-положительных; 24 образца рака шейки матки (13 PD-L1-отрицательных и 11 PD-L1-положительных)) с диапазоном экспрессии PD-L1 тестировались с	NPA 100,0 % (94,9–100,0 %) PPA 98,9 % (93,9–99,8 %) OA 99,4 % (96,5–99,9 %)

Исследование прецизионности	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
приборами, между операторами, между лотами, между днями)		использованием 3 станций иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48», 4 операторов, 3 лотов наборов, в течение 3 непоследовательных дней.	
Гистологическая подгруппа плоскоклеточной карциномы — прецизионность внутри цикла (повторяемость)	$CPS \geq 1$	Все 24 образца плоскоклеточного рака (12 PD-L1-отрицательных и 12 PD-L1-положительных; 18 образцов рака шейки матки (12 PD-L1 отрицательных и 6 PD-L1 положительных)) с диапазоном ИГХ экспрессии PD-L1 тестировались в 5 повторностях за один цикл с использованием станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48».	NPA 100,0 % (93,8–100,0 %) PPA 98,3 % (91,1–99,7 %) OA 99,2 % (95,4–99,9 %)
Прецизионность между наблюдателями гистологической подгруппы плоскоклеточной карциномы	$CPS \geq 1$	Все 52 образца плоскоклеточного рака (22 PD-L1-отрицательных и 30 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1, окрашенные с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами в течение 3 непоследовательных дней.	NPA 98,4 % (95,5–99,5 %) PPA 98,9 % (96,8–99,6 %) OA 98,7 % (97,2–99,4 %)
Гистологическая подгруппа плоскоклеточной карциномы — прецизионность у одного наблюдателя	$CPS \geq 1$	Все 52 образца плоскоклеточного рака (22 PD-L1-отрицательных и 30 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1, окрашенные с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами в течение 3 непоследовательных дней.	NPA 97,9 % (94,8–99,2 %) PPA 99,6 % (97,9–99,9 %) OA 98,9 % (97,5–99,5 %)

NPA — отрицательная процентная согласованность; PPA — положительная процентная согласованность; OA — общая процентная согласованность; CPS — комбинированный показатель позитивности.

Прецизионность: рак шейки матки

Прецизионность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx при раке шейки матки оценивали в компании «Аджилент Текнолоджис, Инк.». В комбинированной прецизионности проводились исследования между приборами, между операторами, между днями и между лотами. Повторяемость исследовалась внутри цикла прецизионности. Прецизионность между наблюдателями и у одного наблюдателя также была оценена. Отрицательная процентная согласованность (NPA), положительная процентная согласованность (PPA) и общая процентная согласованность (OA) были рассчитаны с двусторонними доверительными интервалами 95 % в соответствии с методом Уилсона для порогового значения $CPS \geq 1$.

Таблица 26. Прецизионность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в раке шейки матки, испытанного на одной площадке (CPS ≥ 1)

Исследование прецизионности	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
Рак шейки матки, комбинированная прецизионность (между приборами, между операторами, между лотами, между днями)	CPS ≥ 1	Каждый из 24 образцов рака шейки матки (13 PD-L1-положительных и 11 PD-L1-отрицательных) с диапазоном экспрессии PD-L1 тестировались с использованием 3 станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48», 4 операторов, 3 лотов наборов, в течение 3 непоследовательных дней.	NPA 100,0 % (92,4–100,0 %) PPA 97,6 % (87,4–99,6 %) OA 98,9 % (93,8–99,8 %)
Рак шейки матки — прецизионность внутри цикла (повторяемость)	CPS ≥ 1	Все 18 образцов рака шейки матки (12 PD-L1-отрицательных и 6 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ экспрессии PD-L1 тестировались в 5 повторностях в рамках одного цикла с использованием станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48».	NPA 100,0 % (93,8–100,0 %) PPA 100,0 % (88,6–100,0 %) OA 100,0 % (95,8–100,0 %)
Рак шейки матки — прецизионность между наблюдателями	CPS ≥ 1	Каждый из 21 образца рака шейки матки (8 PD-L1-отрицательных и 13 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1, окрашенного с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, оценивали 3 патоморфолога в течение 3 непоследовательных дней.	NPA 100,0 % (94,9–100,0 %) PPA 99,1 % (95,3–99,8 %) OA 99,5 % (97,1–99,9 %)
Рак шейки матки — прецизионность у одного наблюдателя	CPS ≥ 1	Каждый из 21 образца рака шейки матки (8 PD-L1-отрицательных и 13 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1, окрашенного с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, оценивали 3 патоморфолога в течение 3 непоследовательных дней.	NPA 100,0 % (94,9–100,0 %) PPA 99,1 % (95,3–99,8 %) OA 99,5 % (97,1–99,9 %)

NPA — отрицательная процентная согласованность; PPA — положительная процентная согласованность; OA — общая процентная согласованность; CPS — комбинированный показатель позитивности.

Внешняя воспроизводимость: рак шейки матки, включая плоскоклеточный рак

Воспроизводимость набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx была оценена на трех сторонних площадках с использованием плоскоклеточного рака (SQ) из шейки матки, вульвы, анальных и слюнных желез. Отрицательная процентная согласованность (NPA), положительная процентная согласованность (PPA) и общая процентная согласованность (OA) были рассчитаны с двусторонними доверительными интервалами 95 % в соответствии с методом Уилсона для порогового значения CPS ≥ 1 .

Таблица 27. Воспроизводимость набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в раке шейки матки (включая плоскоклеточный рак), испытанного на трех сторонних площадках (CPS $\geq$ 1)

Исследование воспроизводимости	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
Между площадками	CPS $\geq$ 1	Все 40 образцов плоскоклеточного рака (20 PD-L1-отрицательных и 20 PD-L1-положительных, n = 25 рака шейки матки) с диапазоном ИГХ экспрессии PD-L1 тестировались в течение 5 непоследовательных дней. Анализ между площадками выполняли между тремя площадками всего на 600 сравнениях с большинством.	NPA 96,7 % (94,0–98,2 %) PPA 98,3 % (96,2–99,3 %) OA 97,5 % (95,9–98,5 %)
Внутри площадки	CPS $\geq$ 1	Все 40 образцов плоскоклеточного рака (20 PD-L1-отрицательных и 20 PD-L1-положительных, n = 25 рака шейки матки) с диапазоном ИГХ экспрессии PD-L1 тестировались в течение 5 непоследовательных дней. Анализ внутри площадки выполняли для трех площадок всего на 600 сравнениях с большинством.	NPA 98,3 % (96,1–99,3 %) PPA 98,4 % (96,2–99,3 %) OA 98,3 % (97,0–99,1 %)
Между наблюдателями	CPS $\geq$ 1	Все 49 образцов плоскоклеточного рака (23 PD-L1-отрицательных и 26 PD-L1-положительных) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1, окрашенных с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами, по одному на каждой из 3 площадок исследования, в течение 3 непоследовательных дней. Анализ между наблюдателями выполняли между тремя площадками всего на 441 сравнениях с большинством.	NPA 96,1 % (92,6–98,0 %) PPA 99,1 % (96,9–99,8 %) OA 97,7 % (95,9–98,8 %)
У одного наблюдателя	CPS $\geq$ 1	Все 49 образцов плоскоклеточного рака (23 PD-L1-отрицательных и 26 PD-L1-положительных) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1, окрашенных с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами, по одному на каждой из 3 площадок исследования, в течение 3 непоследовательных дней. Анализ у одного наблюдателя выполняли для трех площадок всего на 441 сравнении с большинством.	NPA 97,5 % (94,4–98,9 %) PPA 99,2 % (97,0–99,8 %) OA 98,4 % (96,8–99,2 %)

NPA — отрицательная процентная согласованность; PPA — положительная процентная согласованность; OA — общая процентная согласованность; CPS — комбинированный показатель позитивности.

