

«СОГЛАСОВАНО»

Заместитель генерального директора по

медицинской части

ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им А.И. Бурназяна ФМБА

России,

Юрий Дмитриевич Удалов

2018г.

М.П.



Федеральным государственным бюджетным учреждением «Государственным научным центром Российской Федерации - Федеральным медицинским биофизическим центром имени А.И. Бурназяна» СОГЛАСОВАНА инструкция по применению (v1.0) для МИ «Peаgent 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 иммуноштейнерам автоматическим серии Ventana BenchMark», производства «Roche Diagnostics GmbH», Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim, Germany.



Beglaubigte
Abschrift

КОПИЯ



Ventana PD-L1 (SP263) Assay

V1.0

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

(INSTRUCTION FOR USE)

НА МЕДИЦИНСКОЕ ИЗДЕЛИЕ

Реагент 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», Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim, Germany

АДРЕС МЕСТА ПРОИЗВОДСТВА МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

«Ventana Medical Systems, Inc.», 1910 E. Innovation Park Drive, Tucson, AZ 85755 USA

Approved by

Roche Diagnostics GmbH

Date: November 27, 2017

Name of Responsible Person

Andrea Weber

Project Manager Global Regulatory Affairs

Stamp

Roche Diagnostics GmbH

Sandhofer Straße 116
68305 Mannheim

2017

Анализ VENTANA PD-L1 (SP263) Assay

REF 741-4905

07419821001

IVD 50

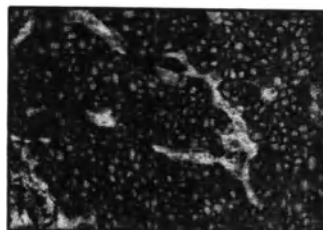


Рис. 1. Немелкоклеточный рак легкого, окрашенный с помощью VENTANA PD-L1 (SP263) Assay.

окрашивания VENTANA BenchMark Series.

Экспрессия PD-L1 в мембране опухолевых клеток (TC), определяемая при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay в клетках NSCLC, позволяет определить пациентов для терапии препаратом KEYTRUDA® (pembrolizumab).

Экспрессия PD-L1 в мембране опухолевых клеток (TC), определяемая при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay в клетках NSCLC, может быть связана с улучшенной выживаемостью на фоне лечения препаратом OPDIVO® (nivolumab). Интерпретацию результатов должен выполнять квалифицированный патоморфолог с учетом результатов гистологического исследования и необходимых клинических данных после сравнения с соответствующими контролями.

Данные антитела предназначены для диагностики *in vitro* (IVD).

Анализ предназначен для определения пациентов с NSCLC, которым терапия может принести пользу, как это показано в таблице 1.

Табл.1. Метод терапии и связанные показания

Показание	Терапия	Экспрессия PD-L1 — показание терапии
NSCLC	KEYTRUDA®	≥ 50 % TC — первая линия
		≥ 1 % TC — вторая линия
	OPDIVO®	≥ 1 %, ≥ 5 % и ≥ 10 % TC — вторая линия

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ИНФОРМАЦИЯ

VENTANA PD-L1 (SP263) Assay представляет собой иммуногистохимический анализ, при котором используются антитела rabbit monoclonal primary antibody anti-PD-L1 (VENTANA PD-L1 (SP263)) для обнаружения белка programmed death-ligand 1 (PD-L1), который является гомологом 1 белка B7 (B7-H1, CD274).

PD-L1 является трансмембранным белком, который регулирует иммунные реакции по принципу отрицательной обратной связи путем связывания с рецепторами programmed death-1 (PD-1) и B7-1 (CD80) ¹. PD-1 представляет собой ингибиторный рецептор, который экспрессируется на Т-лимфоцитах после активации Т-лимфоцитов, стабильно присутствующей при состояниях постоянной стимуляции, таких как хроническая инфекция или рак ². Связывание PD-L1 с PD-1 подавляет пролиферацию Т-лимфоцитов, продукцию цитокинов и цитолитическую активность, что приводит к функциональной инактивации или истощению Т-клеток. CD80 — молекула, которая экспрессируется на антигенпредставляющих клетках и активированных Т-лимфоцитах. Связывание PD-L1 с CD80 на Т-лимфоцитах и антигенпредставляющих клетках может способствовать понижающей регуляции иммунных ответов, включая ингибирование активации Т-лимфоцитов и выработки

цитокинов ³. Экспрессия PD-L1 наблюдалась в иммунных клетках и опухолевых клетках ^{4,5}. Было выявлено, что aberrantная экспрессия PD-L1 на опухолевых клетках препятствует функционированию противоопухолевого иммунитета, приводя к ускользанию от механизмов иммунологического надзора ^{2,5}. Таким образом, прерывание метаболического пути PD-L1/PD-1 представляет собой перспективную стратегию укрепления опухолеспецифического Т-клеточного иммунитета, подавляемого экспрессией PD-L1 в опухолевом микроокружении.

PD-L1 экспрессируется при широком диапазоне видов рака, включая рак легких, меланому, рак уротелия, рак яичников и колоректальный рак. Было выявлено, что распространенность экспрессии PD-L1 колеблется от 12 % до 100 % в зависимости от типа опухоли, анти-PD-L1 клон и порогового значения положительности ⁶.

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

VENTANA PD-L1 (SP263) Assay использует антитело rabbit monoclonal primary antibody, которое связывается с PD-L1 в залитых парафином тканевых срезах. Специфическое антитело можно визуализировать с использованием диагностического набора OptView DAB IHC Detection Kit (№ по каталогу: 760-700/06396500001). См. соответствующие листки-вкладыши к набору для обнаружения OptView DAB IHC Detection Kit.

РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

VENTANA PD-L1 (SP263) Assay содержит количество реагента, достаточное для проведения 50 тестов.

Один дозатор VENTANA PD-L1 (SP263) Assay объемом 5 мл содержит приблизительно 8,05 мкг кроличьих моноклональных антител.

Антитела разведены в 0,05 M Tris-HCl с 1 % белка-носителя и 0,10 % ProClin 300 в качестве консерванта.

Общая концентрация белка в реагенте составляет примерно 10 мг/мл. Концентрация специфических антител составляет приблизительно 1,61 мкг/мл. Неспецифической реактивности антител у данного продукта не обнаружено.

VENTANA PD-L1 (SP263) Assay представляет собой рекомбинантное кроличье моноклональное антитело, полученное из супернатанта очищенной клеточной культуры.

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

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ МАТЕРИАЛЫ

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

Для окрашивания могут потребоваться следующие реагенты и материалы, не входящие в комплект поставки.

1. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (номер по каталогу: 790-4795/06683380001)
2. Предметные стекла для микроскопа (с положительным зарядом)
3. Этикетки со штрих-кодами (соответствующие реагенту для отрицательного контроля и используемому первичному антителу)
4. Ксилол (гистологической степени очистки)
5. Этанол или спиртосодержащий реагент (гистологической степени очистки)
 - 100%-й раствор: неразбавленный этанол или спиртосодержащий реагент.
 - 95%-й раствор: смешать 95 частей этанола или спиртосодержащего реагента с 5 частями деионизированной воды.
 - 80%-й раствор: смешать 80 частей этанола или спиртосодержащего реагента с 20 частями деионизированной воды.
6. Деионизированная или дистиллированная вода
7. OptView DAB IHC Detection Kit (номер по каталогу: 760-700/06396500001)
8. EZ Prep Concentrate (10X) (номер по каталогу: 950-102/0527971001)
9. Reaction Buffer Concentrate (10X) (номер по каталогу: 950-300/05353955001)

- ULTRA LCS (Predilute) (номер по каталогу: 650-210/05424534001)
- LCS (Predilute) (номер по каталогу: 650-010/05264839001)
- ULTRA Cell Conditioning Solution (CC1) (номер по каталогу: 950-224/05424569001)
- Cell Conditioning Solution (CC1) (номер по каталогу: 950-124/05279801001)
- Hematoxylin II Counterstain (номер по каталогу: 790-2208/05277665001)
- Bluing Reagent (номер по каталогу: 760-2037/05266769001)
- Перманентная заклеивающая среда (Permount Fisher, номер по каталогу: SP15-500; или эквивалентная)
- Покровное стекло (достаточное для помещения образцов ткани под стекло, такое как VWR; номер по каталогу: 48393-060)
- Автоматическое устройство для заклеивания препаратов покровными стеклами (такое как Tissue-Tek SCA Automated Coverslipper)
- Световой микроскоп
- Гигроскопические салфетки

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

ХРАНЕНИЕ

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

Для обеспечения надлежащей сохранности реагента и стабильности антител после каждого использования необходимо закрывать флакон-дозатор крышкой и сразу ставить его в холодильник в вертикальном положении.

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

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

При использовании набора для обнаружения OptiView DAB IHC Detection Kit и приборов автоматизированного окрашивания препаратов VENTANA BenchMark XT, VENTANA BenchMark GX и VENTANA BenchMark ULTRA данные первичные антитела можно использовать со стандартно обработанными, фиксированными формалином и залитыми в парафин тканями. На основании исследования тканей плаценты и миндалин, экспрессирующих PD-L1, в качестве фиксатора тканей рекомендуется 10%-й нейтральный забуференный формалин (NBF) в течение от минимум 6 до 72 часов. При времени фиксации не менее 6 часов приемлемыми фиксаторами для использования с VENTANA PD-L1 (SP263) Assay являются цинк-формалин и Z-5. Прочие фиксаторы, включая 95%-й спирт, AFA и PREFER, непригодны для использования с анализом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay. Используемое количество фиксатора составляет от 15 до 20 объемов ткани.

Фиксация может выполняться при комнатной температуре (15–25 °C)⁷. Дальнейшее обсуждение воздействия подготовки образца на окрашивание PD-L1 с помощью VENTANA PD-L1 (SP263) Assay приведено в Руководстве по интерпретации (номер по каталогу 1015317EN для NSCLC).

Необходимо получить срезы толщиной 4–5 мкм и нанести их на положительно заряженные предметные стекла. Препараты следует быстро окрасить, поскольку антигенные свойства тканевых срезов могут уменьшаться со временем и ухудшаться после среза с парафинового блока (таблица 2).

Табл.2. Стабильность тканевых срезов

Тип ткани	Максимальный срок хранения (при 2–8 °C или 15–30 °C)
NSCLC	12 месяцев
Образцы плаценты	9 месяцев

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Для диагностики *in vitro* (IVD).
- Только для профессионального использования.
- В данном реагенте в качестве консерванта используется раствор ProClin 300. Он относится к раздражающим средствам и при контакте с кожей может стать причиной сенсибилизации. При работе с реагентом соблюдайте все разумные

меры предосторожности. Избегайте попадания реагентов в глаза, на кожу и слизистые оболочки. Используйте защитную одежду и перчатки.

- Материалы человеческого или животного происхождения следует считать биологически опасными материалами и утилизировать, соблюдая все необходимые меры предосторожности.
- Избегайте контакта реагентов с глазами или слизистыми оболочками. При попадании реагентов на чувствительные участки промойте эти участки достаточным количеством воды.
- Не допускайте микробного загрязнения реагентов, поскольку это может привести к получению неверных результатов.
- Проконсультируйтесь с местными и/или государственными органами в отношении рекомендованного способа утилизации.
- Дополнительная информация о безопасности содержится в паспорте безопасности продукта и руководстве по условным обозначениям и фразам риска на сайте www.ventana.com.
- Терапия препаратом KEYTRUDA может быть недоступна во всех регионах.
- Терапия препаратом OPDIVO может быть недоступна во всех регионах.

ПРОЦЕДУРА ОКРАШИВАНИЯ

VENTANA PD-L1 (SP263) Assay был разработан для использования с приборами автоматизированного окрашивания препаратов BenchMark ULTRA, BenchMark XT и BenchMark GX совместно с наборами для обнаружения и вспомогательными принадлежностями VENTANA. Рекомендованные протоколы окрашивания приведены в таблице 3.

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

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

Табл.3. Рекомендованный протокол окрашивания для VENTANA PD-L1 (SP263) Assay с набором для обнаружения OptiView DAB IHC Detection Kit на приборах серии BenchMark

Тип процедуры	Анализ ULTRA VENTANA PD-L1 (SP263) Assay Анализ XT VENTANA PD-L1 (SP263) Assay Анализ GX VENTANA PD-L1 (SP263) Assay
Этап протокола	Ввод параметров
Прогрев	Дополнительно
Антитела (первичные)	Выбрано VENTANA PD-L1 (SP263) или отрицательный контроль
Контрокрашивание	Hematoxylin II Counterstain, от 4 до 8 минут

ПРОЦЕДУРЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

Реагент для отрицательного контроля

Для облегчения интерпретации результатов необходимо использовать соответствующий микропрепарат для реагента для отрицательного контроля с каждым образцом. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig является соответствующим антителом для реагента для отрицательного контроля в данном анализе и используется вместо первичного антитела для оценки неспецифического окрашивания. Процедура окрашивания препарата с реагентом для отрицательного контроля должна соответствовать периоду окрашивания с первичным антителом. Использование другого реагента для отрицательного контроля или неиспользование

рекомендованного реагента отрицательного контроля может привести к неверной интерпретации окрашенного для анализа препарата.

Тканевый контроль

Тканевый контроль должен быть включен в каждый цикл окрашивания. Контрольная ткань должна быть моментально зафиксирована и обработана так же, как и в случае с тканями пациента. С помощью такой ткани можно контролировать все этапы анализа, начиная от подготовки ткани и заканчивая окрашиванием. Тканевый срез, зафиксированный или обработанный отличным от тканей пациента образом, можно использовать в качестве контроля для реагентов и окрашивания, но не для фиксации или подготовки ткани.

Квалифицированная нормальная человеческая плацентарная ткань может быть использована в качестве тканевого контроля для анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay. Плацентарная ткань содержит элементы с положительным и отрицательным окрашиванием для белка PD-L1, поэтому она подходит для использования в качестве тканевого контроля. Процедура надлежащего окрашивания компонентов плацентарной ткани описана в таблице 4 и в Руководстве по интерпретации (номер по каталогу 1015317EN для NSCLC).

Кроме того, ткани NSCLC, продемонстрировавшие гетерогенную интенсивность окрашивания с общей умеренной экспрессией PD-L1, также могут быть использованы в качестве тканевого контроля для анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay.

Если в тканевых контролях не определяется соответствующего окрашивания или наблюдается изменение в интерпретации, любые результаты для исследуемых образцов следует считать не подлежащими оценке и следует выполнить повторное окрашивание.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ОКРАШИВАНИЯ/ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

При проведении автоматической процедуры иммунного окрашивания VENTANA наблюдается выпадение коричневого осадка DAB в местах локализации антигена, обнаруженного VENTANA PD-L1 (SP263) Assay. Окрашенные препараты интерпретируются квалифицированным патоморфологом, использующим световой микроскоп. Перед интерпретацией полученных результатов тканевые контроли и окрашенный продукт должны быть оценены квалифицированным патоморфологом, имеющим опыт и владеющим процедурами IHC.

См. Руководство по интерпретации VENTANA PD-L1 (SP263) Assay для NSCLC (номер по каталогу 1015317EN), где приводятся характеристики и изображения.

Тканевый контроль плаценты

Плацентарная ткань, окрашенная с помощью VENTANA PD-L1 (SP263) Assay, демонстрирует однородное окрашивание мембраны клеток линии трофобласта от умеренного до выраженного и окрашивание цитоплазмы клеток линии трофобласта от слабого до выраженного. Стромальная ткань и сосудистая сеть плаценты могут быть использованы для оценки любого фонового окрашивания (таблица 4).

Табл.4. Критерии оценки тканевого контроля плаценты для анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay

Интерпретация	Описание окрашивания
Приемлемое	Однородное окрашивание мембраны клеток линии трофобласта от умеренного до выраженного; отсутствие окрашивания плацентарной стромы и сосудистой сети
Неприемлемое	Однородное окрашивание мембраны клеток линии трофобласта от отсутствия до слабого окрашивания и/или специфическое окрашивание плацентарной стромы и сосудистых структур

Реагент для отрицательного контроля

Неспецифическое окрашивание (при наличии) может иметь диффузный характер и может быть оценено с использованием микропрепарата с реагентом для отрицательного контроля, окрашенного Rabbit Monoclonal Negative Control Ig. Для интерпретации результатов окрашивания следует использовать интактные клетки, так как некротические и дегенеративные клетки часто окрашиваются неспецифично. Если наблюдается чрезмерное фоновое окрашивание, результаты для исследуемого образца считаются недостоверными.

Ткань пациента

Характер окрашивания с использованием реагента VENTANA PD-L1 (SP263) Assay в опухолевых клетках — мембранный и/или цитоплазматический. Клетки иммунной системы демонстрируют окрашивание линейно-мембранного, диффузно-цитоплазматического и/или точечного характера. Считается, что цитоплазматическое окрашивание опухолевых клеток, как и любое иммунное окрашивание клеток, при условии наличия такового, не является положительным фактором для целей оценки.

Опухолевые клетки (TC) оцениваются в процентах опухолевых клеток с окрашиванием мембраны PD-L1 любой интенсивности. Ткань пациента должна оцениваться в соответствии с алгоритмом оценивания анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay в разделе «Рабочие характеристики». Дополнительные инструкции и соответствующие изображения приведены в руководстве по интерпретации (номер по каталогу 1015317EN).

Алгоритм оценивания

Ткань NSCLC необходимо оценивать в соответствии с алгоритмом оценивания VENTANA PD-L1 (SP263)

Алгоритм оценивания анализа для NSCLC (таблица 5) и критерии оценивания неспецифического фона (таблица 6). Дополнительные инструкции и соответствующие изображения приведены в Руководстве по интерпретации (номер по каталогу 1015317EN).

Табл.5. Алгоритм оценивания для анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay.

Интерпретация PD-L1	Описание окрашивания
≥ 1 %	≥ 1 % опухолевых клеток с мембранной положительностью для PD-L1 в любой интенсивности выше фонового окрашивания, как указано в соответствующем отрицательном контроле.
< 1 %	< 1 % опухолевых клеток с мембранной положительностью для PD-L1 в любой интенсивности выше фонового окрашивания, как указано в соответствующем отрицательном контроле.
≥ 5 %	≥ 5 % опухолевых клеток с мембранной положительностью для PD-L1 в любой интенсивности выше фонового окрашивания, как указано в соответствующем отрицательном контроле.
< 5 %	< 5 % опухолевых клеток с мембранной положительностью для PD-L1 в любой интенсивности выше фонового окрашивания, как указано в соответствующем отрицательном контроле.
≥ 10 %	≥ 10 % опухолевых клеток с мембранной положительностью для PD-L1 в любой интенсивности выше фонового окрашивания, как указано в соответствующем отрицательном контроле.
< 10 %	< 10 % опухолевых клеток с мембранной положительностью для PD-L1 в любой интенсивности выше фонового окрашивания, как указано в соответствующем отрицательном контроле.
≥ 50 %	≥ 50 % опухолевых клеток с мембранной положительностью для PD-L1 в любой интенсивности выше фонового окрашивания, как указано в соответствующем отрицательном контроле.

Интерпретация PD-L1	Описание окрашивания
< 50 %	< 50 % опухолевых клеток с мембранной положительностью для PD-L1 в любой интенсивности выше фонового окрашивания, как указано в соответствующем отрицательном контроле.

Табл.6. Критерии оценки неспецифического фона для VENTANA PD-L1 (SP263) Assay

Интерпретация	Описание окрашивания
Приемлемое	Фон не препятствует интерпретации уровня экспрессии PD-L1.
Недопустимый результат	Фон препятствует интерпретации уровня экспрессии PD-L1.

ОСОБЫЕ ОГРАНИЧЕНИЯ

1. VENTANA PD-L1 (SP263) Assay был разработан для приборов для автоматического окрашивания BenchMark series с набором для обнаружения OptView DAB IHC Detection Kit и не предназначен для использования с другими приборами и инструментами.
2. Препарат образца пациента необходимо окрашивать с помощью реагента Rabbit Monoclonal Negative Control Ig. Другие реагенты для отрицательного контроля непригодны для использования в данном анализе.
3. Данный анализ не был валидирован для использования с цитологическими образцами или декальцифицированными костными образцами. Тестирование анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay при гипотермической ишемии с использованием модели тканей ксенотрансплантата с нулевого до 24-го часа не выявило каких-либо условий, которые неблагоприятно сказались бы на результате анализа.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Было проведено тестирование специфичности и чувствительности окрашивания, повторяемости, внутрилабораторной прецизионности, а также тестирование прецизионности эксперта, межлабораторной воспроизводимости и сравнительные исследования методик. Результаты представлены в следующих разделах.

Специфичность

Массивы, содержащие множество нормальных тканей, были окрашены при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay и оценены на предмет мембранного окрашивания PD-L1, как указано в Табл.7. Дополнительное окрашивание, например цитоплазматическое или иммунное, также указано (см. сноску таблицы 7).

Табл.7. Специфичность окрашивания VENTANA PD-L1 (SP263) Assay определялась путем тестирования при окрашивании фиксированных формалином и залитых в парафин здоровых тканей.