Внешняя воспроизводимость: рак шейки матки

Воспроизводимость набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx оценивали на трех независимых площадках. Отрицательная процентная согласованность (NPA), положительная процентная согласованность (PPA) и общая процентная согласованность

(ОА) были рассчитаны с двусторонними доверительными интервалами 95 % в соответствии с методом Уилсона для порогового значения $CPS \geq 1$.

Таблица 28. Воспроизводимость набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в раке шейки матки, испытанного на трех сторонних площадках ($CPS \geq 1$)

Исследование воспроизводимости	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
Между площадками	$CPS \geq 1$	Все 25 образцов рака шейки матки (13 PD-L1-отрицательный и 12 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ экспрессии PD-L1 тестировались в течение 5 непоследовательных дней. Анализ между площадками выполняли между тремя площадками всего на 375 сравнениях с большинством.	NPA 98,5 % (95,6–99,5 %) PPA 98,3 % (95,2–99,4 %) ОА 98,4 % (96,6–99,3 %)
Внутри площадки	$CPS \geq 1$	Все 25 образцов рака шейки матки (13 PD-L1-отрицательный и 12 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ экспрессии PD-L1 тестировались в течение 5 непоследовательных дней. Анализ внутри площадки выполняли для трех площадок всего на 375 сравнениях с большинством.	NPA 98,5 % (95,6–99,5 %) PPA 98,3 % (95,2–99,4 %) ОА 98,4 % (96,6–99,3 %)
Между наблюдателями	$CPS \geq 1$	Все 34 образца рака шейки матки (16 PD-L1-отрицательных и 18 PD-L1-положительных) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1, окрашенных с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами, по одному на каждой из 3 площадок исследования, в течение 3 непоследовательных дней. Анализ между наблюдателями выполняли между тремя площадками всего на 306 сравнениях с большинством.	NPA 97,2 % (93,1–98,9 %) PPA 98,8 % (95,6–99,7 %) ОА 98,0 % (95,8–99,1 %)
У одного наблюдателя	$CPS \geq 1$	Все 34 образца рака шейки матки (16 PD-L1-отрицательных и 18 PD-L1-положительных) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1, окрашенных с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами, по одному на каждой из 3 площадок исследования, в течение 3 непоследовательных дней. Анализ у одного наблюдателя выполняли для трех площадок всего на 306 сравнениях с большинством.	NPA 97,9 % (94,1–99,3 %) PPA 99,4 % (96,6–99,9 %) ОА 98,7 % (96,7–99,5 %)

NPA — отрицательная процентная согласованность; PPA — положительная процентная согласованность; ОА — общая процентная согласованность; CPS — комбинированный показатель позитивности.

16.7 Оценка клинической эффективности: рак шейки матки

Эффективность препарата КИТРУДА была исследована на 98 пациентах с рецидивирующим или метастатическим раком шейки матки, включенных в единую когорту

(когорты E) в многоцентровом, нерандомизированном, открытом, многокогортном исследовании KEYNOTE 158 (NCT02628067)^{7,8}. В исследование не были включены пациенты с аутоиммунными заболеваниями или заболеваниями, требующими иммуносупрессии.

Пациенты получали препарат КИТРУДА внутривенно в дозе 200 мг каждые 3 недели до неприемлемой токсичности или зарегистрированного прогрессирования заболевания. Пациенты с первоначальным рентгенологическим подтверждением прогрессирования заболевания могут получать дополнительные дозы лечения во время подтверждения прогрессирования, если только прогрессирование заболевания не является симптоматическим, быстро прогрессирующим, не требует срочного вмешательства или не происходит с ухудшением общего состояния. Пациенты без прогрессирования заболевания могли проходить лечение в течение 24 месяцев. Оценка состояния опухоли проводилась каждые 9 недель в течение первых 12 месяцев, а затем каждые 12 недель. Значимые итоговые показатели эффективности включали ОЧО в соответствии с RECIST 1.1, оцененные с помощью слепой независимой централизованной оценки и длительностью ответа.

Среди 98 пациентов в когорте E, 77 (79 %) имели опухоли, которые экспрессировали PD-L1 с CPS ≥ 1 и получили по крайней мере один курс химиотерапии в терапии метастатических форм рака. Статус PD-L1 был определен с использованием набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Основными характеристиками 77 пациентов были: медианный возраст 45 лет (диапазон: 27–75 лет); 81 % европеоидной, 14 % монголоидной и 3 % негроидной расы; Общее состояние по шкале ECOG 0 (32 %) или 1 (68 %); 92 % плоскоклеточный рак, 6 % аденокарцинома и 1 % железисто-плоскоклеточная гистология; 95 % заболевание M1 и 5 % рецидив заболевания; 35 % с одним курсом и 65 % с двумя или более предшествующими курсами терапии в случаях рецидива или терапии метастатических форм рака.

У пациентов, опухоли которых экспрессировали PD-L1 (CPS < 1) ответа на терапию не наблюдалось.

Обобщенные результаты исследования эффективности представлены в таблице 29.

Таблица 29. Результаты исследования эффективности в когорте E исследования KEYNOTE 158 (CPS ≥ 1)

Конечная точка	n = 77*
Частота объективного ответа	
ОЧО (95 % ДИ)	14,3 % (7,4, 24,1)
Процент пациентов с полным объективным ответом	2,6 %
Процент пациентов с частичным объективным ответом	11,7 %
Длительность ответа	
Медиана в месяцах (диапазон)	NR (4,1, 18,6+) [†]
% с длительностью ≥ 6 месяцев	91 %

*Медиана времени наблюдения 11,7 месяцев (диапазон 0,6–22,7 месяцев).

[†]На основе данных о пациентах (n = 11) с ответом независимым анализом.

+Означает текущее.

NR = не достигнуто.

16.8 Оценка доклинической эффективности: уротелиальная карцинома

Доклинические исследования были проведены на образцах уротелиальной карциномы, фиксированных в формалине и залитых парафином (FFPE).