Ткань	Кол-во положительных случаев/общее кол-во случаев	Ткань	Кол-во положительных случаев/общее кол-во случаев
Надпочечник	0/3 *	Мезотелий	0/3 †
Мочевой пузырь	0/3	Миелоидная ткань (костный мозг)	0/4 *, †
Молочная железа	0/3	Нерв (тонкий)	0/3
Мозжечок	0/3	Яичник	0/3
Головной мозг	0/3	Поджелудочная железа	0/3 *

Ткань	Кол-во положительных случаев/общее кол-во случаев	Ткань	Кол-во положительных случаев/общее кол-во случаев
Шейка матки	0/3	Парацитарная железа	0/4
Толстый кишечник	0/3 †	Простата	0/3
Эндометрий	0/3	Слюнная железа	0/3 †
Пищевод	1/3 *, †	Скелетная мышца	0/3
Сердце	0/3	Кожа	0/4 §
Гипофиз	0/3 *, †	Селезенка	0/3 †
Тонкая кишка	0/3 †	Желудок	0/3 *, †
Почка	0/3 †	Яичко	0/3
Гортань	0/3 †	Тимус	0/3 †
Печень	0/3	Щитовидная железа	0/3 *, †
Легкое	0/3 †	Миндалины	3/3 †
Лимфоузлы	0/3 †		

Дополнительное наблюдавшееся окрашивание: * Цитоплазматическое окрашивание. † Окрашивание иммунных клеток. § Меланоцитарное окрашивание.

Процент IC, присутствующий выше фона, не может быть оценен в данном исследовании, так как отсутствует область опухоли, по которой возможна оценка инфильтрирующих опухоль иммунных клеток.

Чувствительность

Массив неопластических тканей был оценен на предмет окрашивания TC и IC с помощью анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay, как описано в таблице 8.

Табл.8. Чувствительность анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay определялась путем тестирования при окрашивании множества фиксированных формалином и залитых в парафин препаратов опухолевых тканей для любого окрашивания опухолевых клеток и иммунных клеток.

Происхождение	Патология	Кол-во положительных случаев/общее кол-во случаев	
		Опухолевые клетки	Иммунные клетки
Головной мозг	Глиобластома	0/1	1/1
Головной мозг	Атипичная менигиома	0/1	0/1
Головной мозг	Злокачественная эпендимома	0/1	1/1
Головной мозг	Олигодендроглиома	0/1	0/1
Яичник	Серозная аденокарцинома	0/1	1/1
Яичник	Аденокарцинома	0/1	0/1
Поджелудочная железа	Карцинома островковых клеток	1/1	0/1

Происхождение	Патология	Кол-во положительных случаев/общее кол-во случаев	
		Опухолевые клетки	Иммунные клетки
Поджелудочная железа	Аденокарцинома	0/1	1/1
Яичко	Семинома	0/1	0/1
Яичко	Эмбриональная карцинома	0/1	0/1
Щитовидная железа	Медуллярная карцинома	0/1	0/1
Щитовидная железа	Папиллярная карцинома	1/1	0/1
Молочная железа	Внутрипротоковая карцинома	0/1	1/1
Молочная железа	Инвазивная протоковая карцинома	0/2	0/2
Селезенка	Диффузная В-клеточная лимфома	0/1	1/1
Легкое	Недифференцированная мелкоклеточная карцинома	1/1	1/1
Легкое	Плоскоклеточная карцинома	1/1	1/1
Легкое	Аденокарцинома	0/1	0/1
Пищевод	Нейроэндокринная карцинома	0/1	0/1
Пищевод	Аденокарцинома	0/1	0/1
Желудок	Перстневидноклеточная карцинома	0/1	0/1
Стенка кишечника	Аденокарцинома	0/1	0/1
Стенка кишечника	Стромальная саркома	0/1	0/1
Толстый кишечник	Аденокарцинома	0/1	1/1
Толстый кишечник	Интерстициальная опухоль	0/1	0/1
Прямая кишка	Аденокарцинома	0/1	0/1
Прямая кишка	Злокачественная интерстициома умеренной степени дифференцировки	0/1	0/1
Печень	Гепатоцеллюлярная карцинома	0/1	0/1
Печень	Гепатобластома	0/1	0/1
Почка	Светлоклеточная карцинома	0/1	0/1

Происхождение	Патология	Кол-во положительных случаев/общее кол-во случаев	
		Опухолевые клетки	Иммунные клетки
Простата	Аденокарцинома	0/2	0/2
Матка	Лейомиома	0/1	0/1
Матка	Аденокарцинома	0/1	0/1
Матка	Светлоклеточная карцинома эндометрия	0/1	0/1
Шейка матки	Плоскоклеточная карцинома	0/2	2/2
Поперечно-полосатая мышца	Эмбриональная рабдомиосаркома	0/1	0/1
Прямая кишка	Злокачественная меланома	0/1	0/1
Кожа	Базальноклеточная карцинома	0/1	0/1
Кожа	Плоскоклеточная карцинома	0/1	0/1
Спина	Нейрофиброма	0/1	1/1
Ретроперитонеальная	Нейробластома	0/1	0/1
Брюшная полость	Злокачественная мезотелиома	0/1	0/1
Средостение	Диффузная В-клеточная лимфома	1/1	1/1
Лимфоузлы	Лимфома Hodgkin	1/1	1/1
Лимфоузлы	Диффузная В-клеточная лимфома	1/1	1/1
Полость малого таза	Анапластическая крупноклеточная лимфома	1/1	1/1
Мочевой пузырь	Злокачественная лейомиосаркома низкой степени дифференцировки	0/1	0/1
Кость	Остеосаркома	0/1	1/1
Забрюшинное пространство	Веретенноклеточная рабдомиосаркома	0/1	0/1
Гладкая мускулатура	Злокачественная лейомиосаркома умеренной степени дифференцировки	0/1	0/1
Мочевой пузырь	Переходноклеточная карцинома (мочевой пузырь)	1/1	1/1

Чувствительность

Чувствительность анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay была протестирована с использованием производственной партии промышленного изготовления на 245 уникальных образцах NSCLC (от I до IV стадии), подготовленных в виде микропрепаратов FFPE. Оценка экспрессии PD-L1 продемонстрировала положительное окрашивание опухолевых клеток в диапазоне от 0 до 100 %.

Повторяемость и внутрилабораторная прецизионность

Повторяемость и внутрилабораторная прецизионность анализа VENTANA PD-L1 (SP263) оценивалась на аппарате BenchMark ULTRA в сочетании с OptiView DAB Detection Kit путем окрашивания 24 уникальных образцов NSCLC человека и 8 уникальных образцов плаценты человека. Было проведено три исследования прецизионности; в двух была оценена прецизионность для NSCLC для двух уровней экспрессии PD-L1, в третьем исследовании оценивалась прецизионность для образцов плаценты.

Внутриутробная повторяемость и межсуточная внутрилабораторная прецизионность анализа VENTANA PD-L1 (SP263) оценивалась с использованием аппарата BenchMark ULTRA в сочетании с OptiView DAB Detection Kit путем окрашивания 24 уникальных образцов NSCLC человека. Для определения внутриутробной повторяемости по 5 повторностям микропрепаратов из каждого образца ткани NSCLC окрашивали с использованием одного прибора BenchMark ULTRA. Для определения межсуточной прецизионности по 2 повторности микропрепаратов из каждого образца ткани NSCLC окрашивали при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay с использованием одного прибора BenchMark ULTRA в течение 5 непоследовательных дней общей продолжительностью не менее двадцати дней. Для определения внутриплатформной прецизионности 18 образцов NSCLC окрашивали при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay с использованием трех приборов для автоматического окрашивания BenchMark ULTRA. Все предметные стекла были замаскированы, рандомизированы и оценены с использованием алгоритма оценивания для анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay (приведен в таблице 5). Сводные данные полученных результатов приведены в таблице 9.

Кроме того, были оценены повторяемость и внутрилабораторная прецизионность окрашивания при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay на образцах плаценты человека (контроль системного уровня). В этом исследовании было использовано восемь образцов тканей плаценты человека. Для определения внутриутробной прецизионности по 5 повторностям микропрепаратов каждого из 8 образцов плаценты окрашивали с использованием одного прибора BenchMark ULTRA. Для определения межприборной прецизионности по 2 повторности микропрепаратов каждого из 8 образцов плаценты окрашивали при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay с использованием трех приборов для автоматического окрашивания BenchMark ULTRA. Для определения межсуточной прецизионности по 2 повторности микропрепаратов каждого из 8 образцов плаценты окрашивали при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay с использованием одного прибора BenchMark ULTRA в течение 5 непоследовательных дней. Все предметные стекла были оценены в соответствии с алгоритмом оценивания анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay для контрольной ткани плаценты (приведен в таблице 4). Для всех повторностей микропрепаратов образцов плаценты были получены эквивалентные результаты иммуногистохимического окрашивания (IHC) на PD-L1. Общий процент совпадения для внутриутробной, межсуточной и межприборной воспроизводимости составил 100 %.

Табл.9. Исследование повторяемости и внутрилабораторной прецизионности анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay на отдельных образцах NSCLC

Уровень экспрессии PD-L1		Экспрессия ≥ 1 %	Экспрессия ≥ 5 %	Экспрессия ≥ 10 %	Экспрессия ≥ 50 %
Повторяемость/ прецизионность для ткани NSCLC	n = общее количество оцененных микропре- паратов	Общий процент совпа- дения (95 % ДИ)	Общий процент совпа- дения (95 % ДИ)	Общий процент совпа- дения (95 % ДИ)	Общий процент совпа- дения (95 % ДИ)
Внутриутробная повторяемость (в течение одного дня)	120	100,0 % (96,9–100,0)	99,2 % (95,4–99,9)	98,3 % (94,1–99,5)	100,0 % (96,9–100,0)
Межсуточная прецизионность (5 непоследова- тельных дней)	240	100,0 % (98,4–100,0)	97,9 % (95,2–99,1)	98,8 % (96,4–99,6)	100,0 % (98,4–100)
Межприборная прецизионность (для 3 аппаратов)	648	100 % (99,4–100,0)	96,5 % (94,7–97,6)	95,2 % (93,3–96,6)	97,2 % (94,6–99,2)

Повторяемость между партиями

Воспроизводимость между партиями анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay определялась путем тестирования трех партий анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay на 24 уникальных образцах NSCLC на приборе BenchMark ULTRA с использованием набора для обнаружения OptiView DAB IHC Detection Kit. Все образцы окрашивали при помощи каждой из трех партий первичных антител. Перед оценкой экспрессии PD-L1 все предметные стекла были замаскированы и рандомизированы в соответствии с алгоритмом оценивания анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay (приведен в таблице 5). Результаты представлены в таблице 10 в виде таких показателей, как общий процент совпадения, процент совпадения положительных результатов и процент совпадения отрицательных результатов для каждого уровня экспрессии.

Табл.10. Уровень согласованности воспроизводимости между партиями среди 24 образцов ткани NSCLC

Уровни согласованности повторяемости между партиями	Процент совпадения положительных результатов (95 % ДИ)	Процент совпадения отрицательных результатов (95 % ДИ)	Общий процент совпадения (95 % ДИ)
Среднее значение для сравнений всех трех партий Экспрессия $\geq 1\%$	100 % (99,0–100,0)	100 % (98,6–100,0)	100 % (99,4–100,0)
Среднее значение для сравнений всех трех партий Экспрессия $\geq 5\%$	94,4 % (91,4–96,5)	98,5 % (96,4–99,3)	96,5 % (94,7–97,6)
Среднее значение для сравнений всех трех партий Экспрессия $\geq 10\%$	97,5 % (94,7–98,9)	93,8 % (91,0–95,8)	95,2 % (93,3–96,6)
Среднее значение для сравнений всех трех партий Экспрессия $\geq 50\%$	96,9 % (91,9–99,7)	97,5 % (94,9–99,5)	97,2 % (94,4–99,1)

Также была оценена воспроизводимость между партиями анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay с использованием 12 уникальных образцов ткани плаценты человека. Воспроизводимость была определена путем тестирования трех партий антител совместно с тремя партиями наборов для обнаружения OptiView DAB IHC Detection Kit с использованием трех приборов автоматизированного окрашивания препаратов BenchMark ULTRA. Общая частота совпадения результатов для соответствующих элементов плаценты с положительным и отрицательным окрашиванием с использованием анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay составила 100 %.

Исследование прецизионности между экспертами и по каждому эксперту

Для оценки прецизионности между экспертами и по каждому эксперту три патоморфолога оценили 114 уникальных образцов. Перед оценкой окрашивания PD-L1 IHC образцы были замаскированы и рандомизированы в соответствии с алгоритмом оценивания анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay, приведенным в таблице 5. Результаты, приведенные ниже в таблице 11, отображают показатели прецизионности между экспертами и для одного эксперта, полученные в данной группе клинического исследования для уникальных случаев.

Табл.11. Сводные данные исследования прецизионности между экспертами и по каждому эксперту

Прецизионность эксперта	Среднее количество положительных совпадений (95 % ДИ)	Среднее количество отрицательных совпадений (95 % ДИ)	Общий процент совпадений (95 % ДИ)
Средняя прецизионность между экспертами для всех трех экспертов Экспрессия ≥ 1 %	94,3 % (90,5–97,4)	92,6 % (87,8–96,5)	93,5 % (89,9–97,1)
Средняя прецизионность между экспертами для всех трех экспертов Экспрессия ≥ 5 %	94,7 % (90,7–97,8)	94,7 % (90,6–97,7)	94,7 % (91,1–97,7)
Средняя прецизионность между экспертами для всех трех экспертов Экспрессия ≥ 10 %	93,0 % (88,4–96,6)	94,0 % (90,0–97,1)	93,5 % (89,5–97,0)
Средняя прецизионность между экспертами для всех трех экспертов Экспрессия ≥ 50 %	94,6 % (90,6–97,8)	95,0 % (91,1–97,9)	94,8 % (91,2–97,8)
Средняя прецизионность по каждому эксперту для всех трех экспертов Экспрессия ≥ 1 %	96,7 % (94,7–98,3)	95,6 % (92,9–97,8)	96,2 % (94,1–98,0)
Средняя прецизионность по каждому эксперту для всех трех экспертов Экспрессия ≥ 5 %	95,8 % (92,7–98,2)	96,0 % (93,2–98,3)	95,9 % (93,3–98,2)
Средняя прецизионность по каждому эксперту для всех трех экспертов Экспрессия ≥ 10 %	97,7 % (95,9–99,2)	98,1 % (96,4–99,4)	97,9 % (96,2–99,4)
Средняя прецизионность по каждому эксперту для всех трех экспертов Экспрессия ≥ 50 %	97,2 % (95,2–98,8)	97,3 % (95,2–98,9)	97,2 % (95,4–98,8)

Исследование воспроизводимости результата между лабораториями

Было проведено межлабораторное исследование воспроизводимости результата для анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay с целью демонстрации воспроизводимости анализа при определении экспрессии PD-L1 для случаев NSCLC с использованием 28 образцов ткани в течение 5 непоследовательных дней за 20-дневный период в трех внешних лабораториях. Образцы были замаскированы, рандомизированы и оценены в общей сложности 6 экспертами (по 2 эксперта в каждой лаборатории). Результаты приведены в таблице 12.

Табл.12. Межлабораторная повторяемость: Уровни согласованности для анализа VENTANA PD-L1 (SP263)

Уровни согласованности для межлабораторной воспроизводимости (экспрессия PD-L1)	Процент совпадений положительных результатов (95 % ДИ)	Процент совпадений отрицательных результатов (95 % ДИ)	Общий процент совпадений (95 % ДИ)
Во всех результатах, (682 наблюдения) Экспрессия ≥ 1 %	94,0 % (91,3–95,9)	89,8 % (85,5–92,9)	92,4 % (90,1–94,1)
При всех наблюдениях (712 наблюдений) Экспрессия ≥ 5 %	94,7 % (91,9–96,6)	94,9 % (92,1–96,8)	94,8 % (92,9–96,2)
При всех наблюдениях (770 наблюдений) Экспрессия ≥ 10 %	95,4 % (92,6–97,2)	96,8 % (94,8–98,1)	96,2 % (94,6–97,4)
При всех наблюдениях (714 наблюдений) Экспрессия ≥ 50 %	96,1 % (91,3–99,6)	93,8 % (88,5–98,5)	95,0 % (91,6–97,9)

Исследование сравнения методов

Для получения знака CE компания Ventana основывалась на исследовании сравнения методов, выполненном компанией AstraZeneca, в котором сравнивались данные доступных в настоящее время анализов на PD-L1, DAKO pharmDx 22c3 (использовался в клинических исследованиях препарата KEYTRUDA), DAKO pharmDx 28-8 (использовался в клинических исследованиях препарата OPDIVO) и SP263⁴.

При проведении сравнительного исследования методик было использовано приблизительно 500 коммерчески приобретенных биоптатов NSCLC без идентифицирующей информации и не связанных с информацией о пациенте, которые сравнивались на предмет результатов окрашивания при помощи анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay на приборе BenchMark ULTRA с DAKO PD-L1 IHC 22C3 pharmDx и DAKO PD-L1 IHC 28-8 pharmDx на Autostainer Link 48. В исследование входили образцы NSCLC, представляющие собой динамический ряд экспрессии PD-L1. Все образцы были окрашены в одной центральной лаборатории с использованием каждой методики. Окрашенные микропрепараты были оценены с присвоением уровня экспрессии PD-L1 патоморфологом, обученным проведению анализов VENTANA и DAKO PD-L1. В исследовании участвовал один патоморфолог. Основной конечной точкой была точная оценка достижения показателя 85 % или выше для процента совпадения положительных результатов (PPA), процента совпадения отрицательных результатов (NPA) и общего процента совпадения (OPA) с использованием анализа DAKO для сравнения. Результаты приводятся в таблицах 13 и 14.

Табл.13. Сравнение методик: уровни согласованности для анализа VENTANA PD-L1 (SP263) в сравнении с DAKO PD-L1 IHC 22C3 pharmDx

Экспрессия анализа ≥ 1 %	DAKO PD-L1 IHC 22C3 pharmDx		
Анализ VENTANA PD-L1 (SP263) Assay	Положительно	Отрицательно	Всего
Положительно	256	21	277

Отрицательно	24	199	223
Всего	280	220	500
	n/N	% (95 % ДИ)	
Процент совпадения положительных результатов	256/280	91,4 (87,6–94,2)	
Процент совпадения отрицательных результатов	199/220	90,5 (85,8–93,7)	
Общий процент совпадения	455/500	91,0 (88,2–93,2)	
Экспрессия анализа ≥ 50 %		Dako PD-L1 IHC 22C3 pharmDx	
Анализ VENTANA PD-L1 (SP263) Assay	Положительно	Отрицательно	Всего
Положительно	111	22	133
Отрицательно	10	357	367
Всего	121	379	500
	n/N	% (95 % ДИ)	
Процент совпадения положительных результатов	111/121	91,7 (85,5–95,4)	
Процент совпадения отрицательных результатов	357/379	94,2 (91,4–96,1)	
Общий процент совпадения	468/500	93,6 (91,1–95,4)	

Табл.14. Сравнение методик: Уровни согласованности для анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay в сравнении с DAKO PD-L1 IHC 28-8 pharmDx

Экспрессия анализа ≥ 1 %		Dako PD-L1 IHC 28-8 pharmDx		
Анализ VENTANA PD-L1 (SP263) Assay	Положительно	Отрицательно	Всего	
Положительно	264	13	277	
Отрицательно	29	194	223	
Всего	293	207	500	
	n/N	% (95 % ДИ)		
Процент совпадения положительных результатов	264/293	90,1 (86,1–93,0)		
Процент совпадения отрицательных результатов	194/207	93,7 (89,6–96,3)		
Общий процент совпадения	458/500	91,6 (88,8–93,7)		
Экспрессия анализа ≥ 5 %		Dako PD-L1 IHC 28-8 pharmDx		
Анализ VENTANA PD-L1 (SP263) Assay	Положительно	Отрицательно	Всего	
Положительно	225	9	234	
Отрицательно	21	245	266	
Всего	246	254	500	
	n/N	% (95 % ДИ)		
Процент совпадения положительных результатов	225/246	91,5 (87,3–94,3)		
Процент совпадения отрицательных результатов	245/254	96,5 (93,4–98,1)		
Общий процент совпадения	470/500	94,0 (91,6–95,8)		
Экспрессия анализа ≥ 10 %		Dako PD-L1 IHC 28-8 pharmDx		

Анализ VENTANA PD-L1 (SP263) Assay	Положительно	Отрицательно	Всего
	192	17	209
	19	272	291
	211	289	500
	n/N	% (95 % ДИ)	
Процент совпадения положительных результатов	192/211	91,0 (86,4–94,2)	
Процент совпадения отрицательных результатов	272/289	94,1 (90,8–96,3)	
Общий процент совпадения	464/500	92,8 (90,2–94,8)	

ИССЛЕДОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ РЕЗУЛЬТАТОВ

KEYTRUDA

KEYNOTE-024: контролируемое исследование у пациентов с NSCLC, не получавших лечения ранее

Безопасность и эффективность препарата pembrolizumab изучались в исследовании KEYNOTE-024 — многоцентровом контролируемом исследовании лечения метастатического NSCLC у пациентов, не получавших лечения ранее. У пациентов отмечалась экспрессия PD-L1 с баллом пропорции опухоли (TPS) ≥ 50 % на основе анализа PD-L1 IHC 22C3 pharmDx¹⁰. Пациенты рандомизировались (1 : 1) в группы, получавшие препарат pembrolizumab в дозе 200 мг каждые 3 недели (n = 154) или химиотерапию на основе препаратов платины по выбору исследователя (n = 151); включая пеметрексед + карбоплатин, пеметрексед + цисплатин, гемцитабин + цисплатин, гемцитабин + карбоплатин или паклитаксел + карбоплатин. Пациенты с неплоскоклеточной гистологией могли получать поддерживающую терапию препаратом пеметрексед. Пациенты получали лечение препаратом pembrolizumab до развития неприемлемых токсических реакций или прогрессирования заболевания. Лечение могло быть продолжено после прогрессирования заболевания, если пациент был клинически стабилен и исследователь считал, что у него сохраняются клинические преимущества. В исследование не включались пациенты с геномными опухолевыми абберациями рецептора эпителиального фактора роста (EGFR) или ALK; аутоиммунными заболеваниями, требовавшими системной терапии в течение 2 лет лечения; клиническими состояниями, требующими иммуносупрессии, или получившие более 30 Гр облучения грудной клетки в течение предшествующих 26 недель. Оценка статуса опухоли выполнялась каждые 9 недель. Пациенты, получавшие химиотерапию, у которых отмечалось подтвержденное независимой оценкой прогрессирование заболевания, могли быть переведены на терапию препаратом pembrolizumab.

Исходные характеристики у 305 пациентов в исследовании KEYNOTE-024 были следующими: медианный возраст 65 лет (54 % в возрасте 65 и старше); 61 % мужчин; 82 % европеоидной расы и 15 % монголоидной расы; функциональный статус по ECOG 0 и 1 у 35 % и 65 % соответственно. Характеристики заболевания включали плоскоклеточную (18 %) и неплоскоклеточную (82 %) гистологию; M1 (99 %) и метастазы в головной мозг (9 %).

Первичным показателем результата эффективности была выживаемость без прогрессирования (PFS), оцениваемая путем слепой независимой централизованной оценки (BICR) с использованием Response Evaluation Criteria on Solid Tumors (критерии оценки ответа при солидных опухолях, RECIST 1.1) версии 1.1. Вторичные показатели результата эффективности включали общую выживаемость (OS) и уровень объективного ответа (ORR), которые оценивались при слепой независимой централизованной оценке с использованием критериев RECIST 1.1. В таблице 15 представлены основные показатели эффективности для всей рандомизированной популяции (ITT). Кривая Kaplan-Meier для общей выживаемости приводится на рисунке 2.

Табл.15. Результаты эффективности в исследовании KEYNOTE-024

Конечная точка	KEYTRUDA 200 мг каждые 3 недели n = 154	Химиотерапия n = 151
Выживаемость без прогрессирования*		
Количество (%) пациентов с явлением	73 (47 %)	116 (77 %)
Отношение рисков † (95 % ДИ)	0,50 (0,37; 0,68)	---
Значение p ‡	< 0,001	---
Медиана, месяцы (95 % ДИ)	10,3 (6,7, Н/П)	6,0 (4,2; 6,2)
Общая выживаемость		
Количество (%) пациентов с явлением	44 (29 %)	64 (42 %)
Отношение рисков † (95 % ДИ)	0,60 (0,41; 0,89)	---
Значение p ‡	0,005 †	---
Медиана, месяцы (95 % ДИ)	Не достигнута (Н/П, Н/П)	Не достигнута (9,4, Н/Д)
Уровень объективного ответа*		
Уровень объективного ответа, % (95 % ДИ)	45 % (37, 53)	28 % (21, 36)
Полный ответ, %	4 %	1 %
Частичный ответ, %	41 %	27 %
Длительность ответа §		
Медиана, месяцы (диапазон)	Не достигнута (1,9+, 14,5+)	6,3 (2,1+, 12,6+)
% с длительностью > 6 месяцев	88 % ¶	59 % #

* Слепая независимая централизованная оценка с использованием критериев RECIST 1.1.

† Отношение риска (KEYTRUDA в сравнении с химиотерапией) на основе стратифицированной модели пропорциональных рисков Кокса.

‡ На основе стратифицированного логрангового критерия.

§ На основе пациентов с наилучшим общим ответом в виде подтвержденного полного или частичного ответа.

¶ На основе оценок Kaplan-Meier; включая 43 пациентов с ответом длительностью 6 месяцев и более.

На основе оценок Kaplan-Meier; включая 16 пациентов с ответом длительностью 6 месяцев и более.

Н/Д = нет данных.

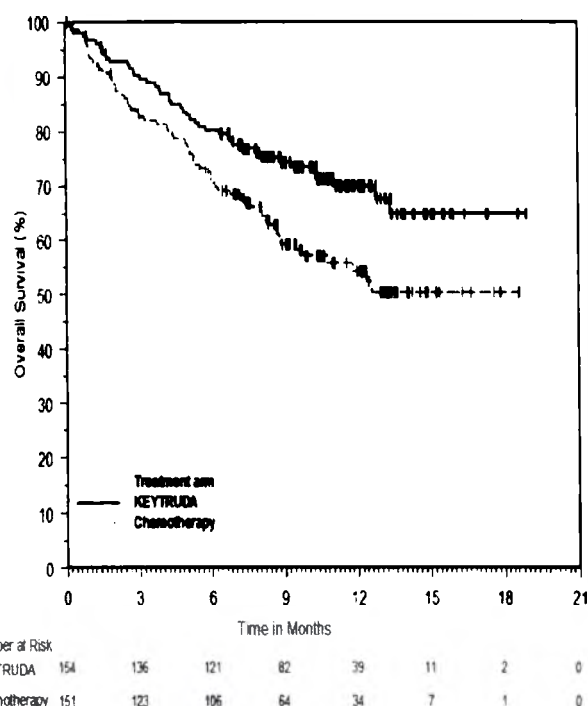


Рис. 2. Кривая Kaplan-Meier общей выживаемости в исследовании KEYNOTE-024

KEYNOTE-010: контролируемое исследование у пациентов с NSCLC, ранее получавших химиотерапию

Клиническое преимущество PD-L1 IHC 22C3 pharmDx изучалось в исследовании KEYNOTE-010, многоцентровом открытом рандомизированном клиническом исследовании, проведенном для оценки безопасности и эффективности препарата KEYTRUDA у пациентов с распространенным NSCLC, ранее получавших химиотерапию, включавшую препараты платины¹¹. У пациентов наблюдалась экспрессия PD-L1 с TPS ≥ 1 % по данным анализа клинического исследования (CTA), версии PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. У пациентов с мутацией активации рецептора эпителиального фактора роста (EGFR) или транслокацией ALK также отмечалось прогрессирование заболевания на фоне зарегистрированной терапии для данных мутаций перед терапией препаратом pembrolizumab. Пациенты рандомизировались (1 : 1) в группы, получавшие препарат pembrolizumab в дозе 2 (n = 344) или 10 мг/кг (n = 346) каждые 3 недели или доцетаксел в дозе 75 мг/м² каждые 3 недели (n = 343) до прогрессирования заболевания или неприемлемых токсических реакций. В исследование не включались пациенты с аутоиммунными заболеваниями; клиническими состояниями, требующими иммуносупрессии, или получившие более 30 Гр облучения грудной клетки в течение предшествующих 26 недель. Оценка статуса опухоли выполнялась каждые 9 недель. Первичными показателями результата эффективности были общая выживаемость и выживаемость без прогрессирования, оцениваемые при слепой независимой централизованной оценке с использованием критериев RECIST 1.1.

На основе CTA всего в исследование было рандомизировано 1033 пациента с NSCLC. Для оценки клинического применения PD-L1 IHC 22C3 pharmDx архивные образцы клинического исследования были ретроспективно анализированы в контрольной лаборатории в США с использованием PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Из 1033 пациентов, опухолевые ткани 529 пациентов были ретроспективно анализированы с использованием теста PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. В образцах 413 пациентов наблюдалась экспрессия PD-L1 (≥ 1 % жизнеспособных опухолевых клеток с наличием окрашивания мембраны любой интенсивности), в образцах 94 пациентов не наблюдалось экспрессии PD-L1 (< 1 % жизнеспособных опухолевых клеток с наличием окрашивания мембраны любой интенсивности). Из данных 413 пациентов с экспрессией PD-L1, в образцах 163 пациентов наблюдалась

высокая экспрессия PD-L1 ($\geq 50\%$ жизнеспособных опухолевых клеток с наличием окрашивания мембраны любой интенсивности).

Достигнутый уровень совпадения между CTA и PD-L1 IHC 22C3 pharmDx представлен в таблице 16.

Табл.16. Результаты эффективности в подгруппе пациентов с TPS $\geq 50\%$ в исследовании KEYNOTE-010

Уровень согласованности	Пороговый показатель PD-L1	Процент совпадения отрицательных результатов (95 % ДИ)	Процент совпадения положительных результатов (95 % ДИ)
CTA в сравнении с PD-L1 IHC 22C3	TPS $\geq 1\%$	94,5 % [91,4–96,6 %]	80,0 % [76,9–82,8 %]
	TPS $\geq 50\%$	98,3 % [97,1–99,0 %]	73,2 % [67,9–77,9 %]

У рандомизированных пациентов с наличием экспрессии PD-L1 по данным PD-L1 IHC 22C3 pharmDx демографические и прочие исходные характеристики были четко сбалансированы между группами терапии. Медианный возраст составил 63 года (44 % пациентов в возрасте 65 лет и старше). Большинство пациентов относились к европеоидной расе (77 %) и мужскому полу (58 %); исходный функциональный статус по шкале ECOG составил 0 (29 %) или 1 балл (71 %). Семьдесят восемь процентов (78 %) пациентов были курильщиками на момент обследования или курили в прошлом. У двадцати двух процентов (22 %) пациентов наблюдалась плоскоклеточная гистология, у 69 % отмечалась несквамозная гистология. Исходные и демографические характеристики были аналогично четко сбалансированы между группами препарата pembrolizumab и доцетаксела в общем исследовании.

Результаты эффективности представлены в таблицах 17 и 18. Препарат KEYTRUDA показал устойчивые клинические преимущества у пациентов с NSCLC с экспрессией PD-L1 (TPS $\geq 1\%$), которые усиливались у пациентов с высокой экспрессией PD-L1 (TPS $\geq 50\%$), определенной по PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Величина преимущества была сравнима с таковой в общем клиническом исследовании. В таблицах ниже представлены основные показатели эффективности в общей популяции с экспрессией PD-L1 (TPS $\geq 1\%$) и в подгруппе с высокой экспрессией PD-L1 (TPS $\geq 50\%$) в общем клиническом исследовании (TPS $\geq 1\%$ по данным CTA) и в популяции с экспрессией PD-L1 по данным PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Кривая Kaplan-Meier для общей выживаемости (TPS $\geq 1\%$), определенной по PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, представлена на рисунке 3. Результаты эффективности были аналогичны в группах препарата KEYTRUDA с дозами 2 мг/кг и 10 мг/кг.

Табл.17. Ответ на препарат KEYTRUDA у ранее получавших лечение пациентов с NSCLC: общее клиническое исследование и пациенты с положительным результатом PD-L1 IHC 22C3 pharmDx: PD-L1, TPS $\geq 1\%$

Конечная точка	KEYTRUDA 2 mg/kg каждые 3 недели		KEYTRUDA 10 mg/kg каждые 3 недели		Доцетаксел 75 mg/m ² каждые 3 недели	
	Клиническое исследование	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx	Клиническое исследование	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx	Клиническое исследование	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx
Количество пациентов	344	140	346	142	343	131
Общая выживаемость						
Количество смертей (%)	172 (50 %)	59 (42 %)	156 (45 %)	59 (42 %)	193 (56 %)	67 (51 %)

Конечная точка	KEYTRUDA 2 мг/кг каждые 3 недели	KEYTRUDA 10 мг/кг каждые 3 недели	Доцетаксел 75 мг/м² каждые 3 недели			
Отношение 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)	---	---
Значение p †	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,00115	---	---
Медиана, месяцы (95 % ДИ)	10,4 (9,4, 11,9)	11,8 (9,6, Н/П)	12,7 (10,0, 17,3)	12,0 (8,7, Н/П)	8,5 (7,5, 9,8)	7,5 (6,3, 9,9)
Выживаемость без прогрессирования ‡						
Явления (%)	266 (77 %)	97 (63 %)	255 (74 %)	103 (73 %)	257 (75 %)	94 (72 %)
Отноше- ние 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)	---	---
Значение p †	0,068	0,00578	0,005	0,05767	---	---
Медиана, месяцы (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)
Общий уровень ответа ‡						
Общий уровень ответа % § (95 % ДИ)	18 % (14, 23)	24 % (17, 32)	18 % (15, 23)	20 % (14, 28)	9 % (7, 13)	5 % (2, 11)

* Отношение рисков (KEYTRUDA в сравнении с доцетакселом) на основе стратифицированной модели пропорциональных рисков Кокса.

† На основе стратифицированного логрангового критерия.

‡ Спелая независимая централизованная оценка с использованием критериев RECIST 1.1.

§ Все ответы были представлены частичными ответами.

Табл.18. Ответ на препарат KEYTRUDA у ранее получавших лечение пациентов: общее клиническое исследование и пациенты с положительным результатом PD-L1 IHC 22C3 pharmDx: PD-L1 $\geq 50\%$

Конечная точка	KEYTRUDA 2 мг/кг		KEYTRUDA 10 мг/кг		Доцетаксел 75 мг/м ²	
	Каждые 3 недели		Каждые 3 недели		Каждые 3 недели	
	Клиническое исслед- ование	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx	Клиническое исслед- ование	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx	Клиническое исслед- ование	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx
Количество пациен- тов	139	56	151	60	152	47
Общая выживаемость						
Количество смертей (%)	58 (42 %)	18 (32 %)	60 (40 %)	19 (32 %)	86 (57 %)	25 (53 %)
Отношение 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)	-----	-----
Значение p †	< 0,001	0,00541	< 0,001	< 0,001	-----	-----
Медиана, месяцы (95 % ДИ)	14,9 (10,4, Н/П)	Не достигнут а (9,3, Н/П)	17,3 (11,8, Н/П)	Не достигнут а (8,3, Н/П)	8,2 (6,4, 10,7)	7,2 (4,4, 8,3)
Выживаемость без прогрессирования ‡						

Конечная точка	KEYTRUDA 2 мг/кг каждые 3 недели		KEYTRUDA 10 мг/кг каждые 3 недели		Доцетаксел 75 мг/м² каждые 3 недели	
Явления (%)	89 (64 %)	33 (59 %)	97 (64 %)	34 (57 %)	118 (78 %)	33 (70 %)
Отношение рисков (95 % ДИ)	0,58 (0,43; 0,77)	0,47 (0,26; 0,80)	0,59 (0,45; 0,78)	0,41 (0,24; 0,70)	---	---
Значение p†	< 0,001	0,00221	< 0,001	< 0,001	---	---
Медиана, месяцы (95 % ДИ)	5,2 (4,0; 6,5)	5,9 (4,2; 9,0)	5,2 (4,1; 8,1)	4,8 (2,8; НП)	4,1 (3,6; 4,3)	3,9 (2,0; 4,3)
Общий уровень ответа‡						
Общий уровень ответа, % § (95 % ДИ)	30 % (23; 39)	37 % (25; 52)	29 % (22; 37)	28 % (18; 41)	8 % (4; 13)	4 % (1; 15)

* Отношение рисков (KEYTRUDA в сравнении с доцетакселом) на основе стратифицированной модели пропорциональных рисков Кокса.

† На основе стратифицированного логарифмического критерия.

‡ Слепая независимая централизованная оценка с использованием критериев RECIST 1.1.

§ Все ответы были представлены частичными ответами.

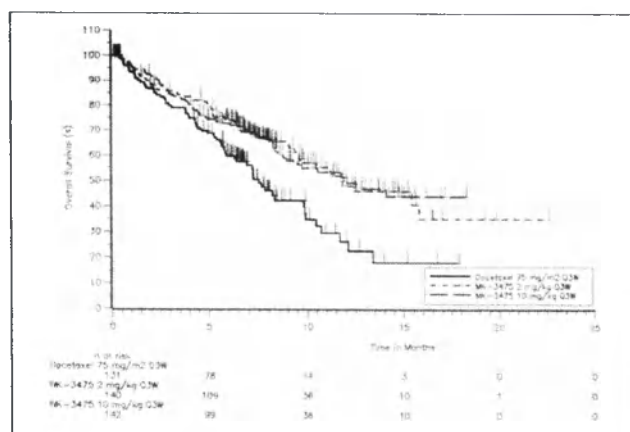


Рис. 3. Кривая Kaplan-Meier общей выживаемости у всех рандомизированных пациентов в исследовании KEYNOTE-010

Были выполнены дополнительные анализы устойчивости для учета потенциального влияния отсутствующих данных, связанных с пациентами с экспрессией PD-L1 (TPS ≥ 1 %) по данным PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, но у которых могло не наблюдаться экспрессии PD-L1 (TPS < 1 %) по данным СТА. Пациенты с подобными результатами являются частью популяции целевого применения/целевой диагностики (ITD) PD-L1 IHC 22C3 pharmDx; тем не менее они были исключены из клинического исследования по причине отсутствия экспрессии PD-L1 при скрининге СТА. Для учета этих отсутствующих данных был выполнен анализ чувствительности для понимания возможного диапазона отношения рисков (HR), рассчитываемого на основании PD-L1 IHC 22C3 pharmDx в субпопуляциях TPS ≥ 1 % и TPS ≥ 50 % в рамках целевой диагностики для подтверждения согласованности с наблюдавшимися отношениями рисков на основе включения с использованием СТА. Результаты анализа чувствительности отношения рисков показали, что оценки отношения рисков устойчивы к любому предполагаемому ослаблению эффекта терапии в рамках целевой диагностики.

OPDIVO

Исследование CA209057 у пациентов с распространенным или метастатическим немелкоклеточным NSCLC

Клиническое использование оценивалось в исследовании CA209057 — рандомизированном открытом исследовании фазы 3 применения препарата nivolumab (ниволумаб) в сравнении с препаратом docetaxel (доцетаксел) у взрослых (≥ 18 лет) участников с распространенным или метастатическим немелкоклеточным NSCLC после неэффективности предшествующей химиотерапии двумя препаратами на основе препарата платины⁹. Участники рандомизировались в соотношении 1 : 1 и стратифицировались по следующим критериям:

1) предшествующему применению поддерживающей терапии в сравнении с отсутствием поддерживающей терапии и 2) второй линии или третьей линии терапии. Были собраны образцы опухолевой ткани до начала исследования (на исходном уровне) до рандомизации и до первого курса лечения для проведения предварительно запланированного анализа эффективности в соответствии с предварительно определенными исходными уровнями экспрессии PD-L1 (дополнительная конечная точка). Основной конечной точкой была общая выживаемость (OS). Другими вторичными конечными точками были частота объективных ответов (ORR), выживаемость без прогрессирования заболевания (PFS) и улучшение симптомов, связанных с заболеванием после 12 недель в соответствии со шкалой симптомов рака легких (Lung Symptom Cancer Scale — LCSS).

Основные демографические данные и характеристики заболевания в целом не отличались среди рандомизированных пациентов в группах, получавших препараты nivolumab (ниволумаб) и docetaxel (доцетаксел). Средний возраст пациентов составил 62 года (диапазон: 21–85), 34 % ≥ 65 лет и 7 % ≥ 75 лет. Большинство пациентов относились к европеоидной расе (92 %) и мужскому полу (55 %); исходный функциональный статус по шкале ECOG составил 0 (31 %) или 1 балл (69 %). 79 % пациентов были курильщиками на момент обследования или курили в прошлом.

Для пациентов с экспрессией PD-L1, определенной при помощи Dako PD-L1 IHC 28-8 pharmDx по всем предварительно определенным уровням экспрессии в группе терапии препаратом OPDIVO, была замечена улучшенная выживаемость по сравнению с препаратом docetaxel (доцетаксел), при применении которого выживаемость была сходной с группой пациентов без экспрессии PD-L1, получавших препарат docetaxel (доцетаксел). При анализе уровня экспрессии PD-L1 наблюдалась значимая разница медианы общей выживаемости в подгруппе пациентов, получавших препарат nivolumab (ниволумаб), по сравнению с подгруппой, получавшей препарат docetaxel (доцетаксел). Медиана общей выживаемости составила 17,1, 18,2 и 19,4 месяца у пациентов, получавших препарат nivolumab (ниволумаб), по сравнению с 9,0, 8,1 и 8,0 месяца для пациентов, получавших препарат docetaxel (доцетаксел), с уровнями экспрессии PD-L1 ≥ 1 %, ≥ 5 % и ≥ 10 % соответственно. Отсутствовали различия в общей выживаемости в группах лечения у пациентов с уровнями экспрессии < 1 %, < 5 % и < 10 % с диапазонами медианы общей выживаемости от 9,7 до 10,4 месяца для препарата nivolumab (ниволумаб) и от 10,1 до 10,3 месяца для препарата docetaxel (доцетаксел). На рисунке 4 показаны отношение рисков (HR) и медиана общей выживаемости (OS) без стратификации. График Kaplan-Meier для подгрупп по уровню экспрессии PD-L1 показан на рисунках 5 и 6.