Чувствительность/специфичность: уротелиальная карцинома

Чувствительность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDX была протестирована на 104 образцах уротелиальной карциномы (стадии III–IV), фиксированных в формалине и залитых парафином (FFPE), с использованием лота выпускаемой продукции. Оценка экспрессии PD-L1 показала окрашивание в диапазоне CPS 0–100, где 37 % образцов имели экспрессию PD-L1 с CPS ≥ 10 . Один образец не оценивался из-за интенсивного фонового окрашивания.

Прецизионность: уротелиальная карцинома

Прецизионность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx оценивали в компании «Аджилент Текнолоджис, Инк.». В комбинированной прецизионности проводились исследования между приборами, между операторами, между днями и между лотами. В исследованиях прецизионности отрицательная процентная согласованность (NPA), положительная процентная согласованность (PPA) и общая процентная согласованность (OA) были рассчитаны с двусторонними доверительными интервалами 95 % с использованием перцентильного метода множественной выборки для порогового значения CPS ≥ 10 , как показано в таблице 30.

Таблица 30. Прецизионность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в уротелиальной карциноме, испытанного на одной площадке (CPS ≥ 10)

Исследование прецизионности	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
Комбинированная прецизионность (между операторами, между приборами, между днями и между лотами в виде комбинации переменных)	CPS ≥ 10	Все 46 образцов уротелиальной карциномы (26 PD-L1-отрицательных и 20 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1 тестировались 3 операторами с использованием 3 станций иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48» в течение 3 последовательных дней с использованием 3 лотов наборов реагентов.	NPA 96,2 % (92,3–100,0 %) PPA 98,3 % (95,0–100,0 %) OA 97,1 % (94,2–99,3 %)
Прецизионность внутри цикла* (повторяемость)	CPS ≥ 10	Все 32 образца уротелиальной карциномы (17 PD-L1-отрицательных и 15 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1 тестировались в 5 повторностях за один цикл с использованием станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48».	NPA 100,0 % (95,7–100,0 %)* PPA 96,0 % (92,0–100,0 %) OA 98,1 % (96,2–100,0 %)
Прецизионность между наблюдателями	CPS ≥ 10	Все 60 образцов уротелиальной карциномы (28 PD-L1-отрицательных и 32 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ экспрессии PD-L1, окрашенных с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены тремя патоморфологами в течение трех последовательных дней.	NPA 95,2 % (90,3–99,2 %) PPA 94,1 % (89,9–97,6 %) OA 94,6 % (91,4–97,4 %)

Исследование прецизионности	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
Прецизионность у одного наблюдателя	CPS $\geq$ 10	Все 60 образцов уротелиальной карциномы (28 PD-L1-отрицательных и 32 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ экспрессии PD-L1, окрашенных с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены тремя патоморфологами в течение трех не последовательных дней.	NPA 96,8 % (94,3–99,2 %) PPA 96,5 % (94,1–98,6 %) OA 96,7 % (94,8–98,3 %)

NPA — отрицательная процентная согласованность; PPA — положительная процентная согласованность; OA — общая процентная согласованность; CPS — комбинированный показатель позитивности.

*Перцентильный метод множественной выборки не может рассчитать доверительный интервал при согласованности 100,0 %, поэтому доверительные интервалы для отрицательной процентной согласованности (NPA) по прецизионности внутри цикла были рассчитаны по методу оценки Уилсона. Следует отметить, что метод оценки Уилсона имеет ограничения, поскольку он предполагает независимость данных. Поскольку один образец обеспечивает более одного сравнения с большинством, данные не являются независимыми.

Внешняя воспроизводимость: уротелиальная карцинома

Воспроизводимость набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx оценивали на трех независимых площадках. Отрицательная процентная согласованность (NPA), положительная процентная согласованность (PPA) и общая процентная согласованность (OA) были рассчитаны с двусторонними доверительными интервалами 95 % с использованием перцентильного метода множественной выборки для порогового значения CPS $\geq$ 1.

Таблица 31. Воспроизводимость набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в уротелиальной карциноме, испытанного на трех сторонних площадках (CPS $\geq$ 10)

Исследование воспроизводимости	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
Между площадками	CPS $\geq$ 10	Все 36 образцов уротелиальной карциномы (20 PD-L1-отрицательных и 16 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ экспрессии PD-L1 тестировались в течение 5 не последовательных дней. Анализ между площадками выполняли между тремя площадками всего на 539 сравнениях с большинством.	NPA 94,0 % (87,7–99,3 %) PPA 84,6 % (77,1–91,7 %) OA 89,8 % (85,0–94,1 %)
Внутри площадки	CPS $\geq$ 10	Все 36 образцов уротелиальной карциномы (20 PD-L1-отрицательных и 16 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ экспрессии PD-L1 тестировались в течение 5 не последовательных дней на каждой из 3 площадок исследования. Анализ внутри	NPA 96,2 % (92,9–98,8 %) PPA 95,0 % (92,4–97,4 %) OA 95,7 % (93,5–97,6 %)

		площадки выполняли для трех площадок всего на 539 сравнениях с большинством.	
Между наблюдателями	CPS $\geq$ 10	Все 60 образцов уротелиальной карциномы (29 PD-L1-отрицательных и 31 PD-L1-положительный) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1, окрашенных с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами, по одному на каждой из 3 площадок исследования, в течение 3 не последовательных дней. Анализ между наблюдателями выполняли между тремя площадками всего на 540 сравнениях с большинством.	NPA 97,3 % (94,3–99,6 %) PPA 90,7 % (86,4–94,6 %) OA 93,9 % (91,3–96,3 %)
У одного наблюдателя	CPS $\geq$ 10	Все 60 образцов уротелиальной карциномы (29 PD-L1-отрицательных и 31 PD-L1-положительный) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1, окрашенных набором реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами, по 1 на каждой из 3 площадок исследования, в течение 3 не последовательных дней. Анализ у одного наблюдателя выполняли для трех площадок всего на 540 сравнениях с большинством.	NPA 95,7 % (93,8–97,8 %) PPA 96,1 % (93,6–98,3 %) OA 95,9 % (94,3–97,4 %)

NPA — отрицательная процентная согласованность; PPA — положительная процентная согласованность; OA — общая процентная согласованность; CPS — комбинированный показатель позитивности.

16.9 Оценка клинической эффективности: уротелиальная карцинома

Эффективность препарата КИТРУДА была изучена в рамках исследования KEYNOTE 052 (NCT02335424) — многоцентрового открытого однорангового исследования с участием 370 пациентов с местнораспространенной или метастатической уротелиальной карциномой, которые не подходили для проведения химиотерапии на основе цисплатина⁹. В исследование не были включены пациенты с аутоиммунными заболеваниями или заболеваниями, требующими иммуносуппрессии.

Пациенты получали препарат КИТРУДА 200 мг каждые 3 недели до недопустимой токсичности или прогрессирования заболевания. Пациенты с первоначальным рентгенологическим подтверждением прогрессирования заболевания могут получать дополнительные дозы лечения во время подтверждения прогрессирования, если только прогрессирование заболевания не является симптоматическим, быстро прогрессирующим, не требует срочного вмешательства или не происходит с ухудшением общего состояния. Пациенты без прогрессирования заболевания могли проходить лечение в течение 24 месяцев. Оценки ответа опухоли проводились через 9 недель после первой дозы, затем каждые 6 недель в течение первого года, а затем каждые 12 недель. Значимые итоговые показатели эффективности включали ОЧО в соответствии с RECIST 1.1, оцененные независимым радиологическим наблюдательным комитетом и длительностью ответа.

Статус PD-L1 был определен с использованием набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Данные по первым 100 включенным пациентам, обучающая выборка, были использованы для определения порога отсечки $CPS \geq 10$. Данные по оставшимся 270 пациентам, контрольная выборка, были использованы для клинической валидации порога отсечки $CPS \geq 10$.

Среди 370 пациентов, 30 % ($n = 110$) имели опухоли, которые экспрессировали PD-L1 с $CPS \geq 10$, статус PD-L1 был неизвестен для 9 пациентов. Основными характеристиками этих пациентов были: медианный возраст 73 года, 68 % мужчин и 88 % европеоидной расы. Восемьдесят два процента имели заболевание M1, а 18 % — заболевание M0. У 81 % пациентов была первичная опухоль в нижнем отделе, а у 18 % пациентов первичная опухоль в верхнем отделе. Семьдесят шесть процентов пациентов имели метастазы во внутренние органы, в том числе 11 процентов с метастазами печени. Причинами невосприимчивости к цисплатину были: 45 % с исходным клиренсом креатинина <60 мл/мин, у 37 % общее состояние по шкале ECOG 2, 10 % с состоянием по ECOG 2 и исходным клиренсом креатинина <60 мл/мин и 8 % с другими причинами (сердечная недостаточность класса III, периферическая невропатия — 2 или выше, и вторая степень или степень потери слуха — 2 или выше). Девяносто процентов пациентов ранее не получали лечение и 10 % получали предшествующую адъювантную или неоадъювантную химиотерапию на основе препаратов платины.

Среди 270 пациентов в контрольной выборке, 30 % ($n = 80$) имели опухоли, которые экспрессировали PD-L1 с $CPS \geq 10$. Основными характеристиками этих пациентов были: медианный возраст 72 года, 68 % мужчин и 86 % европеоидной расы. Семьдесят один процент имели заболевание M1, а 26 % — заболевание M0. У 79 % пациентов была первичная опухоль в нижнем отделе, а у 20 % пациентов первичная опухоль в верхнем отделе. Семьдесят восемь процентов пациентов имели метастазы во внутренние органы, в том числе 8 % с метастазами в печени. Причинами невосприимчивости к цисплатину были: 41 % с исходным клиренсом креатинина <60 мл/мин, у 43 % общее состояние по шкале ECOG 2, у 11 % общее состояние по шкале ECOG 2 и исходным клиренсом креатинина <60 мл/мин и 5 % с другими причинами (сердечная недостаточность класса III, периферическая невропатия — 2 или выше, и вторая степень или степень потери слуха — 2 или выше). Девяносто процентов пациентов ранее не получали лечение и 10 % получали предшествующую адъювантную или неоадъювантную химиотерапию на основе препаратов платины.

Обобщенные результаты исследования эффективности представлены в таблице 32.

Таблица 32. Результаты исследования эффективности KN052

Конечная точка	$CPS < 10$ в контрольной выборке ($N = 185$)	$CPS \geq 10$ в валидации выборка ($N = 80$)
Частота объективного ответа *		
ОЧО (95 % ДИ)	22 % (16, 28)	51 % (40, 63)
Процент пациентов с полным объективным ответом	2 %	16 %

Процент пациентов с частичным объективным ответом	20 %	35 %
Длительность ответа		
Медиана в месяцах (диапазон)	9,7 (1,4+ - 11,0+)	NR (1,4+ - 11,1+)

+Означает текущее.

NR = не достигнуто; *исключены пациенты с неизвестным статусом PD-L1.

KEYNOTE-361 (NCT02853305) представляет собой текущее, многоцентровое, рандомизированное исследование ранее не получавших лечение пациентов с метастатической уротелиальной карциномой, которые не подходят для проведения химиотерапии на основе препаратов платины. В исследовании сравнивается препарат КИТРУДА с или без химиотерапии на основе препаратов платины (например, цисплатин или карбоплатин с гемцитабином) только с химиотерапией на основе препаратов платины. В испытание также была включена третья группа монотерапии препаратом КИТРУДА для сравнения только с химиотерапией на основе препаратов платины. Независимый комитет по мониторингу данных (iDMC) исследования, провел обзор ранних данных и обнаружил, что у пациентов, классифицированных как имеющие экспрессию PD-L1 CPS < 10, те, кто проходил монотерапию препаратом КИТРУДА, снизился показатель выживаемости по сравнению с теми, кто получал химиотерапию на основе препаратов платины. Независимый комитет по мониторингу данных рекомендовал прекратить дальнейшее включение пациентов с экспрессией PD-L1 CPS < 10 в группу монотерапии, однако других изменений рекомендовано не было, включая любые изменения терапии для пациентов, которые уже были рандомизированы и проходили лечение в группе монотерапии.

16.10 Оценка доклинической эффективности: ТНРМЖ

Доклинические исследования были проведены на образцах ТНРМЖ, фиксированных в формалине и залитых парафином (FFPE).

Чувствительность/специфичность: ТНРМЖ

Чувствительность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDX была протестирована на 112 образцах ТНРМЖ (стадии I–IV), фиксированных в формалине и залитых парафином (FFPE), с использованием лота выпускаемой продукции. Оценка экспрессии PD-L1 показала окрашивание в диапазоне CPS 0–100, где 30 % образцов имели экспрессию PD-L1 с CPS ≥ 10.

Прецизионность: ТНРМЖ

Прецизионность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx оценивали в компании «Аджилент Текнолоджис, Инк.». В комбинированной прецизионности проводились исследования между приборами, между операторами, между днями и между лотами. В исследованиях прецизионности отрицательная процентная согласованность (NPA), положительная процентная согласованность (PPA) и общая процентная согласованность (OA) были рассчитаны с двусторонними доверительными интервалами 95 %, используя метод множественной выборки для порогового значения CPS ≥ 10, как показано в таблице 33.