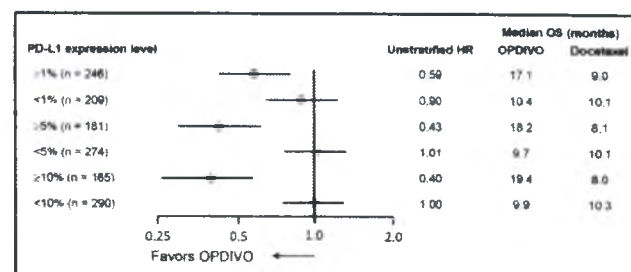


Рис. 4. График «форест-плот» для общей выживаемости на основе экспрессии PD-L1 у пациентов с немелкоклеточным вариантом NSCLC — исследование CA209057

Примечание. Отношение рисков без стратификации и соответствующий 95 %-й ДИ были оценены в модели пропорциональных рисков Кокса с использованием рандомизированной группы в качестве единственной ковариаты.

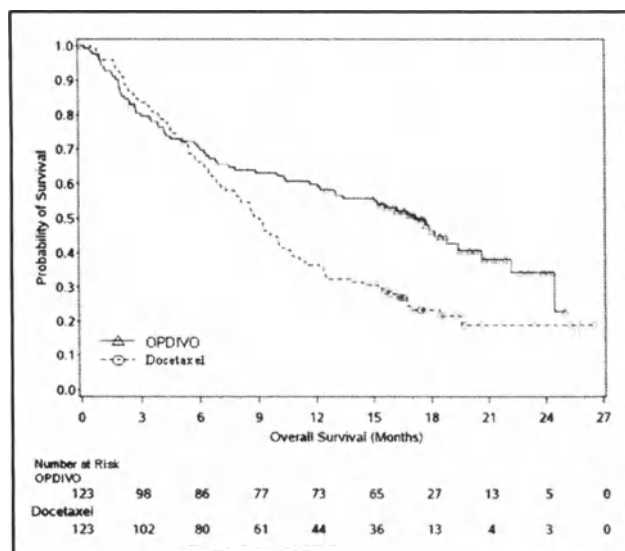


Рис. 5. Общая выживаемость — пациенты с экспрессией PD-L1 $\geq 1\%$ - CA209057

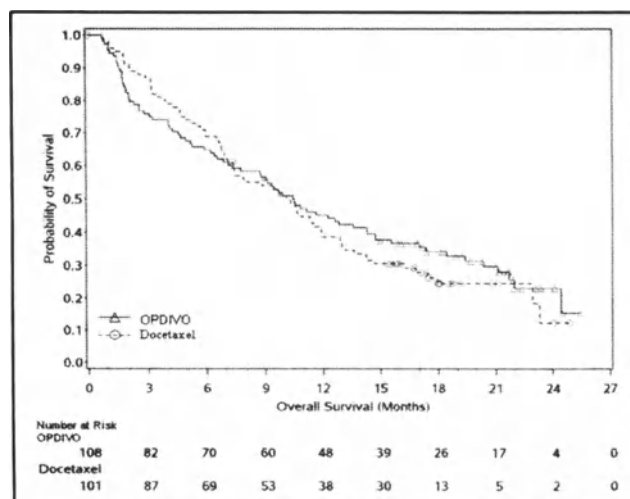


Рис. 6. Общая выживаемость — пациенты с неплоскоклеточным вариантом NSCLC с экспрессией PD-L1 $< 1\%$ — CA209057

ПРОБЛЕМЫ И ИХ УСТРАНЕНИЕ

В таблице 19 приведены проблемы и описаны способы их устранения. Если проблема отсутствует в таблице, или если с помощью предложенного способа не удается устранить проблему, обратитесь к местному представителю службы поддержки.

Табл.19. Проблемы при проведении анализа VENTANA PD-L1 (SP263) Assay и их устранение

Проблема	Возможная причина	Предлагаемое решение
Слабое окрашивание или отсутствие окрашивания предметных стекол.	Выбран неправильный протокол окрашивания.	Убедитесь, что используется рекомендованная процедура окрашивания. Убедитесь, что в качестве первичного антитела выбрано VENTANA PD-L1 (SP263).
	Распад тканей.	Убедитесь, что окрашивание тканей производилось в рекомендованный период времени после микротомирования.
	Неисправность дозатора.	Убедитесь, что колпачок наконечника снят.
		Убедитесь, что дозатор заправлен.
		Проверьте наличие в заливной камере инородных частиц, таких как волокна или осадок. См. листок-вкладыш поточного дозатора с номером по каталогу 741-4905 на сайте www.ventana.com . Следует применять только рекомендованные фиксаторы и время фиксации.
	Основной реактив неправильный или отсутствует.	Убедитесь в правильности наполнения основных реагентов.
Чрезмерное фоновое окрашивание предметных стекол.	Выбран неправильный протокол окрашивания.	Убедитесь, что используется рекомендованная процедура окрашивания.
	Основной реактив неправильный или отсутствует.	Убедитесь в правильности наполнения основных реагентов.
	Используется неподходящий метод фиксации.	Следует применять только рекомендованные фиксаторы и время фиксации.
Ткань отслоилась от предметных стекол.	Используются неправильные предметные стекла.	Убедитесь, что используются предметные стекла с положительным зарядом.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, et al. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol* 2008; 26:677-704.
2. Blank C, Mackensen A. Contribution of the PD-L1/PD-1 pathway to T-cell exhaustion: an update on implications for chronic infections and tumor evasion. *Cancer Immunol Immunother*. 2007; 56(5):739-745.
3. Butte MJ, Keir ME, Phamduy TB, et al. Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T-cell responses. *Immunity* 2007; 27(1):111-122.

4. Dong H, Zhu G, Tamada K, Chen L. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nat Med*. 1999;5(12):1365-1369.
5. Massard C, Gordon MS, Sharma S, et al. Safety and efficacy of durvalumab (MEDI4736), an anti-programmed cell death ligand-1 immune checkpoint inhibitor, in patients with advanced urothelial bladder cancer. *J Clin Oncol*. 2016; 34(26):3119-25.
6. Patel SP, Kurzrock R. PD-L1 Expression as a Predictive Biomarker in Cancer Immunotherapy. *Mol Cancer Ther*. 2015, 14(4): 847-856.
7. Carson F, Hladik C. *Histotechnology: A Self Instructional Text*, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
8. Ratcliffe MJ, Sharpe A, Midha A, et al. Agreement Between Program Cell Death Ligand-1 Diagnostic Assays Across Multiple Protein Expression Cut-offs in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res*. 2017 Jan 10. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2375.
9. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced, Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2015; 373:1627-1639.
10. Reck M, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small Cell Lung Cancer (KEYNOTE-024). *The New England Journal of Medicine* (NEJM.org) 2016 Oct 09; 1-11.
11. Herbst RS, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1 positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomized controlled trial. *The Lancet online*; 2015 Dec 19.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

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

Все остальные товарные знаки являются собственностью соответствующих владельцев.

© Ventana Medical Systems, Inc., 2017.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany



www.ventana.com

CE

Ventana PD-L1 (SP263) Assay

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

Полное наименование изделия на русском языке.

Реагент 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 иммуногистохимическим автоматическим серии Ventana BenchMark

(далее по тексту может использоваться Реагент Ventana PD-L1 (SP263) Assay, Ventana PD-L1 (SP263) Assay, PD-L1 (SP263) Assay).

Назначение.

Реагент Ventana PD-L1 (SP263) Assay предназначен для качественного обнаружения лиганда-1 белка программируемой смерти (programmed death-ligand 1 — PD-L1) иммуногистохимическим анализом в *in vitro* диагностике в опухолевых клетках и иммунокомпетентных клетках, инфильтрирующих ткань опухоли, в фиксированных формалином и залитых парафином (FFPE) тканевых срезах неметастатического рака легкого (далее - NSCLC) и других опухолевых тканей, окрашенных при помощи набора для обнаружения (система детекции) OptiView DAB IHC Detection Kit на приборе для автоматического окрашивания серии VENTANA BenchMark.

Экспрессия PD-L1 в мембране опухолевых клеток (далее - TC), определяемая при помощи реагента VENTANA PD-L1 (SP263) Assay в клетках NSCLC, позволяет определить пациентов для терапии препаратом KEYTRUDA® (пембролизумаб).

Экспрессия PD-L1 в мембране опухолевых клеток (далее - TC), определяемая при помощи реагента VENTANA PD-L1 (SP263) Assay в клетках NSCLC, может быть связана с улучшенной выживаемостью на фоне лечения препаратом OPDIVO® (ниволумаб).

Интерпретацию результатов должен выполнять квалифицированный патоморфолог с учетом результатов гистологического исследования и необходимых клинических данных после сравнения с соответствующими контролями.

Данные антитела предназначены для профессиональной диагностики *in vitro* (IVD).

Примечание:

1. Торговое наименование лекарственного препарата Китруда® (Пембролизумаб), производитель MSD Ирландия (Карлру), США (Регистрационное удостоверение ЛП-003972 от 18.11.2016 г., дата переоформления 18.05.2017 г.).

2. Торговое наименование лекарственного препарата Опдиво® (Ниволумаб), производитель Bristol-Myers Squibb Company, США (Регистрационное удостоверение ЛП-004026 от 22.12.2016 г.).

Состав (информация о компонентах).

Реагент Ventana PD-L1 (SP263) Assay содержит следующие материалы животного происхождения:

1. Наименование материала - Альбумин бычьей сыворотки, фракция V
Характер - Потенциальный возбудитель инфекции*

Тип - Сыворотка крови

Источник - Бык

Поставщик - Сигма Алдрих (Sigma Aldrich), «Омега Сайентифик» (Omega Scientific)

2. Наименование материала - Нормальная сыворотка козла

Характер - Потенциальный возбудитель инфекции*

Тип - Сыворотка крови

Источник - Козел

Поставщик - «Куад Файв» (Quad Five), «Лампеа Байоподжикалс» (Lampire Biologicals), «Вектор Лабс» (Vector Labs).

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

Для определения инфекционного характера этих материалов были проведены соответствующие испытания. Используемые в производстве материалы животного происхождения получены от животных прошедших надлежащий ветеринарный контроль.

Принцип метода определения.

Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) является кроличьим моноклональным первичным антителом, которое связывается с PD-L1 (лигандом-1 белка программируемой смерти) в срезах ткани, залитых в парафин. Специфическое антитело можно визуализировать с использованием комплекта для обнаружения (система детекции) OptiView DAB IHC. Затем специфический комплекс антитело-фермент визуализируется с помощью продукта, осаждающего ферментативные реакции.

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

В дополнение к окраске с помощью реагента VENTANA PD-L1 (SP263) второе стекло должно быть окрашено реагентом для отрицательного контроля Rabbit Ig (Confirm Neg. Contr. Rabbit Ig) для оценки фонового окрашивания.

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

*Примечание — Под «препаратами» и «микропрепаратами» следует понимать «образец ткани».

Срок годности

Срок годности максимально 24 месяца с даты производства. Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay следует хранить при 2-8 °C. Не замораживать!

Стабильность

До вскрытия упаковки дозатор с раствором антител можно хранить — максимально 24 месяца с даты производства.

После вскрытия дозатор с раствором антител можно хранить при 2-8 °C — максимально 24 месяца с даты производства.

Меры предосторожности и предупреждения

-Только для *in vitro* диагностики (IVD).

-Только для профессионального использования медицинским персоналом клинико-диагностических лабораторий.

-Противопоказаний в рамках установленного назначения не имеет.

Предупреждения:

-H317 — может вызвать кожную аллергическую реакцию

-P261 — избегать вдыхания

пыли/дыма/газа/тумана/паров/распылителей жидкости.

-P272 — не выносить загрязненную одежду с рабочего места.

-P280 — пользоваться защитными перчатками/защитной одеждой/средствами защиты глаз/лица.

-P333+P313 — при раздражении кожи или появления сыпи: обратиться к врачу.

-P362+P364 — Снять загрязненную одежду и промыть ее перед повторным применением

-P501 — удалить содержимое/контейнер в...

Комплект поставки

Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay поставляется в пластиковом дозаторе, упакованном в коробку из мелованной

Ventana PD-L1 (SP263) Assay

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

бумаги. Один дозатор содержит достаточное количество реагента для проведения 50 тестов.

В комплект поставки VENTANA PD-L1 (SP263) Assay не входят окрашивающие реагенты, такие как набор для визуализации VENTANA, а также вспомогательные материалы, в том числе ткани для отрицательного и положительного контролей.

Наименование изделия	№ по каталогу
Отрицательный контроль Rabbit Ig (Confirm Neg. Contr. Rabbit Ig) в составе	790-4795 06683380001
Предметные стекла для микроскопа (с положительным зарядом)*	
Этикетки со штрих-кодом - Лента с наклейками на стекла, 1 рулон x 500 наклеек (Label, Blank, Flap, Roll (540)	05247829001
Ксилол (гистологической степени очистки)*	
Этанол или спиртосодержащий реагент (гистологической степени очистки)* 100 % раствор: неразбавленный этанол или спиртосодержащий реагент 95 % раствор: смешать 95 частей этанола или спиртосодержащего реагента с 5 частями деионизированной воды 80 % раствор: смешать 80 частей этанола или спиртосодержащего реагента с 20 частями деионизированной воды	
Деионизированная или дистиллированная вода*	
Система детекции OptiView DAB IHC Detection Kit	760-700 06396500001
EZ Prep Concentrate (10X) (Раствор для проведения депарафинизации, концентрированный)	950-102 05279771001
Reaction Buffer Concentrate (10X) (Реакционный буфер (концентрат - 10X))	950-300 05353955001
ULTRA LCS (Жидкое покрывное стекло высокотемпературное, разведенное)	650-010 05264839001
CC1 (TRIS/Борат/ЭДТА буфер (CC1) для демаскировки антигена, разведенный	950-124 05279801001
ULTRA CC1 (TRIS/Борат/ЭДТА буфер (CC1) для демаскировки антигена, разведенный)	950-224 05424569001
Hematoxylin II (Гистологический краситель Гематоксилин II ≤ 60%)	790-2208 05277965001
Bluing Reagent (Реагент для придания окраске синего цвета)	760-2037 05266769001
Перманентная заклеивающая среда (Permount Fisher Cat. No. SP15-500 или эквивалентная)*	
Покровное стекло (достаточное для помещения образцов ткани под стекло, такое как VWR Cat. No. 48393-060)*	
Автоматическое устройство для заклеивания препаратов покрывными стеклами (такое как Tissue-Tek SCA Automated Coverslipper)*	
Световой микроскоп*	
Гигроскопические салфетки*	

Примечание:

- Отрицательный контроль Rabbit Ig (Confirm Neg. Contr. Rabbit Ig) в составе (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2011-11166 от 30.12.2011 г.)
- Лента с наклейками на стекла, 1 рулон x 500 наклеек (Label, Blank, Flap, Roll (540) (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2011-08976 от 21.01.2017 г.)
- Система детекции OptiView DAB IHC Detection Kit (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2012-12679 от 17.08.2012 г.)
- EZ Prep Concentrate (10X) (Раствор для проведения депарафинизации, концентрированный) (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.)
- Reaction Buffer Concentrate (10X) (Реакционный буфер (концентрат - 10X)) (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.)

- ULTRA LCS (Жидкое покрывное стекло высокотемпературное, разведенное) (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.)
 - CC1 (TRIS/Борат/ЭДТА буфер (CC1) для демаскировки антигена, разведенный (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.)
 - ULTRA CC1 (TRIS/Борат/ЭДТА буфер (CC1) для демаскировки антигена, разведенный (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.)
 - Hematoxylin II (Гистологический краситель Гематоксилин II ≤ 60%) (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.)
 - Bluing Reagent (Реагент для придания окраске синего цвета) (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.)
- *Выбирается на усмотрение пользователя.

Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay предназначен для использования со следующими приборами серии Ventana Benchmark:

- BenchMark GX (Иммуногистостейнер автоматический BenchMark GX с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2011-08976 от 27.01.2017г.))
- BenchMark XT (Иммуногистостейнер автоматический Ventana BenchMark XT с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05251 от 28.01.2016 г.))
- BenchMark ULTRA (Иммуногистостейнер автоматический Ventana BenchMark ULTRA с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05250 от 28.01.2016 г.))

Интерпретация окрашивания

При проведении автоматической процедуры иммунного окрашивания VENTANA наблюдается окрашивание коричневого цвета DAB в местах локализации антигена, обнаруженного реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay. Окрашенные препараты интерпретируются квалифицированным патоморфологом, использующим световой микроскоп. Перед интерпретацией полученных результатов тканевые контроли и окрашенный продукт должны быть оценены квалифицированным патоморфологом, имеющим опыт и владеющим процедурами иммуногистохимического окрашивания (ИHC). См. Руководство по интерпретации VENTANA PD-L1 (SP263) Assay, где приводятся характеристики и изображения (см. Приложение 2).

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

Если оценка результатов окрашивания показывает, что образец пациента невозможен для интерпретации, следует получить новый образец. Повторное окрашивание образца должно проводиться на неокрашенных препаратах, если:

- 1) препарат ткани для текущего контроля не показывает приемлемого окрашивания;
- 2) препарат для отрицательного контроля не показывает приемлемого окрашивания, или (3) невозможно оценить результат окрашивания препарата реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay.

Если последний из этих препаратов не интерпретируется из-за артефактов, краевых эффектов, некроза, отсутствия ткани или по любой другой причине, то препарат не может использоваться для клинической оценки.

Если контроли приемлемы и препарат, окрашенный реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay, подходит для оценки, то препарат может быть оценен квалифицированным патоморфологом согласно процедуре, описанной ниже.

Критерии приемлемости морфологии и фона

Приемлемость морфологии тканей и фона оцениваются для каждого отдельного случая, используя критерии, описанные в таблицах ниже.

Критерии приемлемости морфологии

Интерпретация	Наблюдение с помощью микроскопа
Приемлемое	Исследуемое клеточное вещество визуализируется, что позволяет оценить окрашивание

Ventana PD-L1 (SP263) Assay

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

Неприемлемое	Исследуемое клеточное вещество не визуализируется, что препятствует оценке окрашивания
--------------	--

Критерии приемлемости фона

Интерпретация	Наблюдение с помощью микроскопа
Приемлемое	Неспецифическое окрашивание, которое не препятствует оценке специфического окрашивания
Неприемлемое	Неспецифическое окрашивание, которое препятствует оценке специфического окрашивания

Инструкция по оценке интенсивности окрашивания.

Квалифицированный специалист классифицирует ткани по общей интенсивности специфического окрашивания по шкале 0 – 3+.

При использовании шкалы 0-3+ значение 3+ отражает высокий уровень экспрессии белка - выраженное окрашивание, 2+ - умеренное окрашивание, 1+ – слабое окрашивание, 0 означает отсутствие экспрессии белка.

Значение +2 указывает на снижение экспрессии окрашивания на примерно 33% от значения 3+, а значение 1+ указывает на снижение экспрессии окрашивания на примерно 33% от значения 2+.

Тканевый контроль плаценты

Плацентарная ткань, окрашенная с помощью VENTANA PD-L1 (SP263) Assay, демонстрирует однородное окрашивание мембраны клеток линии трофобласта от умеренного до выраженного и окрашивание цитоплазмы клеток линии трофобласта от слабого до выраженного. Стромальная ткань и сосудистая сеть плаценты могут быть использованы для оценки любого фонового окрашивания (таблица 4).

Табл.4. Критерии оценки тканевого контроля плаценты для реагента VENTANA PD-L1 (SP263) Assay

Интерпретация	Описание окрашивания
Приемлемое	Однородное окрашивание мембраны клеток линии трофобласта от умеренного до выраженного; отсутствие окрашивания плацентарной стромы и сосудистой сети
Неприемлемое	Однородное окрашивание мембраны клеток линии трофобласта от отсутствия до слабого окрашивания и/или специфическое окрашивание плацентарной стромы и сосудистых структур

Интенсивность фонового окрашивания должна быть равна или меньше 0,5.

Реагент для отрицательного контроля

Неспецифическое окрашивание (при наличии) может иметь диффузный характер и может быть оценено с использованием микропрепарата, окрашенного реагентом для отрицательного контроля Rabbit Monoclonal Negative Control Ig.

Для интерпретации результатов окрашивания следует использовать интактные клетки, так как некротические и дегенеративные клетки часто окрашиваются неспецифично. Если наблюдается чрезмерное фоновое окрашивание, результаты для исследуемого образца считаются недостоверными.

Критерии оценки

Ткань, окрашенная реагентом для отрицательного контроля, не должна иметь специфического окрашивания. Интенсивность фонового окрашивания должна быть равна или меньше 0,5.

Ткань пациента

Характер окрашивания с использованием реагента VENTANA PD-L1 (SP263) Assay в опухолевых клетках — мембранный и/или цитоплазматический. Клетки иммунной системы демонстрируют

окрашивание линейно-мембранного, диффузно-цитоплазматического и/или точечного характера. Считается, что цитоплазматическое окрашивание опухолевых клеток, как и любое иммунное окрашивание клеток, при условии наличия такового, не является положительным фактором для целей оценки.

Опухолевые клетки (далее TC) оцениваются в процентах опухолевых клеток с окрашиванием мембраны PD-L1 любой интенсивности. Ткань пациента должна оцениваться в соответствии с алгоритмом оценивания реагента VENTANA PD-L1 (SP263) Assay. Дополнительные инструкции и соответствующие изображения приведены в руководстве по интерпретации (см. Приложение 2).

цитоплазматическое окрашивание опухолевых клеток, как и любое иммунное окрашивание клеток, при условии наличия такового, не является положительным фактором для целей оценки.

Факторы, затрудняющие оценку.

Различные структуры окрашивания и морфологические признаки могут затруднить интерпретацию и количественное определение окрашивания опухолевых мембран.