Таблица 33. Прецизионность набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в ТНРМЖ, испытанного на одной площадке (CPS $\geq$ 10)

Исследование прецизионности	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
Комбинированная прецизионность* (между операторами, между приборами, между днями и между лотами в виде комбинации переменных)	CPS $\geq$ 10	Все 33 образца ТНРМЖ (21 PD-L1-отрицательный и 12 PD-L1-положительный) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1 тестировались 3 операторами с использованием 3 станций иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48» в течение 3 непоследовательных дней с использованием 3 лотов наборов реагентов.	NPA 100,0 % (94,3–100,0 %)* PPA 100,0 % (90,4–100,0 %)* OA 100,0 % (96,3–100,0 %)*
Прецизионность внутри цикла* (повторяемость)	CPS $\geq$ 10	Все 33 образца ТНРМЖ (16 PD-L1-отрицательных и 17 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ экспрессии PD-L1 тестировались в 5 повторностях в рамках одного цикла с использованием станции иммуногистохимического окрашивания «Автостейнер Линк 48».	NPA 100,0 % (95,4–100,0 %)* PPA 94,0 % (86,9–100,0 %) OA 96,9 % (93,3–100,0 %)
Прецизионность между наблюдателями	CPS $\geq$ 10	Все 48 образцов ТНРМЖ (31 PD-L1-отрицательный и 17 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1, окрашенные с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, оценивались 3 патоморфологами в течение 3 непоследовательных дней.	NPA 93,2 % (87,5–97,8 %) PPA 92,2 % (85,6–97,4 %) OA 92,8 % (88,4–96,8 %)
Прецизионность одного наблюдателя	CPS $\geq$ 10	Все 48 образцов ТНРМЖ (31 PD-L1-отрицательный и 17 PD-L1-положительных) с диапазоном ИГХ-экспрессии PD-L1, окрашенные с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, оценивались 3 патоморфологами в течение 3 непоследовательных дней.	NPA 98,5 % (97,0–99,6 %) PPA 94,5 % (90,9–98,0 %) OA 97,0 % (95,4–98,6 %)

NPA — отрицательная процентная согласованность; PPA — положительная процентная согласованность; OA — общая процентная согласованность; CPS — комбинированный показатель позитивности.

*Перцентильный метод множественной выборки не может рассчитать доверительный интервал при согласованности 100 %, поэтому доверительные интервалы для комбинированной прецизионности и прецизионности внутри цикла были рассчитаны по методу оценки Уилсона, когда наблюдалась согласованность 100,0 %. Следует отметить, что метод оценки Уилсона имеет ограничения, поскольку он предполагает независимость данных. Поскольку один образец обеспечивает более одного сравнения с большинством, данные не являются независимыми.

Внешняя воспроизводимость: ТНРМЖ

Воспроизводимость набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx оценивали на трех независимых площадках. Отрицательная процентная согласованность (NPA), положительная процентная согласованность (PPA) и общая процентная согласованность (ОА) были рассчитаны с двусторонними доверительными интервалами 95 %, используя метод множественной выборки.

Таблица 34. Воспроизводимость набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в ТНРМЖ, испытанного на трех сторонних площадках (CPS $\geq$ 10)

Исследование воспроизводимости	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
Между площадками	CPS $\geq$ 10	Все 40 образцов ТНРМЖ (19 PD-L1-отрицательных и 21 PD-L1-положительный) с диапазоном ИГХ экспрессии PD-L1 тестировались в течение 5 непоследовательных дней. Анализ внутри площадки выполняли для трех площадок всего на 600 сравнениях с большинством.	NPA 93,0 % (85,3–100,0 %) PPA 92,1 % (86,3–97,1 %) ОА 92,5 % (87,8–96,7 %)
Внутри площадки	CPS $\geq$ 10	Все 40 образцов ТНРМЖ (19 PD-L1-отрицательных и 21 PD-L1-положительный) с диапазоном ИГХ экспрессии PD-L1 тестировались в течение 5 непоследовательных дней на каждой из 3 площадок исследования. Анализ внутри площадки выполняли для трех площадок всего на 600 сравнениях с большинством.	NPA 97,1 % (94,3–99,3 %) PPA 94,4 % (90,0–98,1 %) ОА 95,7 % (92,7–98,2 %)
Между наблюдателями	CPS $\geq$ 10	Все 60 образцов ТНРМЖ (26 PD-L1-отрицательных и 34 PD-L1-положительных) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1, окрашенных с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами, по одному на каждой из 3 площадок исследования, в течение 3 непоследовательных дней. Анализ между наблюдателями выполняли между тремя площадками всего на 540 сравнениях с большинством.	NPA 97,0 % (93,6–100,0 %) PPA 95,4 % (91,2–98,7 %) ОА 96,1 % (93,3–98,5 %)
У одного наблюдателя	CPS $\geq$ 10	Все 60 образцов ТНРМЖ (26 PD-L1-отрицательных и 34 PD-L1-положительных) с ИГХ-диапазоном экспрессии PD-L1, окрашенных с помощью набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, были оценены 3 патоморфологами, по одному на каждой из 3 площадок исследования, в течение 3 непоследовательных дней. Анализ у одного наблюдателя выполняли	NPA 98,7 % (96,6–100,0 %) PPA 96,7 % (94,6–98,7 %) ОА 97,6 % (96,1–98,9 %)

Исследование воспроизводимости	Диагностически значимые результаты	Проект исследования	% согласованности (95 % ДИ)
		для трех площадок всего на 540 сравнениях с большинством.	

NPA — отрицательная процентная согласованность; PPA — положительная процентная согласованность; OA — общая процентная согласованность; CPS — комбинированный показатель позитивности.

16.11 Оценка клинической эффективности: ТНРМЖ

Эффективность препарата КИТРУДА в комбинации с паклитакселом, паклитакселом, связанным с белком, или гемцитабином и карбоплатином, была изучена в рамках исследования KEYNOTE-355 (NCT02819518) — многоцентрового, двойного слепого, рандомизированного, плацебо-контролируемого исследования, проведенного у 847 пациентов с местно-рецидивирующим нерезектабельным или метастатическим ТНРМЖ, независимо от экспрессии PD-L1 в опухоли, которые ранее не получали химиотерапию при наличии метастаз¹⁰. Пациенты с активными аутоиммунными заболеваниями, которым требовалась системная терапия в течение 2 лет после лечения, или с заболеваниями, требующими иммуносупрессии, не включались в исследование. Рандомизация была стратифицирована на основании химиотерапевтического лечения (паклитаксел или паклитаксел, связанный с белками, против гемцитабина и карбоплатина), экспрессии PD-L1 в опухоли (CPS ≥ 1 против CPS < 1) в соответствии с результатами, полученными при помощи набора реагентов PD-L1 IHC 22C3 PharmDx и предшествующего лечения тем же классом химиотерапии в неоадьювантной терапии (да или нет). Согласно заранее заданному плану анализа, популяция анализа исследования включала популяции пациентов с экспрессией PD-L1 в опухоли CPS ≥ 1 и CPS ≥ 10 .