Некоторые случаи могут быть особенно сложными из-за следующих факторов:

• Слабое цитоплазматическое окрашивание

В некоторых образцах возможно проявление слабого цитоплазматического окрашивания опухолевых клеток, которое при малом увеличении может быть спутано со слабым мембранным окрашиванием опухолевых клеток. По этой причине при оценке результатов окрашивания образцов реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay слабое окрашивание должно быть изучено при большем увеличении для дифференциации между мембранным и цитоплазматическим окрашиванием опухолевых клеток.

• Наложение интенсивного окрашивания иммунных клеток на окрашивание опухолевых клеток

Некоторые опухоли могут содержать обширный воспалительный компонент, который может окружать опухоль или инфильтрироваться в нее. В случаях, когда сильное окрашивание наблюдается как для опухолевых, так и для иммунных клеток, могут возникнуть сложности в их дифференциации и количественном определении уровня экспрессии PD-L1 для опухолевых клеток. Присутствие иммунных клеток, инфильтрирующих опухоль, должно быть подтверждено окрашиванием образца гематоксилином и эозином. Структура PD-L1 окрашивания и клеточные ядерные характеристики помогают присвоить экспрессию иммунным (точечное окрашивание) или опухолевым клеткам (линейное мембранное окрашивание).

• Маскирующий эндогенный материал

Иногда присутствие в образцах HMPЛ такого эндогенного материала, как антракозный пигмент, меланин или гемосидерин, может затруднить анализ и исказить результаты оценки окрашивания опухолевых и иммунных клеток при помощи реагента VENTANA PD-L1 (SP263) Assay. Сравнение образца отрицательного изотипного контроля с образцом PD-L1 окрашивания может помочь в дифференциации между окрашиванием биомаркера и эндогенного материала. В опухолях HMPЛ со значительным образованием кератина может быть получен гистиоцитарный ответ в виде гигантских клеток инородного тела. Подобный иммунный ответ может имитировать окрашивание опухолевых клеток с мембранным окрашиванием гигантских клеток.

• Гетерогенность

Оценка общего процента мембранного окрашивания опухолевых клеток может быть затруднена при гетерогенном распределении экспрессии. В этом случае может помочь системный подход и разделение опухоли на меньшие равные части жизнеспособной опухоли с последующим определением в них процента опухолевых клеток с мембраной и расчетом среднего значения.

Повторяемость и внутрилабораторная прецизионность

Критерий приемлемости: Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay должен приводить к такому воспроизводимому окрашиванию, при

Ventana PD-L1 (SP263) Assay

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

котором одинаковый отрицательный или положительный клинический показатель экспрессии PD-L1 будет выявляться не менее чем на 90% стекол с образцом ткани и на образцах плаценты человека.

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

Повторяемость между партиями

Критерий приемлемости: Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay должен 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 образцом ткани.

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

Исследование прецизионности между экспертами и каждому эксперту.

Критерий приемлемости: Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay должен 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 образцом ткани.

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

Исследование воспроизводимости результата между лабораториями.

Критерий приемлемости: Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay должен 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 образцом ткани.

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

Результаты исследований межплатформенной и внутриплатформенной воспроизводимости.

Исследования успешно продемонстрировали, что реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay способствует однородному и высокоточному окрашиванию внутри и между приборами BenchMark ULTRA, BenchMark XT и BenchMark GX. Уровень внутриплатформенной и межплатформенной воспроизводимости превысил 90,0% для положительных и отрицательных случаев. В этом исследовании использовалось в общей сложности 5 PD-L1-положительных и 5 PD-L1-отрицательных случаев.

Критерий приемлемости: Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay должен 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 образцом ткани.

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

Benchmark-BenchMark ULTRA:

Анализ воспроизводимости статуса PD-L1 тканей NSCLC, окрашенных с помощью реагента VENTANA PD-L1 (SP263) Assay на трех платформах BenchMark ULTRA, показал, что коэффициент положительной согласованности (для случаев с положительным статусом PD-L1) составил 100% при доверительном интервале (далее ДИ) 95% (86,2-100). Коэффициент отрицательной согласованности (для случаев с отрицательным статусом PD-L1) составил 97,2% при ДИ 95% (85,8 - 99,5). Коэффициент общей согласованности для всех случаев составил 98,3%, при ДИ 95% (91,1 - 99,7).

Benchmark-BenchMark GX:

Анализ воспроизводимости статуса PD-L1 тканей NSCLC, окрашенных с помощью реагента VENTANA PD-L1 (SP263) Assay на трех платформах BenchMark GX, показал, что коэффициент положительной согласованности (для случаев с положительным статусом PD-L1) составил 95,8% при ДИ 95% (79,8 - 99,3). Коэффициент отрицательной согласованности (для случаев с отрицательным статусом PD-L1) составил 97,2% при ДИ 95% (85,8 - 99,5). Коэффициент общей согласованности для всех случаев составил 96,7%, при ДИ 95% (88,6 - 99,1).

Benchmark-BenchMark XT:

Анализ воспроизводимости статуса PD-L1 тканей NSCLC, окрашенных с помощью реагента VENTANA PD-L1 (SP263) Assay на трех платформах BenchMark XT, показал, что коэффициент положительной согласованности (для случаев с положительным статусом PD-L1) составил 100% при ДИ 95% (86,2-100). Коэффициент отрицательной согласованности (для случаев с отрицательным статусом PD-L1) составил 94,4% при ДИ 95% (81,9 - 98,5). Коэффициент общей согласованности для всех случаев составил 96,7%, при ДИ 95% (88,6 - 99,1).

Межплатформенная точность: BenchMark ULTRA - BenchMark GX

Анализ воспроизводимости статуса PD-L1 тканей NSCLC, окрашенных с помощью реагента VENTANA PD-L1 (SP263) Assay, при сравнении окрашивающих платформ показал, что коэффициент положительной согласованности (для случаев с положительным статусом PD-L1) составил 95,8% при ДИ 95% (79,8 - 99,3). Коэффициент отрицательной согласованности (для случаев с отрицательным статусом PD-L1) составил 97,2% при ДИ 95% (85,8 - 99,5). Коэффициент общей согласованности для всех случаев составил 96,7%, при ДИ 95% (88,6 - 99,1).

Межплатформенная точность: BenchMark ULTRA - BenchMark XT

Анализ воспроизводимости статуса PD-L1 тканей NSCLC, окрашенных с помощью реагента VENTANA PD-L1 (SP263) Assay при сравнении окрашивающих платформ показал, что коэффициент положительной согласованности (для случаев с положительным статусом PD-L1) составил 100% при ДИ 95% (86,2-100). Коэффициент отрицательной согласованности (для случаев с отрицательным статусом PD-L1) составил 94,4% при ДИ 95% (81,9 - 98,5). Коэффициент общей согласованности для всех случаев составил 96,7%, при ДИ 95% (88,6 - 99,1).

Упаковка

Реагент Ventana PD-L1 (SP263) Assay поставляется в пластиковой дозаторе, упакованном в коробку из мелованной бумаги. Один дозатор содержит достаточное количество реагента для проведения 50 тестов.

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

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

Первичная упаковка - дозатор.

Материал: полипропилен

Вес: 20,5 гр (± 0,2 гр)

Объем: 34,1 см³ (± 0,2 см³)

Размеры дозатора:

Высота: 126,7 мм (± 2 мм)

Длина: 62,7 мм (± 1 мм)

Ширина: 37,9 мм (± 1 мм)

Толщина стенок: 0,98 мм (± 0,03 мм)

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

Ventana PD-L1 (SP263) Assay

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

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

Маркировка

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

Символ	Определение	Символ	Определение
	Смотрите инструкцию по применению		Для диагностики <i>in vitro</i>
	Каталожный номер		Код партии
	Производитель		Использовать до (срок годности)
	СЕ-маркировка		Предостережение, обращайтесь к инструкции по применению
	Содержит достаточно для п-исследований		Пригоден для вторичной переработки
	Температурные ограничения		Не использовать повторно
	Уполномоченный представитель в Европейском сообществе		Штрих-код
	Предупреждения		Глобальный номер предмета торговли

Маркировка дозатора

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

Маркировка картонной упаковки

Логотип производителя
Наименование изделия
Объем дозатора (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности
Количество тестов, которые можно сделать
Температура хранения
Предупреждение для диагностики *in-vitro*
СЕ-маркировка
Штрих-код
Производственный код
Глобальный номер предмета торговли
Предупреждение - не использовать повторно
Полное название, адрес, телефон производителя
Ссылка на электронную инструкцию на русском языке
Название и адрес Уполномоченного представителя в Европейском сообществе

Страна происхождения

Обозначение, что пригодно для вторичной переработки

Знаки предупреждения:

-H317 – может вызвать кожную аллергическую реакцию

-P261 – избегать вдыхания

пыли/дыма/газа/тумана/паров/распылителей жидкости.

-P272 – не выносить загрязненную одежду с рабочего места.

-P280 – пользоваться защитными перчатками/защитной одеждой/средствами защиты глаз/лица.

-P333+P313 – при раздражении кожи или появления сыпи: обратиться к врачу.

-P362+P364 – Снять загрязненную одежду и промыть ее перед повторным применением

-P501 – удалить содержимое/контейнер в...

Условия транспортировки

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

Требования к охране окружающей среды

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

Стерилизация

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

Утилизация

Во избежание возможного загрязнения окружающей среды Реагент Ventana PD-L1 (SP263) Assay для качественного обнаружения лиганда-1 белка программируемой смерти Programmed Death Ligand 1 (PD-L1) иммуногистохимическим анализом *in vitro* диагностике к иммуноестейнерам автоматическим серии Ventana BenchMark с истекшим сроком годности или использованные дозаторы, а также отходы, использованных реагентов, должны утилизироваться в соответствии с местными государственными и/или больничными нормативными требованиями. Правильное уничтожение и утилизация будет поддерживать сохранение природных ресурсов и содействовать защите здоровья человека и окружающей среды.

Утилизация отходов упаковки.

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

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

При утилизации и уничтожении изделий с истекшим сроком годности, а также отходов, использованных реагентов, необходимо действовать в соответствии с гигиеническими нормативами и следовать официальным инструкциям по утилизации и уничтожению потенциально инфекционного и химического материала, принятым на территории Российской Федерации и в данном ЛПУ.

Ventana PD-L1 (SP263) Assay

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

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

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

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

Не утилизировать совместно с бытовыми отходами.

Гарантийные обязательства

Производитель компания «Roche Diagnostics GmbH» гарантирует, что Реагент Ventana PD-L1 (SP263) Assay для качественного обнаружения лиганда-1 белка программируемой смерти Programmed Death Ligand 1 (PD-L1) иммуногистохимическим анализом в *in vitro* диагностике к иммуногистохимическим автоматическим серии Ventana BenchMark соответствуют спецификациям, заявленным на этикетке. Производитель несет ответственность за работу изделий только в случае их правильного использования в соответствии с инструкцией, а также соблюдения правил хранения и транспортировки.

Производитель гарантирует стабильность Ventana PD-L1 (SP263) Assay до окончания срока годности при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, указанных в инструкции. Производитель гарантирует безопасность медицинского изделия, отсутствие недопустимого риска причинения вреда жизни, здоровью человека и окружающей среде при использовании Ventana PD-L1 (SP263) Assay по назначению в условиях, предусмотренных производителем. Изделия должны использоваться только до истечения срока годности, который указан на упаковке. НАСТОЯЩАЯ ОГРАНИЧЕННАЯ ГАРАНТИЯ ЗАМЕНЯЕТ СОБОЙ ИНЫЕ ГАРАНТИИ, ОДНОЗНАЧНО ВЫРАЖЕННЫЕ ИЛИ ПОДРАЗУМЕВАЕМЫЕ, ВКЛЮЧАЯ ЛЮБУЮ ПОДРАЗУМЕВАЕМУЮ ГАРАНТИЮ ПРИГОДНОСТИ ДЛЯ КОММЕРЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИЛИ ДЛЯ ЛЮБОЙ ИНОЙ ЦЕЛИ. КОМПАНИЯ Ventana Medical Systems, Inc. («Вентана Медикал Системс, Инк.») НЕ НЕСЕТ ОТВЕТСТВЕННОСТИ ЗА СЛУЧАЙНЫЕ, НЕПРЯМЫЕ, СПЕЦИАЛЬНЫЕ ИЛИ КОСВЕННЫЕ УБЫТКИ. По вопросам, связанным с качеством изделий, а также с их работой, нужно обращаться к Уполномоченному представителю производителя на территории РФ: Общество с ограниченной ответственностью «Рош Диагностика Рус» (ООО «Рош Диагностика Рус»), 107031, Москва, Трубная площадь, д.2, тел.: (495) 229-69-99, факс: (495) 229-62-64

Претензии по качеству (рекламация)

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

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

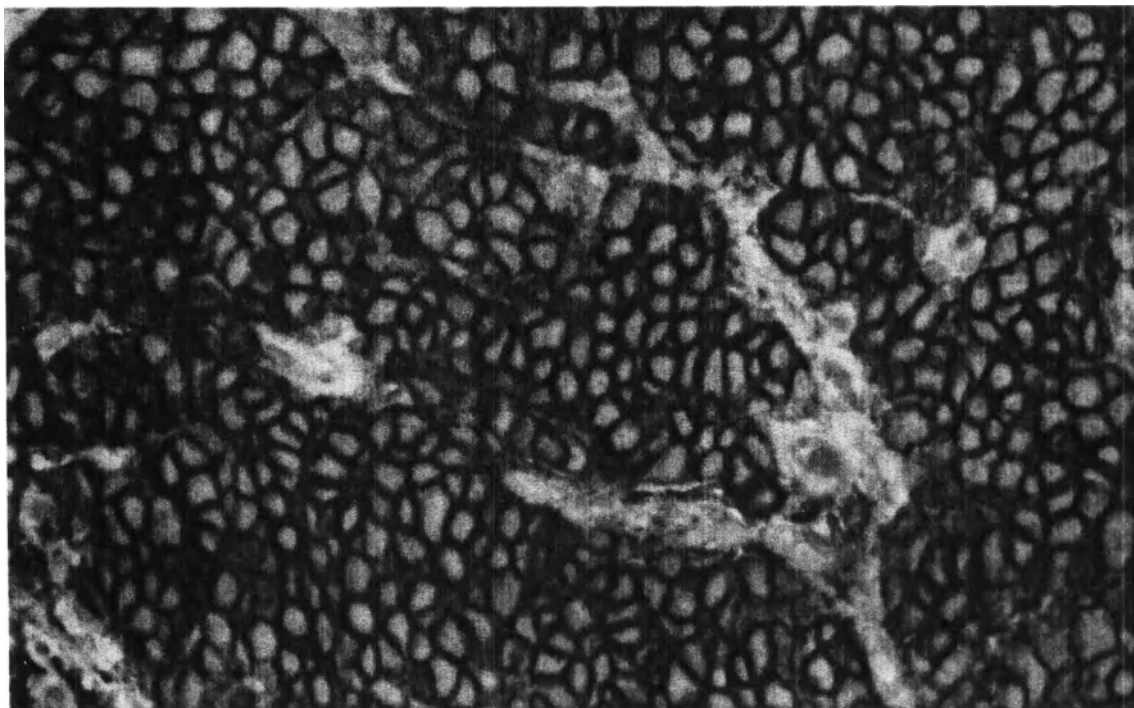
В случае рекламации обращаться к производителю и / или уполномоченному представителю производителя.

Уполномоченный представитель производителя на территории РФ:

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



**Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay для проведения окрашивания
немелкоклеточного рака легких
Руководство по интерпретации результатов**



СОДЕРЖАНИЕ

Введение	2
Предусмотренное применение	3
Предусмотренное применение продукта	3
Назначение руководства по интерпретации результатов	3
Оценка результатов	4
Оценка структур и интенсивностей окрашивания опухолевых клеток	4
Образцы окрашивания иммунных клеток	7
Требования к образцам ткани	11
Критерии приемлемости морфологии и фона	12
Положительный тканевый контроль	12
Критерии оценки	14
Таблица оценки окрашивания PD-L1	14
Определение процентного значения мембранного окрашивания	14
Атлас экспрессии PD-L1 при немелкоклеточном раке легких	15
Фотогалерея	15
Факторы, затрудняющие оценку	29
Наложение интенсивного окрашивания иммунных клеток на окрашивание опухолевых клеток	29
Маскирующий эндогенный материал	30
Гетерогенность	30
Влияние преаналитических условий на процедуру окрашивания реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay	37
Рекомендации по использованию фиксатора для получения оптимальных результатов окрашивания реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay	37
Влияние толщины образца ткани на окрашивание реагентом VENTANA PD- L1 (SP263) Assay	39
Устойчивость участка обработки микроскопического препарата	39
Список использованной литературы	39

Введение

В течение нескольких десятилетий рак легких является самым распространенным видом рака по всему миру и остается главной причиной смертей, обусловленных онкологическими заболеваниями. По оценкам экспертов он является причиной 12,9% новых случаев заболевания раком и почти 1,59 миллионов смертей ежегодно во всем мире, что составляет примерно пятую часть летальных исходов, связанных с онкологическими заболеваниями.¹ Несмотря на усовершенствования в диагностике и лечении прогноз остается неблагоприятным с низкими показателями длительного выживания на всех стадиях заболевания. В течение последних трех десятилетий в борьбе с раком легких был достигнут наименьший прогресс в коэффициенте выживания по сравнению с другими видами рака.²

На немелкоклеточный рак легких (НМРЛ) (один из двух основных видов рака легких) приходится примерно 85% всех случаев заболевания. У более половины пациентов, которым впервые был поставлен диагноз немелкоклеточного рака легких, заболевание уже дало метастазы, что значительно снижает вероятность выживания. Относительная пятилетняя выживаемость при немелкоклеточном раке легких, диагностированном, как метастатическая опухоль, составляет 4,7%.³ У большинства пациентов с немелкоклеточным раком легких обнаруживается неоперабельная местнораспространенная опухоль (стадия IIIB) или метастатическая опухоль (стадия IV), ни для одного из которых в настоящее время не существует методов лечения; в среднем обычно эти пациенты умирают в течение года после постановки диагноза. Улучшение клинических исходов рака легких вероятно может быть достигнуто путем лучшего понимания процессов на молекулярном уровне, которые лежат в основе его патогенеза, выявления новых биомаркеров и разработки новых методов лечения.

PD-L1 является трансмембранным белком, который регулирует иммунные реакции по принципу отрицательной обратной связи путем связывания с рецепторами programmed death-1 (PD-1) и B7-1 (CD80)⁴. PD-1 представляет собой ингибиторный рецептор, который экспрессируется на Т-лимфоцитах после активации Т-лимфоцитов, стабильно присутствующей при состояниях постоянной стимуляции, таких как хроническая инфекция или рак⁵. Связывание PD-L1 с PD-1 подавляет пролиферацию Т-лимфоцитов, продукцию цитокинов и цитолитическую активность, что приводит к функциональной инактивации или истощению Т-клеток. CD80 — молекула, которая экспрессируется на антигенпредставляющих клетках и активированных Т-лимфоцитах. Связывание PD-L1 с CD80 на Т-лимфоцитах и антигенпредставляющих клетках может способствовать понижающей регуляции иммунных ответов, включая ингибирование активации Т-лимфоцитов и выработки цитокинов⁶. Экспрессия PD-L1 наблюдалась в иммунных клетках и опухолевых клетках^{7,8}. Было выявлено, что aberrантная экспрессия PD-L1 на опухолевых клетках препятствует функционированию противоопухолевого иммунитета, приводя к ускользанию от механизмов иммунологического надзора^{5,8}. Таким образом, прерывание метаболического пути PD-L1/PD-1 представляет собой перспективную стратегию укрепления опухолеспецифического Т-клеточного иммунитета, подавляемого экспрессией PD-L1 в опухолевом микроокружении. PD-L1 экспрессируется при широком диапазоне видов рака, включая рак легких, меланому, рак уротелия, рак яичников и колоректальный рак. Было выявлено, что распространенность экспрессии PD-L1 колеблется от 12 % до 100 % в зависимости от типа опухоли, анти-PD-L1 клона и порогового значения положительности⁹.

Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay представляет собой антитело rabbit monoclonal primary antibody, вырабатываемое против programmed death ligand 1 (PD-L1), который является гомологом 1 белка B7 (B7-H1, CD274). Он распознает трансмембранный связанный гликопротеин с молекулярной массой 45-55 кДа.

Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay для окрашивания немелкоклеточного рака легких
Руководство по интерпретации результатов

Реагент Ventana PD-L1 (SP263) Assay предназначен для качественного обнаружения лиганда-1 белка программируемой смерти (programmed death-ligand 1 — PD-L1) иммуногистохимическим анализом в *in vitro* диагностике в опухолевых клетках и иммунокомпетентных клетках, инфильтрирующих ткань опухоли, в фиксированных формалином и залитых парафином (FFPE) тканевых срезах немелкоклеточного рака легкого (далее - NSCLC) и других опухолевых тканей, окрашенных при помощи набора для обнаружения (система детекции) OptiView DAB IHC Detection Kit на приборе для автоматического окрашивания серии VENTANA BenchMark.

Предусмотренное применение продукта

Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay предназначен для качественного обнаружения белка лиганда-1 белка программируемой смерти Programmed Death Ligand 1 (PD-L1) в фиксированных формалином и залитых парафином (FFPE) тканевых срезах немелкоклеточного рака легкого (далее - NSCLC) и других опухолевых тканей, окрашенных при помощи набора для обнаружения (система детекции) OptiView DAB IHC Detection Kit на приборе для автоматического окрашивания серии VENTANA BenchMark.

Экспрессия PD-L1 в мембране опухолевых клеток (TC), определяемая при помощи реагента VENTANA PD-L1 (SP263) Assay в клетках NSCLC, позволяет определить пациентов для терапии препаратом KEYTRUDA® (пембролизумаб).

Экспрессия PD-L1 в мембране опухолевых клеток (TC), определяемая при помощи реагента VENTANA PD-L1 (SP263) Assay в клетках NSCLC, может быть связана с улучшенной выживаемостью на фоне лечения препаратом OPDIVO® (ниволумаб).

Интерпретацию результатов должен выполнять квалифицированный патоморфолог с учетом результатов гистологического исследования и необходимых клинических данных после сравнения с соответствующими контролями.

Данные антитела предназначены для диагностики *in vitro* (IVD).

Реагент предназначен для определения пациентов с NSCLC, которым терапия может принести пользу, как это показано в таблице 1.

Таблица 1. Метод терапии и связанные показания

Показание	Терапия	Экспрессия PD-L1 – линия терапии
Немелкоклеточный рак легкого (NSCLC)	KEYTRUDA®	≥ 50% TC – первая линия
		≥ 1% TC – вторая линия
	OPDIVO®	≥ 1%, ≥ 5% и ≥ 10% TC – вторая линия

Назначение руководства по интерпретации результатов

Данное руководство предназначено для помощи патоморфологам в оценке фиксированных формалином и залитых парафином тканевых срезах немелкоклеточного рака легких, окрашенных при помощи реагента VENTANA PD-L1 (SP263) Assay с использованием алгоритма оценивания VENTANA PD-L1 (SP263) в соответствии с предлагаемой маркировкой продукта. В частности, в данном руководстве приведены:

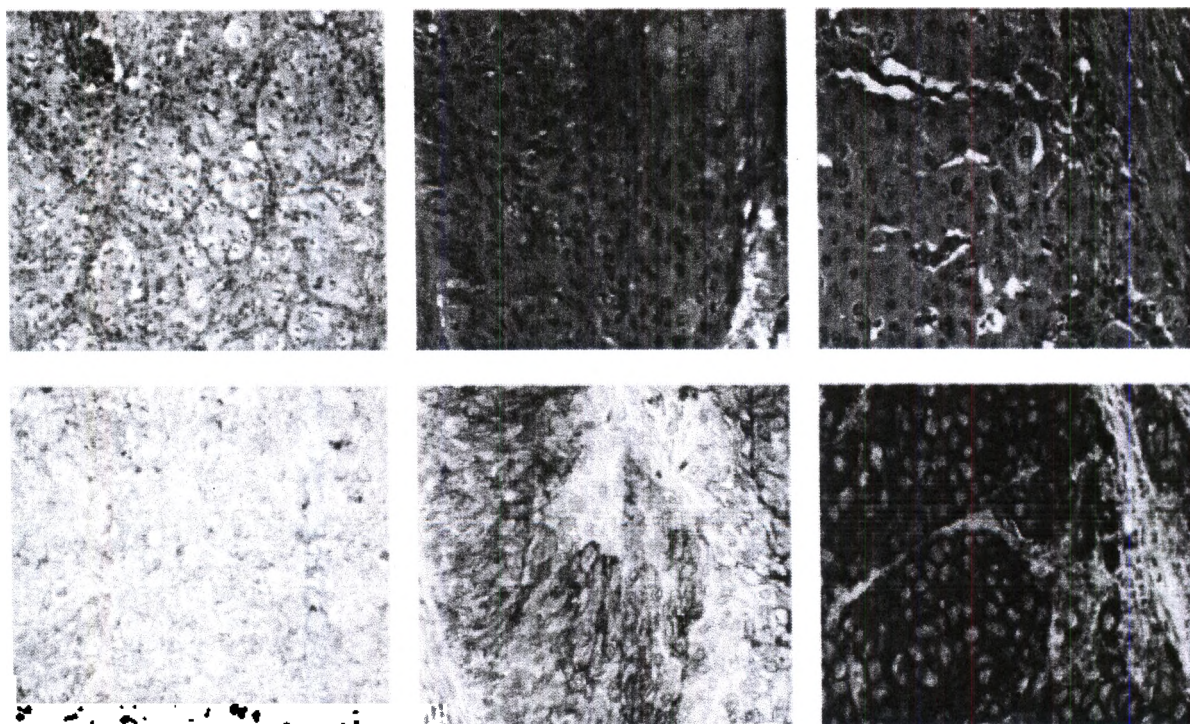
- Фотографии, на которых показаны шаблоны и интенсивности окрашивания, которые могут получиться при окрашивании тканей немелкоклеточного рака легких при помощи реагента VENTANA PD-L1 (SP263) Assay.
- Примеры сложных случаев.
- Обсуждение других методов контроля, которые могут быть использованы с реагентом, но не приводятся.

Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay для окрашивания немелкоклеточного рака легких
Руководство по интерпретации результатов

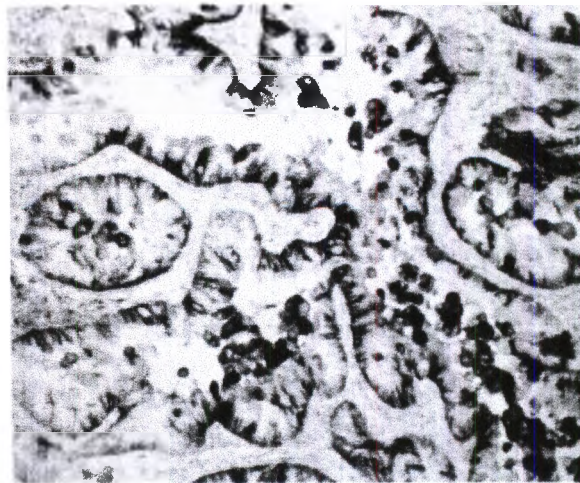
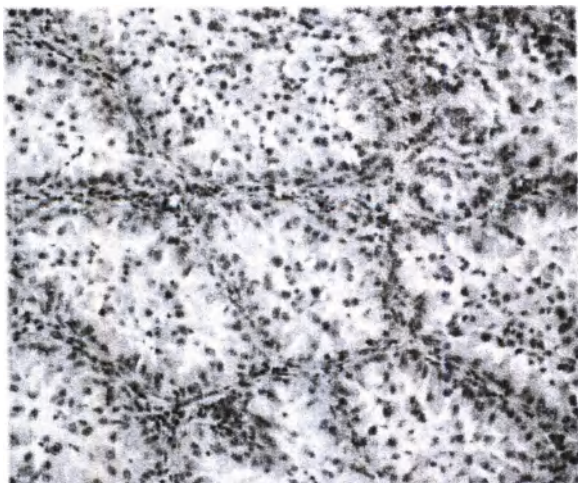
Оценка структур и интенсивностей окрашивания опухолевых клеток

Неопластические клетки немелкоклеточного рака легких, помеченные реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay, оцениваются на положительный процентный результат анализа опухолевых клеток с окрашиванием мембраны при любой интенсивности сигнала диаминобензида (DAB). Иммуногистохимическое окрашивание в немелкоклеточном раке легких является мембранным и (или) цитоплазматическим и может быть выражено гомогенно или гетерогенно во всем новообразовании. Мембранное окрашивание может иметь прерывистую, циркулярную или базолатеральную структуру.

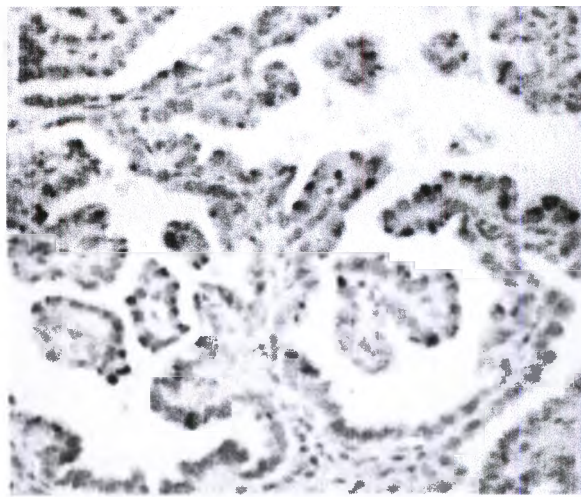
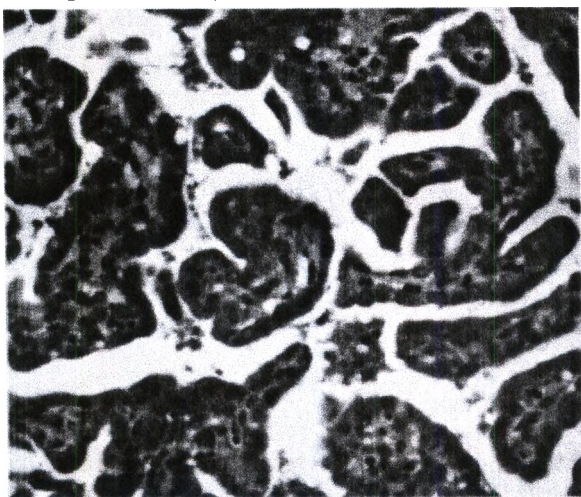
Цитоплазматическое окрашивание обычно расплывчатое, в некоторых случаях наблюдается тонкозернистое качество. В редких случаях проявляется перинуклеарное точкообразное окрашивание тела с переменной интенсивностью. Общий процент интенсивности сигналов опухолевой мембраны оценивается визуально и используется для получения уровня экспрессии PD-L1. Для определения экспрессии PD-L1 не учитывается цитоплазматическое окрашивание опухолевых клеток. Антитела для отрицательного контроля с изотипом используются для оценки присутствия фонового окрашивания в тестовых образцах и установления базового уровня интенсивности окрашивания.



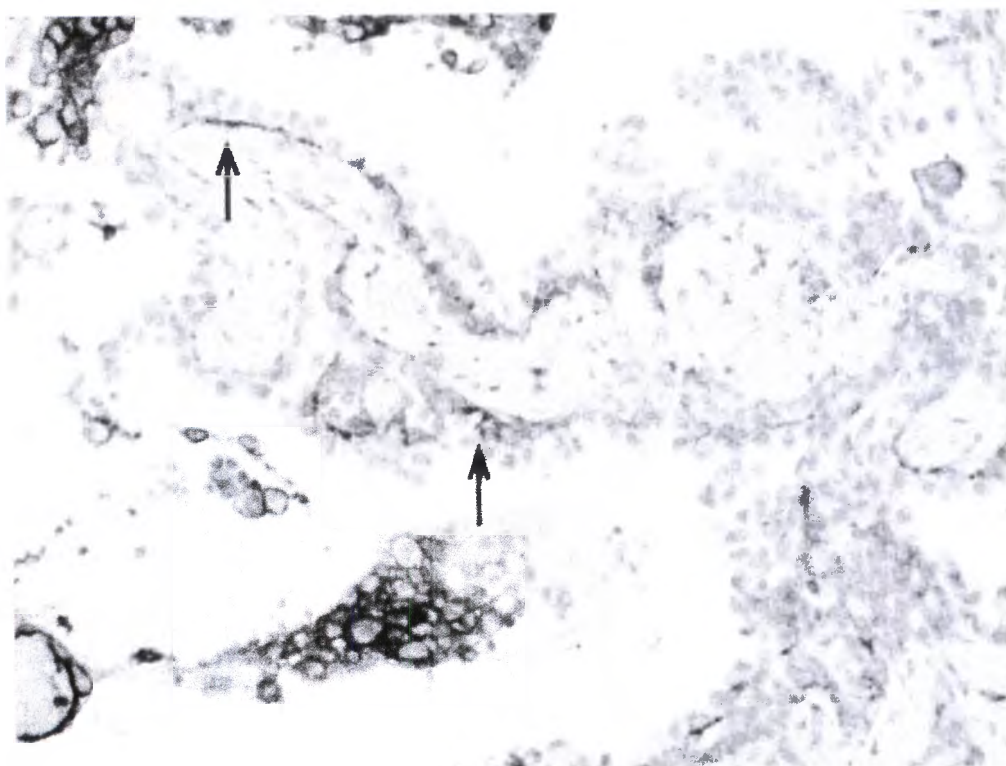
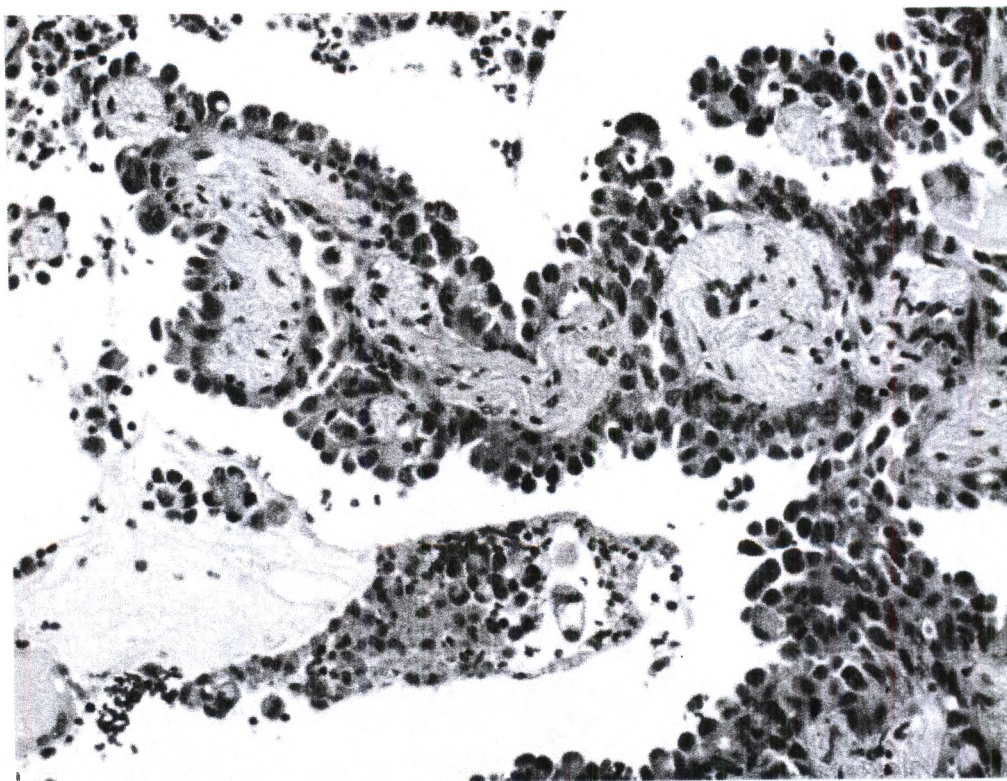
Немелкоклеточный рак легких, окраска гематоксилином и эозином и реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay: различные случаи, демонстрирующие диапазон мембранного и цитоплазматического окрашивания в опухолевых клетках (20X).



Немелкоклеточный рак легких, окраска гематоксилином и эозином и реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay: опухолевые клетки с базолатеральной структурой мембранного окрашивания (20X).



Немелкоклеточный рак легких, окраска гематоксилином и эозином и реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay: необычный случай перинуклеарного точечного окрашивания в пределах опухолевых клеток (40X).



Немелкоклеточный рак легких, окраска гематоксилином и эозином и реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay: при полном базолатеральном мембранном окрашивании опухоли в процентную оценку следует включать только клетки с полной экспрессией опухолевых клеток (красная стрелка указывает на опухолевые клетки с латеральным мембранным окрашиванием опухолевых клеток). Не следует учитывать зоны, где окрашивание может быть отнесено к иммунным клеткам, стромальным элементам или

Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay для окрашивания немелкоклеточного рака легких
Руководство по интерпретации результатов

базальной мембране, а не полному окрашиванию опухоли (синяя стрелка показывает окрашивание ниже опухолевых клеток без латерального окрашивания) (20X).

Образцы окрашивания иммунных клеток

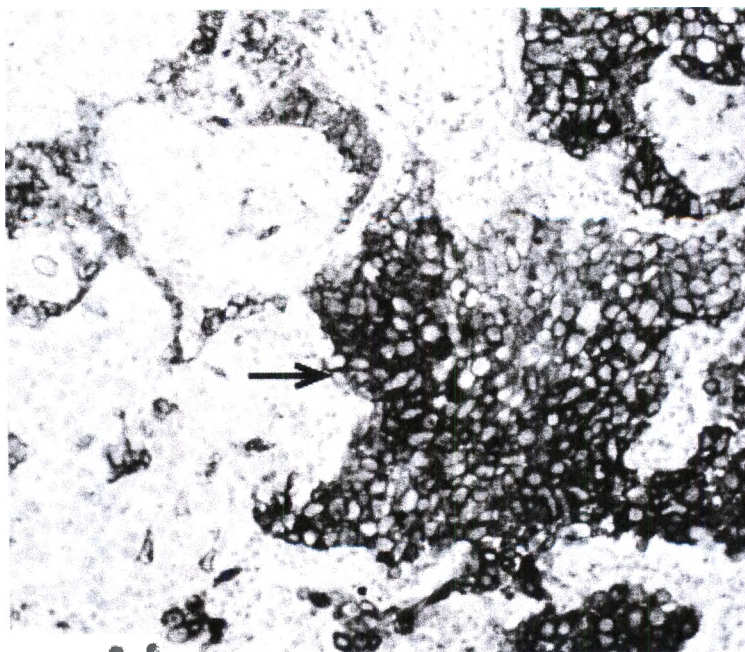
Иммунные клетки проявляют целый диапазон интенсивности окрашивания: отрицательное, слабое диффузное цитоплазматическое и (или) от слабого до сильного мембранного сигнала. Совместно с лимфоцитами можно увидеть пример точечного окрашивания. Экспрессия PD-L1 наблюдалась в лимфоцитах, макрофагах, гистиоцитах, клетках плазмы и нейтрофилах.

В качестве примера ниже приведены типичные изображения окрашивания иммунных клеток реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay, которые должны помочь патоморфологам в дифференциации между окрашиванием опухолевых и иммунных клеток. Окрашивание иммунных клеток не учитывается при определении уровня экспрессии PD-L1.

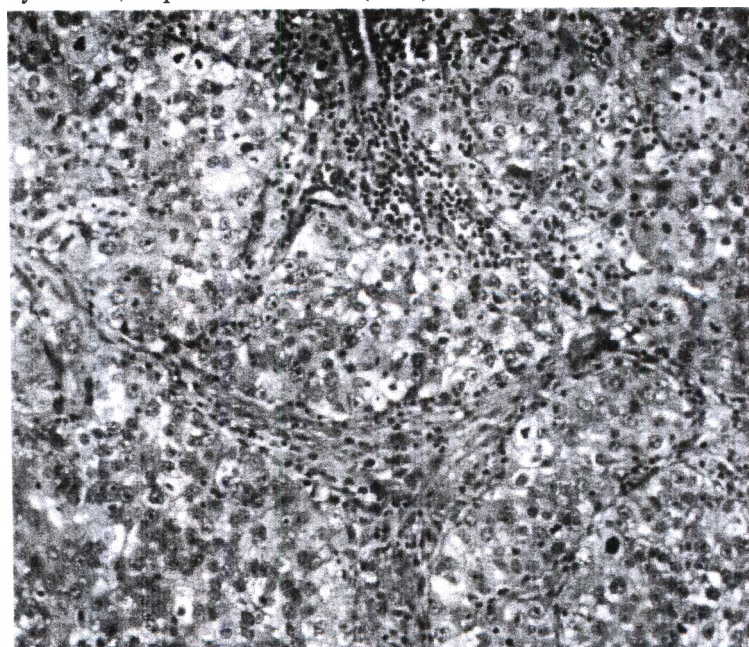
ПРИМЕЧАНИЕ: Иммунные клетки не могут использоваться в качестве надежных положительных внутренних контрольных образцов.



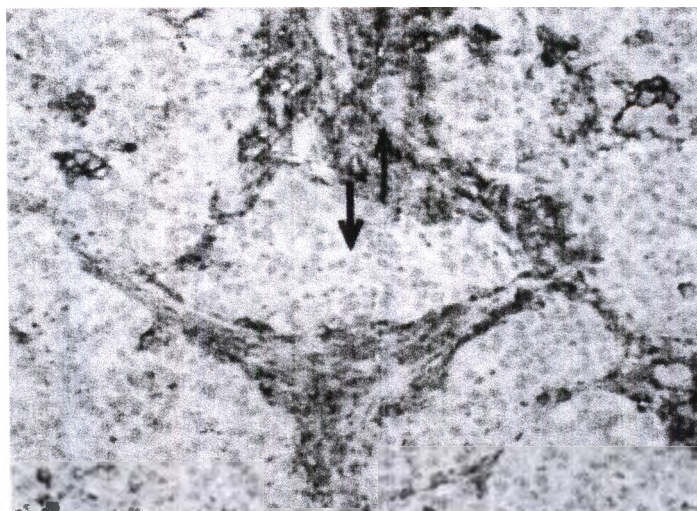
Немелкоклеточный рак легких, окраска гематоксилином и эозином: опухолевые клетки с альвеолярными макрофагами (стрелка) (20X).