Пациенты были рандомизированы (2:1) в одну из следующих групп лечения; все исследуемые препараты вводились внутривенно:

- КИТРУДА 200 мг в 1-й день каждые 3 недели в сочетании с паклитакселом, связанным с белками 100 мг/м² в 1, 8 и 15 дни каждые 28 дней, паклитакселом 90 мг/м² в 1, 8 и 15 дни каждые 28 дней или гемцитабином 1000 мг/м² и карбоплатином со средней концентрацией в моче 2 мг/мл/мин в дни 1 и 8 каждый 21 день;
- плацебо в 1-й день каждые 3 недели в сочетании с паклитакселом, связанным с белком, 100 мг/м² в дни 1, 8 и 15 каждые 28 дней, паклитакселом 90 мг/м² в дни 1, 8 и 15 каждые 28 дней или гемцитабином 1000 мг/м² и карбоплатином со средней концентрацией в моче 2 мг/мл/мин в дни 1 и 8 каждый 21 день.

Оценка статуса опухоли проводилась на 8, 16 и 24 неделе, затем каждые 9 недель в течение первого года и каждые 12 недель в дальнейшем. Основным критерием эффективности результата была ВБПЗ, оцененная с помощью BICR в соответствии с RECIST, вер. 1.1, модифицированная для отслеживания максимум 10 целевых очагов поражения и максимум 5 целевых очагов на каждый орган, протестированных в подгруппе пациентов с CPS ≥ 10 . Дополнительными показателями эффективности были ОБ, а также ОЧО и ДО (длительность ответа), оцененные с помощью BICR.

Характеристики исследуемой популяции пациентов были следующими: медианный возраст 53 года (диапазон: от 22 до 85), 21 % возраста 65 лет и старше; 100 % женский пол; 68 % представителей европеоидной расы, 21 % — монголоидной, и 4 % — негроидной; общее состояние по шкале ECOG 0 — 60 %, и 40 % — по шкале ECOG 1; 68 % находились в постменопаузальном периоде. Семьдесят пять процентов пациентов имели экспрессию PD-L1 в опухоли при CPS ≥ 1 и 38 % имели экспрессию P-DL1 в опухоли при CPS ≥ 10 .

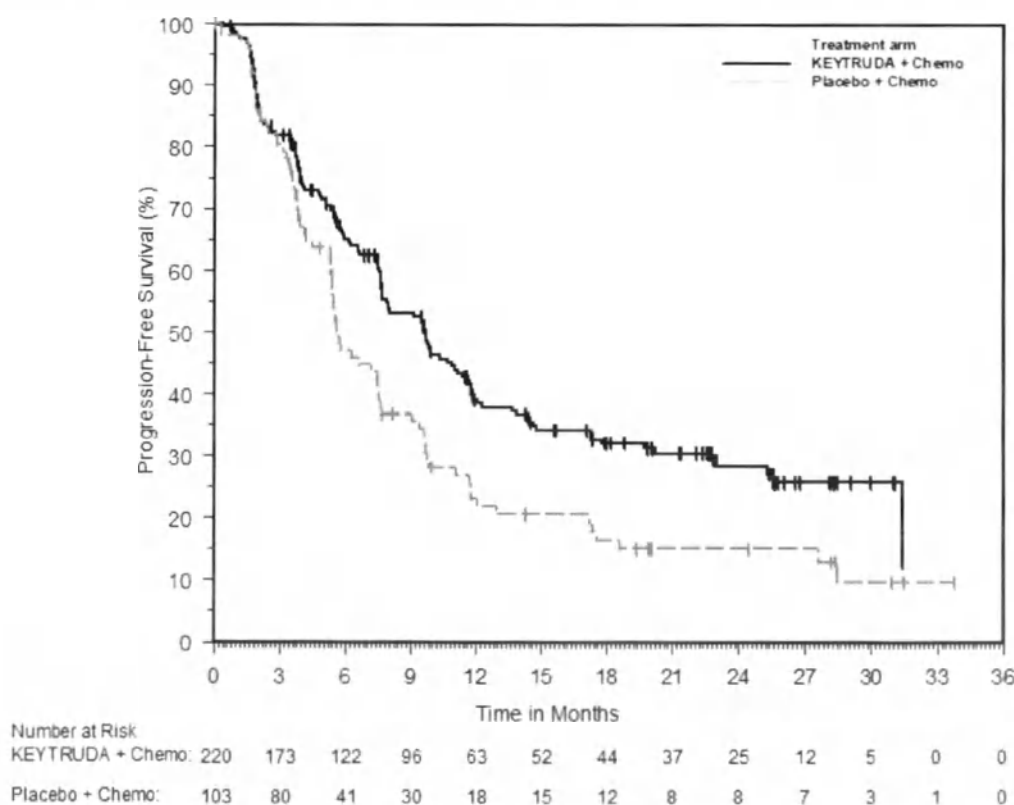
В таблице 35 и на рисунке 4 представлены обобщенные результаты исследования эффективности KEYNOTE-355.

Таблица 35. Результаты эффективности KEYNOTE-355 (CPS ≥ 10)

Конечная точка	КИТРУДА 200 мг каждые 3 недели с химиотерапией n = 220	Плацебо каждые 3 недели с химиотерапией n = 103
ВБПЗ		
Количество пациентов с явлениями (%)	136 (62 %)	79 (77 %)
Медиана в месяцах (95 % ДИ)	9,7 (7,6, 11,3)	5,6 (5,3, 7,5)
Соотношение рисков* (95 % ДИ)	0,65 (0,49, 0,86)	
p-значение [†]	0,0012	
ОЧО		
Частота объективных подтвержденных ответов (95 % ДИ)	53 % (46, 60)	40 % (30, 50)
Процент пациентов с полным объективным ответом	17 %	13 %
Процент пациентов с частичным объективным ответом	36 %	27 %
ДО (длительность ответа)		
Медиана в месяцах (95 % ДИ)	19,3 (9,9, 29,8)	7,3 (5,3, 15,8)

* На основании стратификации на основании модели регрессии Кокса.

[†] Одностороннее p-значение на основании стратификации по логранговому критерию.



Progression-Free Survival (%)

Treatment arm

KEYTRUDA + Chemo

Placebo + Chemo

Time in Months

Выживаемость без прогрессирования заболевания (%)

Группа лечения

КИТРУДА + химиотерапия

Плацебо + химиотерапия

Время в месяцах

Рисунок 4. Кривая Каплана-Мейера по выживаемости без прогрессирования- в исследовании KEYNOTE-355 (CPS $\geq$ 10).