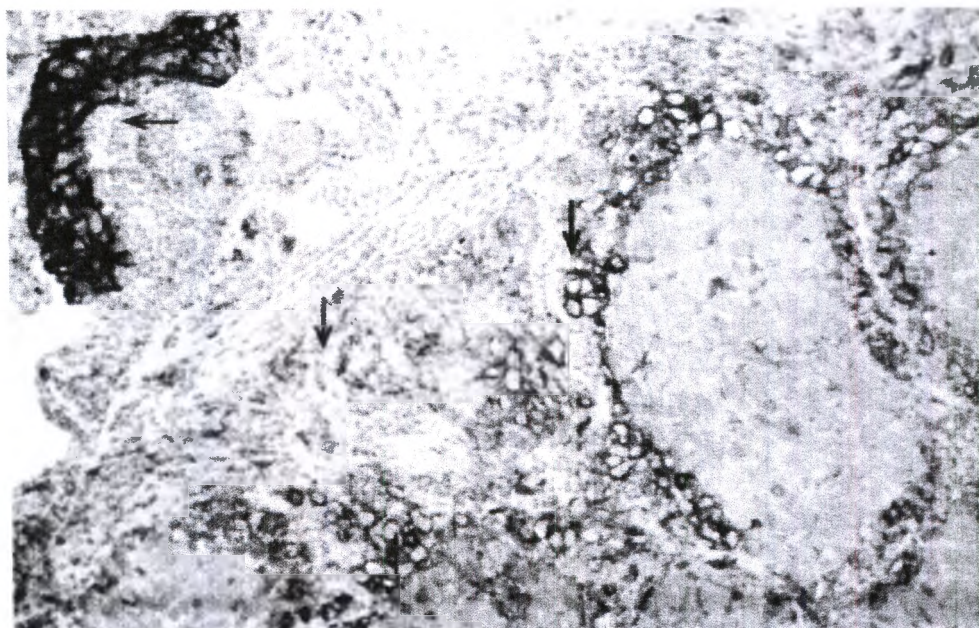
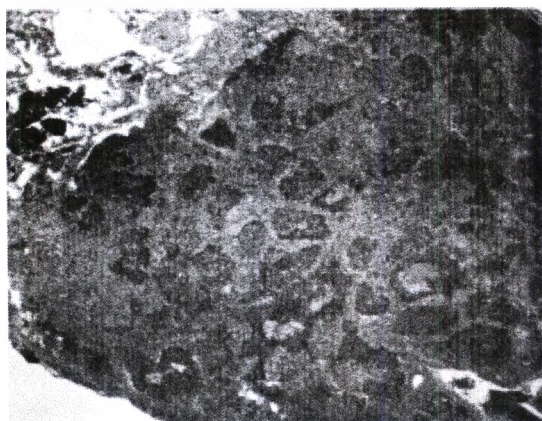
Немелкоклеточный рак легких, окраска реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay: положительное окрашивание альвеолярного макрофага (стрелка) с соседней PD-L1-отрицательной опухолью, окрашивание 0% (20X).



Немелкоклеточный рак легких, окраска гематоксилином и эозином: опухолевые клетки с иммунными клетками лимфоцитов и плазмоцитов (20X).



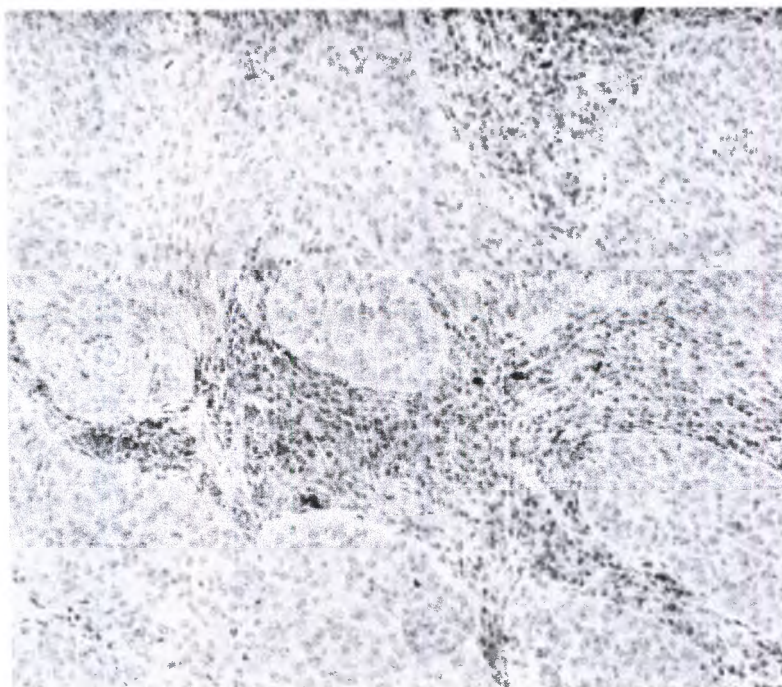
Немелкоклеточный рак легких, окраска реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay: точечное (синяя стрелка) и диффузное (черная стрелка) окрашивание иммунной клетки с соседней PD-L1-отрицательной опухолью, окрашивание 0% (20X).



Немелкоклеточный рак легких, окраска гематоксилином и эозином и реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay: при 4-кратном увеличении (верхние панели) представляется, что на образцах окрашивания присутствует значительное окрашивание опухолевой мембраны. Изучение при большем увеличении (20X, внизу) показывает, что опухоль преимущественно PD-L1-отрицательна с мембранным (черная стрелка) и

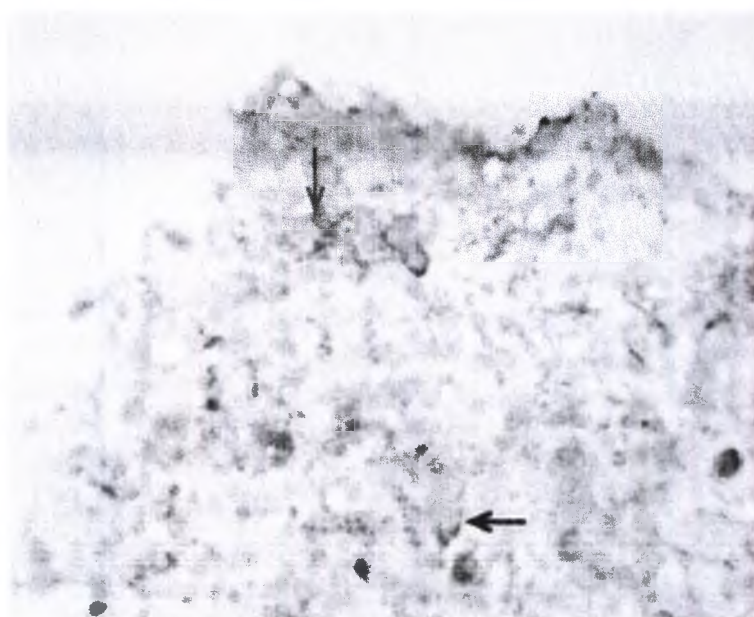
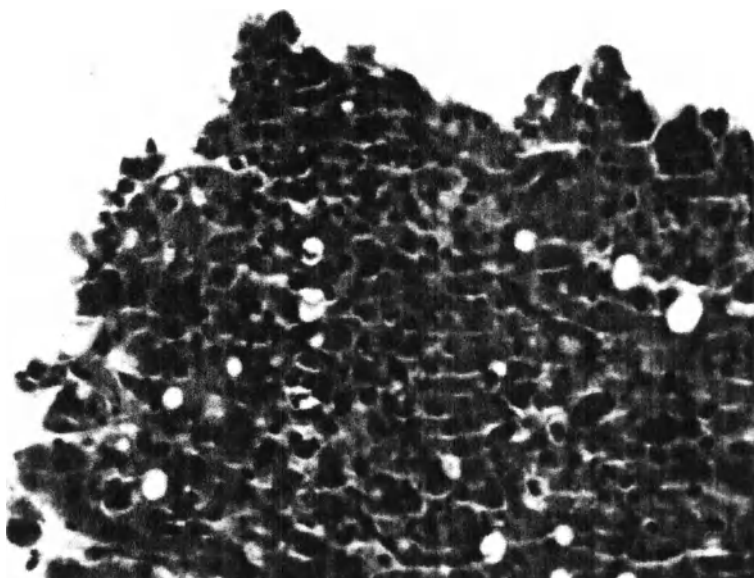
Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay для окрашивания немелкоклеточного рака легких
Руководство по интерпретации результатов

точечным (синяя стрелка) окрашиванием иммунных клеток. Также наблюдается окрашивание дендровидных клеток (красная стрелка).



Немелкоклеточный рак легких, окраска гематоксилином и эозином и реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay: плазмоциты со слабым диффузным и умеренным цитоплазматическим окрашиванием. Окружающие опухолевые клетки не окрашиваются (20X).

Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay для окрашивания немелкоклеточного рака легких
Руководство по интерпретации результатов



Немелкоклеточный рак легких, окраска гематоксилином и эозином и реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay: нейтрофилы при окрашивании гематоксилином и эозином проявляют экспрессию PD-L1 (синяя стрелка). В данном случае также проявляется умеренное мембранное окрашивание опухолевых клеток (черная стрелка) (40X).

Требования к образцам ткани

Для проведения анализа методом окрашивания реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay необходимо подготовить первый серийный срез ткани для окрашивания гематоксилином и эозином, второй серийный срез для отрицательного контроля окрашивания реагентом для отрицательного контроля Rabbit Monoclonal Negative Control Ig и третий серийный срез ткани для окрашивания реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay.

Дополнительно в качестве тканевого контроля при проведении окрашивания реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay может использоваться нормальная человеческая

Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay для окрашивания немелкоклеточного рака легких
Руководство по интерпретации результатов

плацентарная ткань. Эта ткань демонстрирует однородное окрашивание мембраны клеток линии трофобласта от умеренного до выраженного и окрашивание цитоплазмы клеток линии трофобласта от слабого до выраженного. Стромальная ткань и сосудистая сеть плаценты могут быть использованы для оценки любого фонового окрашивания. Если оценка результатов окрашивания гематоксилином и эозином показывает, что образец пациента невозможен для интерпретации, следует получить новый образец. Повторное окрашивание образца должно проводиться на неокрашенных препаратах, если

- (1) препарат ткани для текущего контроля не показывает приемлемого окрашивания;
- (2) препарат для отрицательного контроля не показывает приемлемого окрашивания; или
- (3) невозможно оценить результат окрашивания препарата реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay (иммуногистохимический препарат PD-L1).

Если последний из этих препаратов не интерпретируется из-за артефактов, краевых эффектов, некроза, отсутствия ткани или по любой другой причине, то препарат не может использоваться для клинической оценки. Если контроли приемлемы и препарат, окрашенный реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay, подходит для оценки, то препарат может быть оценен квалифицированным патоморфологом согласно процедуре, описанной в разделе «Критерии оценки».

Критерии приемлемости морфологии и фона

Приемлемость морфологии тканей и фона оцениваются для каждого отдельного случая, используя критерии, описанные в таблицах 2 и 3.

Таблица 2. Критерии приемлемости морфологии

Интерпретация	Наблюдение с помощью микроскопа
Приемлемое	Исследуемое клеточное вещество визуализируется, что позволяет оценить окрашивание
Неприемлемое	Исследуемое клеточное вещество не визуализируется, что препятствует оценке окрашивания

Таблица 3. Критерии приемлемости фона

Интерпретация	Наблюдение с помощью микроскопа
Приемлемое	Неспецифическое окрашивание, которое не препятствует оценке специфического окрашивания
Неприемлемое	Неспецифическое окрашивание, которое препятствует оценке специфического окрашивания

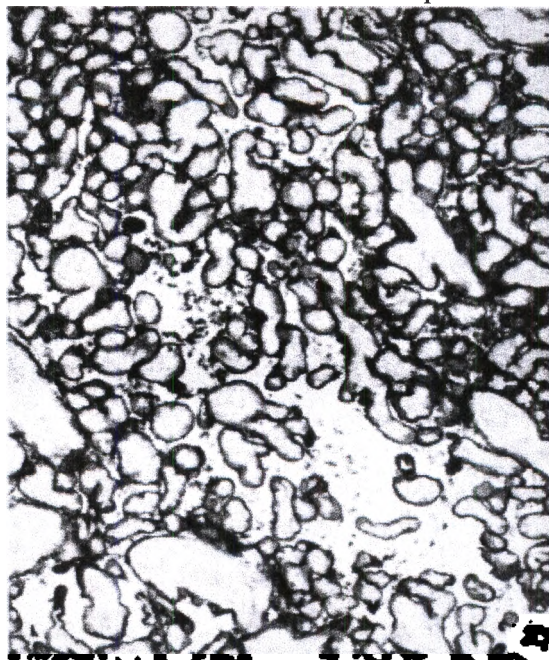
Положительный тканевый контроль

Известная ткань для положительного контроля, зафиксированная и обработанная тем же образом, что и образцы пациента, должна применяться для каждого набора условий исследования и в каждом цикле окрашивания реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay. Контрольная ткань (случай-индекс) должна быть свежеполученным образцом в ходе вскрытия, биопсии или хирургического вмешательства, подготовленным и зафиксированным как можно скорее тем же образом, что и образцы пациента. Эта ткань может использоваться для наблюдения за всеми этапами обработки и окрашивания образца. Срез ткани, закрепленный и обработанный иным образом нежели образец для испытаний, может использоваться в качестве контроля реагентов и окрашивания, но не для фиксации или подготовки ткани. Положительный случай НМРЛ с умеренным окрашиванием лучше подходит для контроля качества, чем интенсивно окрашенный; он может быть использован для обнаружения незначительных уровней деградации реагентов

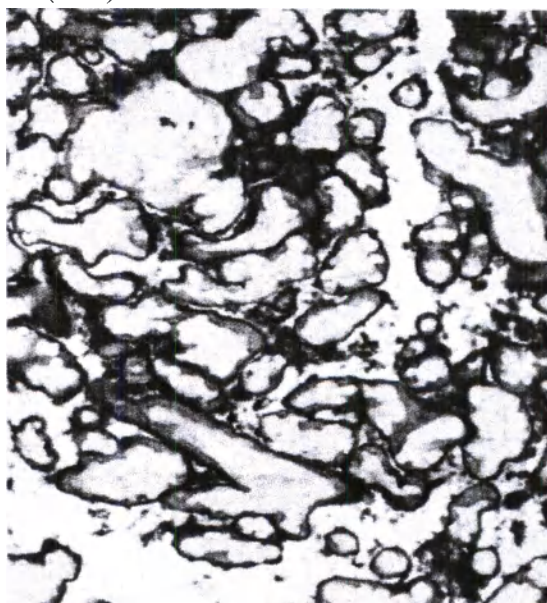
Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay для окрашивания немелкоклеточного рака легких
Руководство по интерпретации результатов

или не удовлетворяющих техническим условиям факторов, связанных с инструментами. Положительное мембранное окрашивание неопластических клеток в контрольной ткани подтверждает, что было применено антитело VENTANA PD-L1 (SP263), и прибор функционировал должным образом. Положительный тканевый контроль следует использовать только для контроля результатов; он не должен использоваться для содействия в клинической диагностике образцов пациентов.

Дополнительно при проведении окрашивания реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay в качестве положительного контроля может использоваться нормальная человеческая плацентарная ткань, которая демонстрирует однородное окрашивание мембраны клеток линии трофобласта от умеренного до выраженного и окрашивание цитоплазмы клеток линии трофобласта от слабого до выраженного. Стромальная ткань и сосудистая сеть плаценты могут быть использованы для оценки любого фоновое окрашивания.



Плацентарная ткань, окрашивание реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay: выраженное однородное окрашивание мембраны и умеренное окрашивание цитоплазмы клеток линии трофобласта (10X).



Плацентарная ткань, окрашивание реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay: стромальная ткань и сосудистая сеть внутри ворсинок не показывает PD-L1 окрашивания (20X).

Таблица 4. Критерии оценки тканевого контроля плаценты для окрашивания реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay

Интерпретация	Описание окрашивания
Приемлемое	Однородное окрашивание мембраны клеток линии трофобласта от умеренного до выраженного; и отсутствие окрашивания плацентарной стромы и сосудистой сети
Неприемлемое	Однородное окрашивание мембраны клеток линии трофобласта от отсутствия до слабого окрашивания; и (или) специфическое окрашивание плацентарной стромы и сосудистых структур

Критерии оценки

Показатель иммуногистохимического PD-L1 окрашивания определяется квалифицированным патоморфологом на основе его или ее оценки частоты специфического иммуногистохимического PD-L1 окрашивания мембраны опухолевых клеток. Уровень экспрессии определяется согласно описанию, приведенному в таблице оценивания PD-L1.

Не поддающиеся оценке случаи включают, помимо прочего, случаями недостаточно жизнеспособной опухоли, интерферирующего фона и декальцификации.

Для оценки приемлемы случаи немелкоклеточного рака легких с достаточно жизнеспособными опухолевыми клетками (что определяется оценивающим патоморфологом) и без интерферирующего фона на иммуногистохимическом образце для PD-L1 окрашивания.

Фотографии различных образцов окрашивания и экспрессии приведены в следующих разделах.

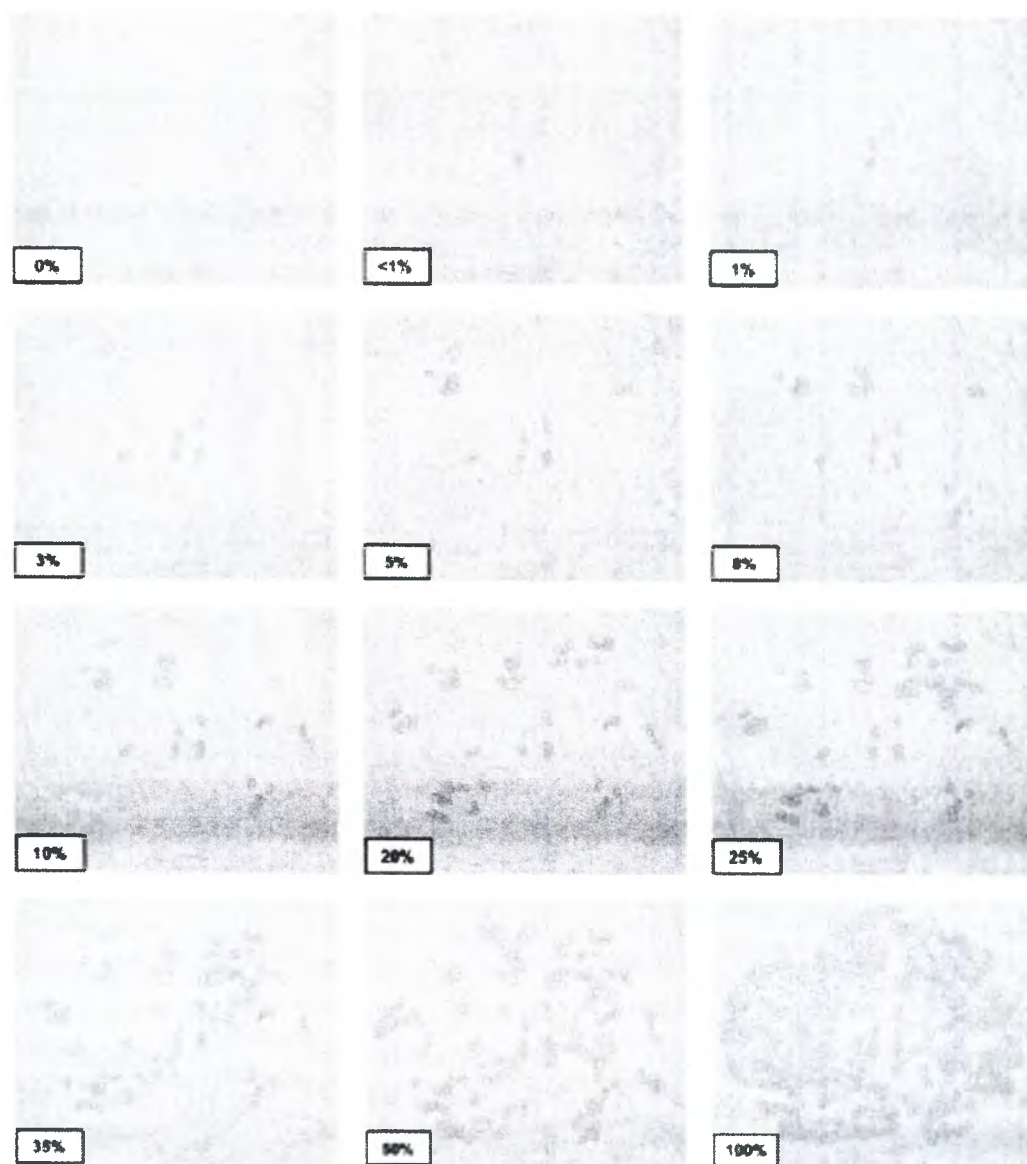
Таблица оценки окрашивания PD-L1

Таблица 5. Оценка окрашивания PD-L1

Оценить и подсчитать процент опухолевых клеток с мембранной положительностью для PD-L1 в любой интенсивности выше фонового окрашивания, как указано в соответствующем отрицательном контроле.
Уровень экспрессии PD-L1 выражается целым числом.

Определение процентного значения мембранного окрашивания

Следующие изображения показывают количественный спектр мембранного окрашивания опухолевых клеток в образце НМРЛ, содержащего примерно 450 жизнеспособных опухолевых клеток (только в целях иллюстрации). Уровни экспрессии от 0% до 100% опухолевых клеток с окрашиванием мембраны были приведены в виде типового шаблона в помощь патоморфологу при оценке PD-L1 окрашивания. Определение достаточности выборки остается на усмотрение патоморфолога.