19. Диагностика и устранение неисправностей

Таблица 36. Диагностика и устранение неисправностей

Проблема	Вероятная причина	Предлагаемое действие
1. Отсутствие окрашивания предметных стекол	1a. Ошибка программирования.	1a. Проверить, что для программирования предметных стекол была выбрана программа PD-L1 IHC 22C3 pharmDx.
	1b. Отсутствие реакции раствора Раствор ДАБ + субстрат-хромоген: ДАБ+ хромоген (DAB+ Chromogen)+ ДАБ+ забуференный субстрат (DAB+ Substrate Buffer)	1b. Проверить, что раствор ДАБ+ субстрат-хромоген был правильно подготовлен.
	1c. Азид натрия в промывном буфере.	1c. Использовать только промывной буфер Dako (№ каталогу K8007).
	1d. Разрушение предметного стекла с контрольными клеточными линиями	1d. Проверить срок годности и условия хранения набора на внешней стороне упаковки.
2. Слабое окрашивание предметных стекол с образцом	2a. Использован неподходящий метод фиксации.	2a. Убедиться в использовании фиксатора (только нейтральный забуференный формалин) и методов фиксации.
	2b. Применен недостаточный объем реагента.	2b. Проверить применение размера среза ткани и объема реагента.
	2c. Использован несоответствующий промывной буфер.	2c. Использовать только промывной буфер Dako (№ каталогу K8007).
3. Слабое окрашивание предметных стекол с образцом или положительной контрольной линией на контрольном предметном стекле, предоставленном с набором	3a. Недостаточная демаскировка.	3a. Проверить правильность выполнения процедуры предварительной обработки 3 в 1.
	3b. Использован несоответствующий промывной буфер.	3b. Использовать только промывной буфер Dako (№ каталогу K8007).
4. Избыточное фоновое окрашивание предметных стекол	4a. Не полностью удален парафин.	4a. Проверить правильность выполнения процедуры предварительной обработки 3 в 1.
	4b. Предметные стекла высохли во время загрузки на станцию иммуногистохимического окрашивания "Автостейнер Линк 48"	4b. Убедиться в том, что предметные стекла остаются увлажненными буфером во время загрузки и перед началом цикла.
	4c. Неспецифическое связывание реагентов со срезом ткани.	4c. Проверить надлежащую фиксацию образца и (или) присутствие некроза.
	4d. Использован неподходящий метод фиксации.	4d. Убедиться в использовании фиксатора (только нейтральный забуференный формалин) и рекомендуемых методов фиксации.

Проблема	Вероятная причина	Предлагаемое действие
5. Ткань отделилась от предметных стекол	5a. Использование неподходящих предметных стекол для микроскопа.	5a. Использовать предметные стекла для микроскопа Dako FLEX IHC (№ каталогу K8020) или предметные стекла с положительно заряженным покрытием Superfrost Plus.
	5b. Ненадлежащая подготовка образцов	5b. Фрагменты срезов необходимо поместить в термостат при температуре $58^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ на 1 час до окрашивания.
6. Избыточно сильное специфическое окрашивание	6a. Использован неподходящий метод фиксации.	6a. Удостовериться, что используются одобренные фиксаторы и методы фиксации.
	6b. Использован несоответствующий промывной буфер.	6b. Использовать только промывной буфер Dako (№ каталогу K8007).
7. Мутный раствор для демаскировки при нагревании	7. При нагревании раствор для демаскировки мутнеет.	7. Это нормальное явление и не влияет на окрашивание.
8. 1x раствор для демаскировки антигена не соответствует требованиям к pH	8a. Неправильная калибровка устройства для измерения pH.	8a. Убедитесь, что измеритель уровня pH калиброван согласно рекомендациям производителя. После повторной калибровки повторите измерение pH 1x раствора для демаскировки антигена. Не меняйте pH 1x раствора для демаскировки антигена. Если pH выходит за пределы приемлемого диапазона ($6,1 \pm 0,2$), 1x раствор для демаскировки антигена следует выбросить. Приготовьте новый 1x раствор для демаскировки антигена. Проверьте pH нового 1x раствора для демаскировки антигена.
	8b. Для разведения концентрата раствора для демаскировки используется вода ненадлежащего качества.	8b. Убедитесь, что для приготовления 1x раствора для демаскировки антигена используется дистиллированная или деионизированная вода.
	8c. Использование неправильного раствора для демаскировки.	8c. Убедитесь, что используется правильный раствор для демаскировки, указанный в разделе «Необходимые, но не поставляемые материалы» и (или) «Приготовление реагентов».

ПРИМЕЧАНИЕ: если проблему нельзя связать ни с одной из вышеуказанных причин или предложенные корректирующие меры не разрешают проблему необходимо обратиться за помощью в службу технической поддержки компании «Аджилент Текнолоджис, Инк.». Дополнительную информацию о методиках окрашивания и подготовке образцов можно найти в обучающем руководстве «Иммуногистохимические методы окрашивания»¹⁵ (имеющемся у компании «Аджилент Текнолоджис, Инк.»).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- (1) Garon, E. B.; Rizvi, N. A.; Hui, R.; et al. Pembrolizumab for the Treatment of Non-Small-Cell Lung Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2015**, 372 (21), 2018–2028.
- (2) Keytruda® Package Insert.
- (3) Mok, T. S. K.; Wu, Y. L.; Kudaba, I.; et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for Previously Untreated, PD-L1-Expressing, Locally Advanced or Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer (KEYNOTE-042): A Randomised, Open-Label, Controlled, Phase 3 Trial. *Lancet* **2019**, 393 (10183), 1819–1830.
- (4) Reck, M.; Rodriguez-Abreu, D.; Robinson, A. G.; et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer (KEYNOTE-024). *N. Engl. J. Med.* **2016**, 375 (19), 1823–1833.
- (5) Herbst, R. S.; Baas, P.; Kim, D. W.; et al. Pembrolizumab versus Docetaxel for Previously Treated, PD-L1-Positive, Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer (KEYNOTE-010): A Randomised Controlled Trial. *Lancet* **2016**, 387 (10027), 1540–1550.

- (6) Fuchs, C. S.; Doi, T.; Jang, R. W.; et al. Safety and Efficacy of Pembrolizumab Monotherapy in Patients with Previously Treated Advanced Gastric and Gastroesophageal Junction Cancer: Phase 2 Clinical KEYNOTE-059 Trial. *JAMA Oncol.* **2018**, *4* (5).
- (7) Chung, H. C.; Schellens, J. H. M.; Delord, J.-P.; et al. Pembrolizumab Treatment of Advanced Cervical Cancer: Updated Results from the Phase 2 KEYNOTE-158 Study. *J. Clin. Oncol.* **2018**, *36* (15), 5522–5522.
- (8) Schellens, J. H. M.; Marabelle, A.; Zeigenfuss, S.; et al. Pembrolizumab for Previously Treated Advanced Cervical Squamous Cell Cancer: Preliminary Results from the Phase 2 KEYNOTE-158 Study. *J. Clin. Oncol.* **2017**, *35* (15), 5514–5514.
- (9) Balar, A. V.; Castellano, D.; O'Donnell, P. H.; et al. First-Line Pembrolizumab in Cisplatin-Ineligible Patients with Locally Advanced and Unresectable or Metastatic Urothelial Cancer (KEYNOTE-052): A Multicentre, Single-Arm, Phase 2 Study. *Lancet Oncol.* **2017**, *18* (11), 1483–1492.
- (10) Cortes, J.; Cescon, D.W.; Rugo, H.S.; et al. KEYNOTE-355: Randomized, double-blind, phase III study of pembrolizumab + chemotherapy versus placebo + chemotherapy for previously untreated locally recurrent inoperable or metastatic triple-negative breast cancer [abstract]. In *ASCO*; 2020.
- (11) Phelps, R. M.; Johnson, B. E.; Ihde, D. C.; et al. NCI-Navy Medical Oncology Branch Cell Line Data Base. *J. Cell. Biochem.* **1996**.
- (12) CLSI. Preparation and testing of reagent water in the clinical laboratory: Approved guideline – fourth edition. CLSI document GP40-A4-AMD. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
- (13) Finklea, J. Explosive Azide Hazard- Procedures For The Decontamination Of Plumbing Systems Containing Copper And/Or Lead Azides. *DHHS* **1976**, 78–127.
- (14) Callihan, D.; Gile, T.; Beavis, K.; et al. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline—Fourth Edition (M29-A4). *M29-A4* **2014**, *34* (8).
- (15) Taylor, C.; Rudbeck, L. Education Guide: Immunohistochemical Staining Methods. Sixth Edition. **2013**.
- (16) Current CAP Guidelines <https://www.cap.org/protocols-and-guidelines/current-cap-guidelines>.
- (17) Hewitt, S.; Robinowitz, M.; Bogen, S.; et al. Quality Assurance for Design Control and Implementation of Immunohistochemistry Assays, CLSI Document, 2nd Edition. *I/LA28-A2* **2011**, *31* (4).
- (18) Omata, M.; Liew, C. T.; Ashcavai, M.; et al. 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.
- (19) Okazaki, T.; Honjo, T. PD-1 and PD-1 Ligands: From Discovery to Clinical Application. *Int. Immunol.* **2007**, *19* (7), 813–824.
- (20) Brown, J. A.; Dorfman, D. M.; Ma, F.-R.; et al. Blockade of Programmed Death-1 Ligands on Dendritic Cells Enhances T Cell Activation and Cytokine Production. *J. Immunol.* **2003**, *170* (3), 1257–1266.
- (21) Cooper, W. A.; Tran, T.; Vilain, R. E.; et al. PD-L1 Expression Is a Favorable Prognostic Factor in Early Stage Non-Small Cell Carcinoma. *Lung Cancer* **2015**, *89* (2), 181–188.
- (22) Chen, B. J.; Chapuy, B.; Ouyang, J.; et al. PD-L1 Expression Is Characteristic of a Subset of Aggressive B-Cell Lymphomas

Инструкция доступна в электронном виде на сайте www.agilent.com

[Перевод с английского языка на русский язык]

**Штат Калифорния
Секретарь Штата**

Настоящее свидетельство не является действительным для использования на территории Соединенных Штатов Америки, их территорий и владений.

АПОСТИЛЬ

(Гаагская Конвенция от 05 октября 1961 г.)

1. Страна: Соединенные Штаты Америки
Настоящий официальный документ
2. подписан Д. К. Пикардом,
3. выступающим в качестве нотариуса штата Калифорния,
4. скреплен печатью/штампом Д. К. Пикарда, нотариуса штата Калифорния.

Удостоверено

5. в г. Сакраменто, штат Калифорния
6. 08 декабря 2023 г.
7. Секретарем штата, штат Калифорния
8. за № 69289
9. Печать/штамп: [Большая печать штата Калифорния]
10. Подпись: /подпись/

[Печать Управления Секретаря штата]

Настоящий апостиль удостоверяет только подлинность подписи и полномочия лица, подписавшего официальный документ, и, когда это необходимо, подлинность печати или штампа, скрепляющих официальный документ.

Настоящий апостиль не удостоверяет содержание прилагаемого документа, для которого он выдан.

Для проверки факта выдачи настоящего апостиля см. apostille-search.sos.ca.gov/.

Настоящее свидетельство не является апостилем в соответствии с Гаагской конвенцией от 05 октября 1961 г., если предъявляется в стране, которая не является членом конвенции. В таких случаях свидетельство следует предъявить в консульский отдел представительства данной страны.

Форма Секретаря штата NP-40 SAC (ред. сентябрь 2019 г.)

[На бланке компании «Аджилент Текнолоджис, Инк.»]

«Аджилент Текнолоджис, Инк.»
(Agilent Technologies, Inc.)
5301 Стивенс Крик Бульвар
Санта Клара, Калифорния 95051
(5301 Stevens Creek Blvd.
Santa Clara, CA 95051)

Инструкция по применению

Для предъявления по месту требования,

Прилагаемый документ является Инструкцией по применению на медицинское изделие «Набор реагентов для иммуногистохимического анализа по определению белка PD-L1 в тканях человека (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx)»

/подпись/

Ребекка М. Родарте
Нормативно-правовое регулирование

27 ноября 2023 г.

Дата

Нотариус или иное должностное лицо, заполняющее данное удостоверение, удостоверяет только личность лица, подписавшего документ, к которому прилагается настоящее удостоверение, и не подтверждает достоверность, точность или действительность упомянутого документа.

Штат Калифорния
Округ Вентура

Подписано под присягой (или подтверждено) в моем присутствии сегодня 27 ноября 2023 г. Ребеккой М. Родарте, подтвердившей мне на основании убедительных доказательств, что она является лицом, явившимся ко мне.

[Штамп:

Мэри Кристин Грэхэм
Нотариус — Калифорния
Округ Вентура
Лицензия № 2285768

Моя лицензия действительна до 19 апреля 2025 г.]

(печать)

Подпись /подпись/

[На бланке компании Аджилент Дако]

[Далее следует текст документа «Инструкция по применению в отношении изделия „Набор реагентов для иммуногистохимического анализа по определению белка PD-L1 в тканях человека (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx)“», представленном на русском языке.]

Руководитель программы нормативно-правового регулирования – CDx

Алиша Миллер

/подпись/

01 ноября 2023 г.

**ИСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ/
INSTRUCTIONS FOR USE**

Набор реагентов для иммуногистохимического анализа по определению
белка PD-L1 в тканях человека (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx)/

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx

 Перевод данного текста выполнен переводчиком Кинах Валентиной Петровной.

Российская Федерация

Город Москва

Двадцатого декабря две тысячи двадцать третьего года

Я, Квитко Федор Александрович, нотариус города Москвы, свидетельствую подлинность подписи переводчика Кинах Валентины Петровны.

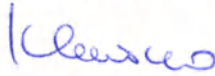
Подпись сделана в моём присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре: № 62/137-н/77-2023-72-585

Уплачено за совершение нотариального действия: 400 руб. 00 коп.





Ф.А. Квитко

Всего прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью 89 лист(а)(ов)

Нотариус