Атлас экспрессии PD-L1 при НМРЛ

Фотогалерея

Окрашивание характеризуется наличием любого обнаруживаемого сигнала выше фонового, как указано на соответствующем отрицательном изотипном контроле путем мембранного окрашивания неопластических клеток. Данный атлас экспрессии содержит примеры уровней экспрессии в различных полях наблюдения.

Слабое мембранное окрашивание опухолевых клеток сложно распознать при малом увеличении, что может потребовать более тщательного и методического изучения окрашенного образца при большем увеличении, особенно в случаях, сопровождающихся слабым окрашиванием цитоплазм.

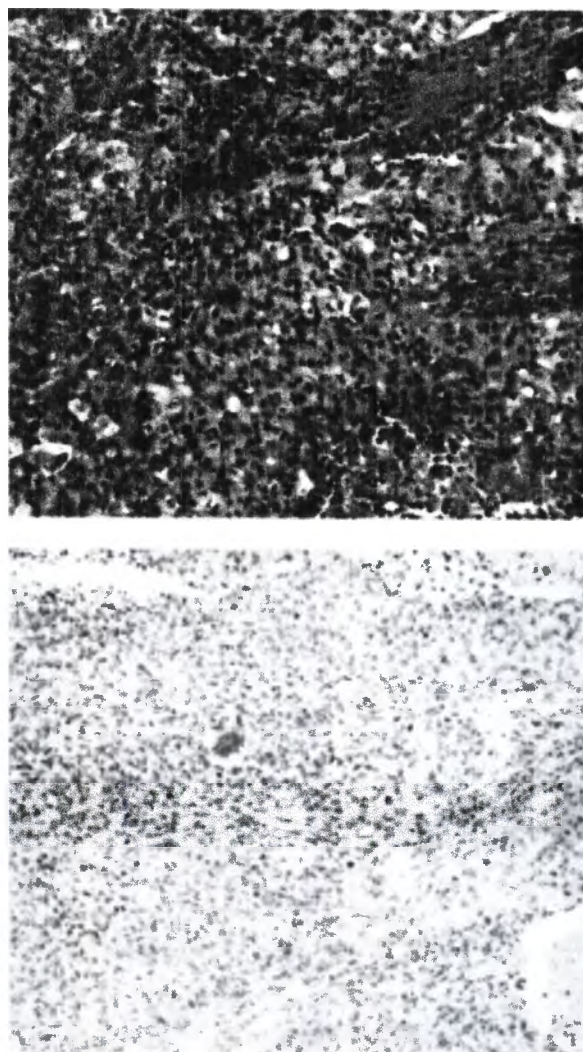


Фото 1. Отрицательная опухоль и окрашивание иммунных клеток (ноль процентов) (20X).

В случаях экспрессии PD-L1 на уровне нижнего конца спектра должно быть выявлено любое мембранное окрашивание альвеолярного макрофага или гистиоцита, чтобы избежать неправильной интерпретации в виде окрашивания опухолевых клеток. Повторное окрашивание образца гематоксилином и эозином может помочь в дифференциации опухолевых и иммунных клеток. Поскольку разница уровня экспрессии PD-L1 между значениями менее 1% и 1% является очень трудноуловимой для точного установления значения при таких слабых уровнях экспрессии патоморфологу может потребоваться подсчет клеток (путем подсчета общего количества опухолевых клеток с мембранным окрашиванием и их сопоставлением с общим количеством жизнеспособных опухолевых клеток или подсчет групп опухолевых клеток с мембранным окрашиванием по отношению к целой жизнеспособной опухоли).

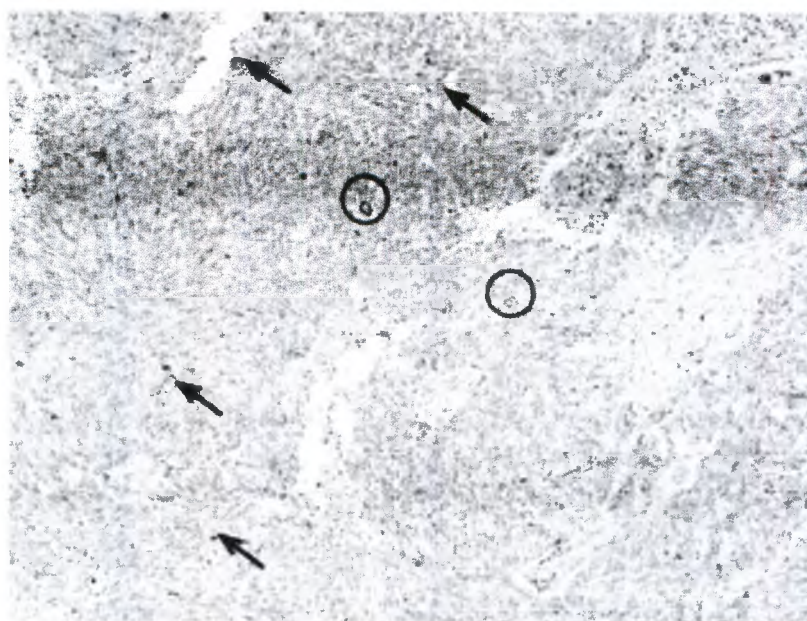
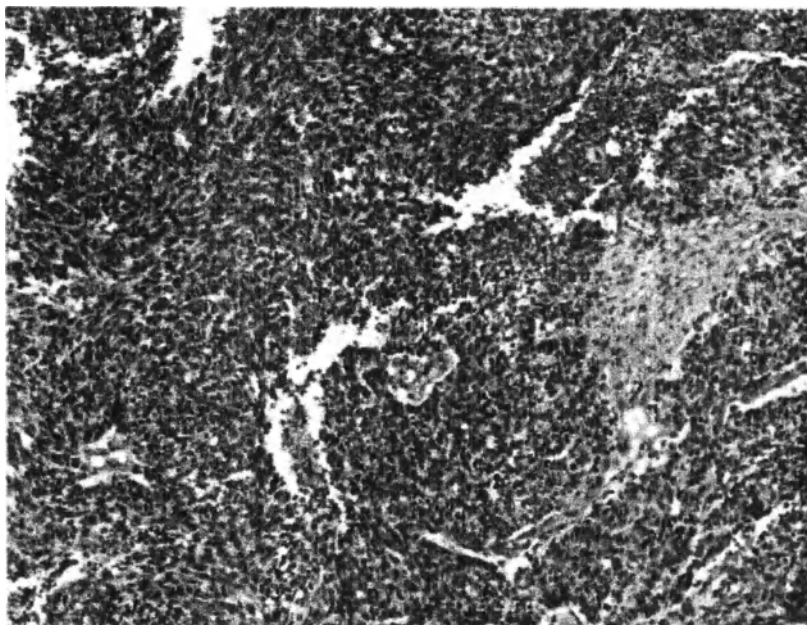


Фото 2. Менее 1% опухолевых клеток с мембранным окрашиванием (синие круги). Отдельные иммунные клетки показывают мембранное, цитоплазматическое и точечное окрашивание (черные стрелки) (10X).

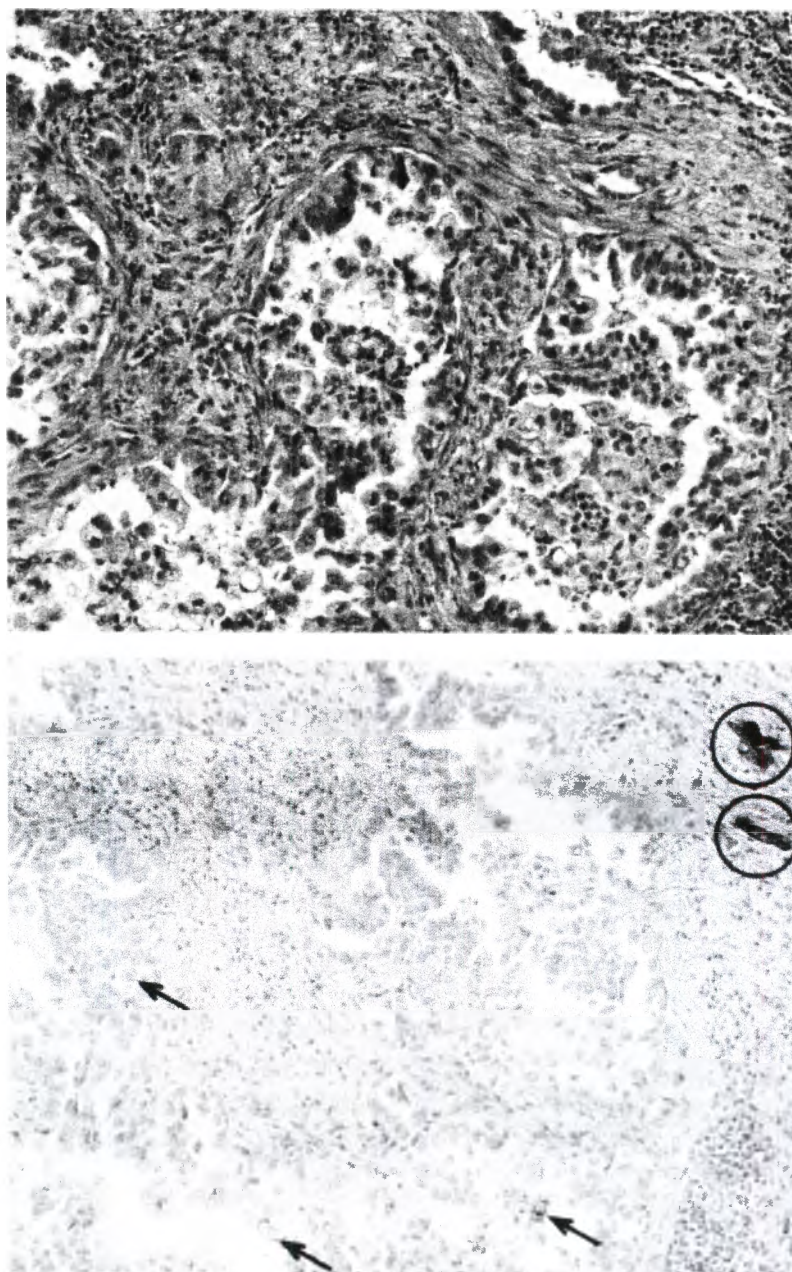


Фото 3. Опухоль с 1% опухолевых клеток с мембранным окрашиванием (синие круги). В просветах присутствуют отдельные альвеолярные макрофаги со слабым мембранным окрашиванием (черные стрелки) (10X).

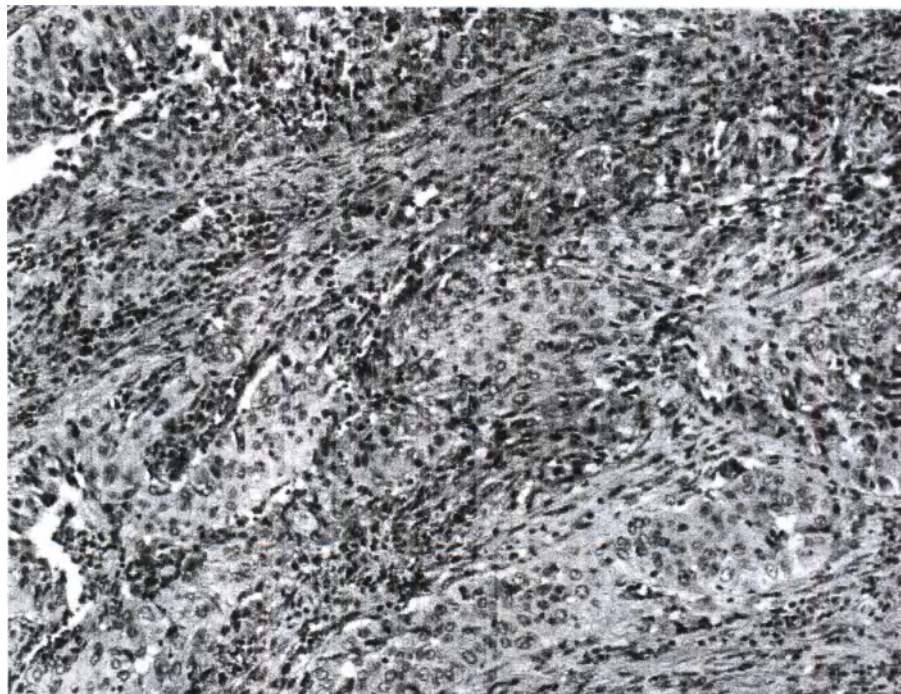


Фото 4. Опухоль с 3% опухолевых клеток с мембранным окрашиванием (синие круги). Отдельные иммунные клетки показывают преимущественно точечное окрашивание (черные стрелки и круги) (10X).

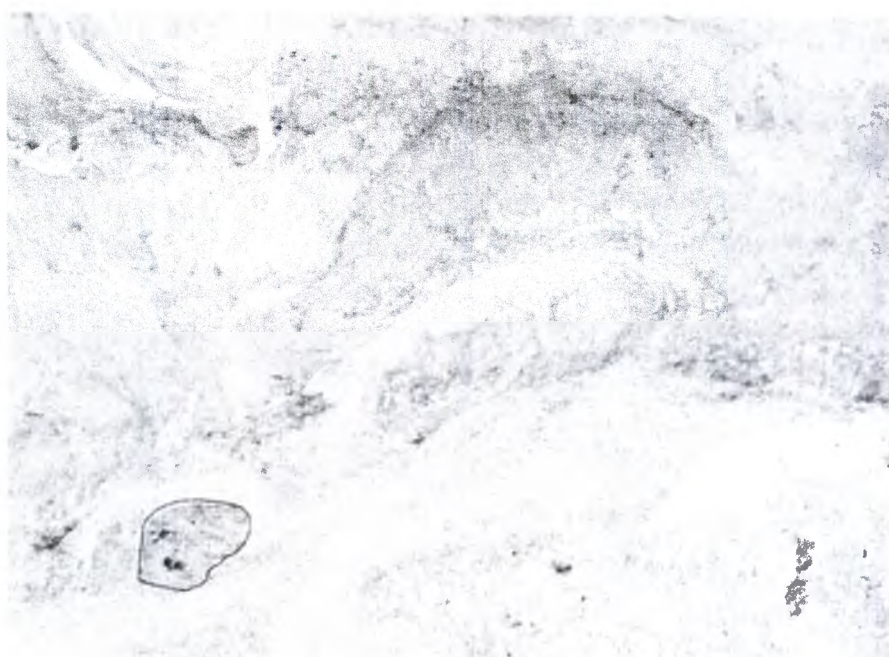


Фото 5. Опухоль с 5% клеток, показывающих мембранное окрашивание в выделенной синим зоне. Область опухоли (состоящая из жизнеспособной опухоли и окружающей десмоплазии и воспаленной ткани) содержит очаги иммунных клеток, показывающих экспрессию PD-L1 (4X).

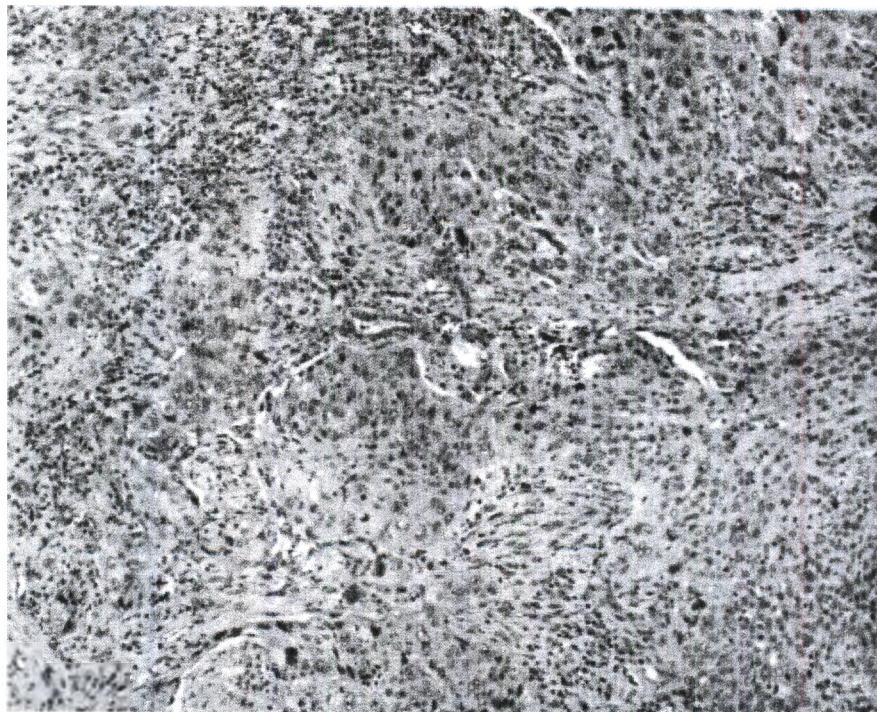


Фото 6. Опухоль с 10% клеток, показывающих в этом поле слабое до умеренного мембранное окрашивание (выделено синим). Отдельные иммунные клетки также проявляют экспрессию PD-L1 (выделено черным) (10X).

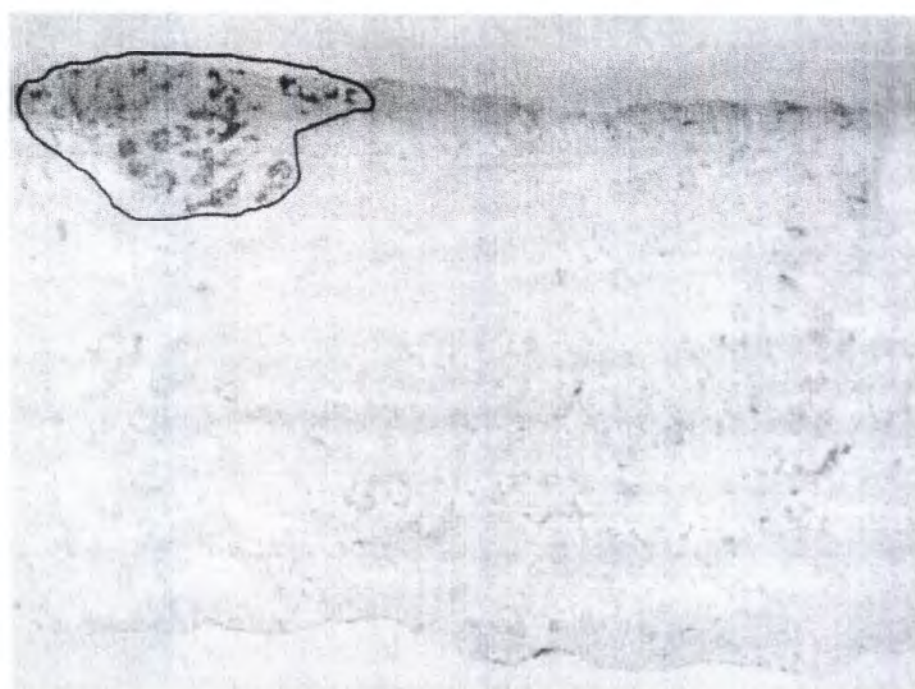
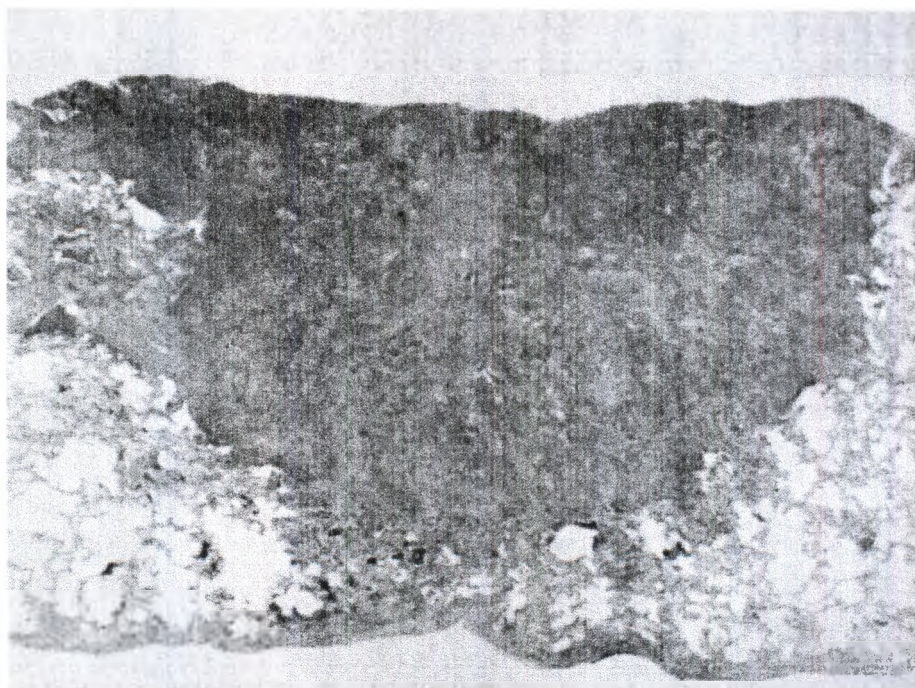


Фото 7. Опухоль с 15% клеток, показывающих мембранное окрашивание (выделено синим). Также наблюдается опухолеспецифическое окрашивание иммунных клеток (2X).

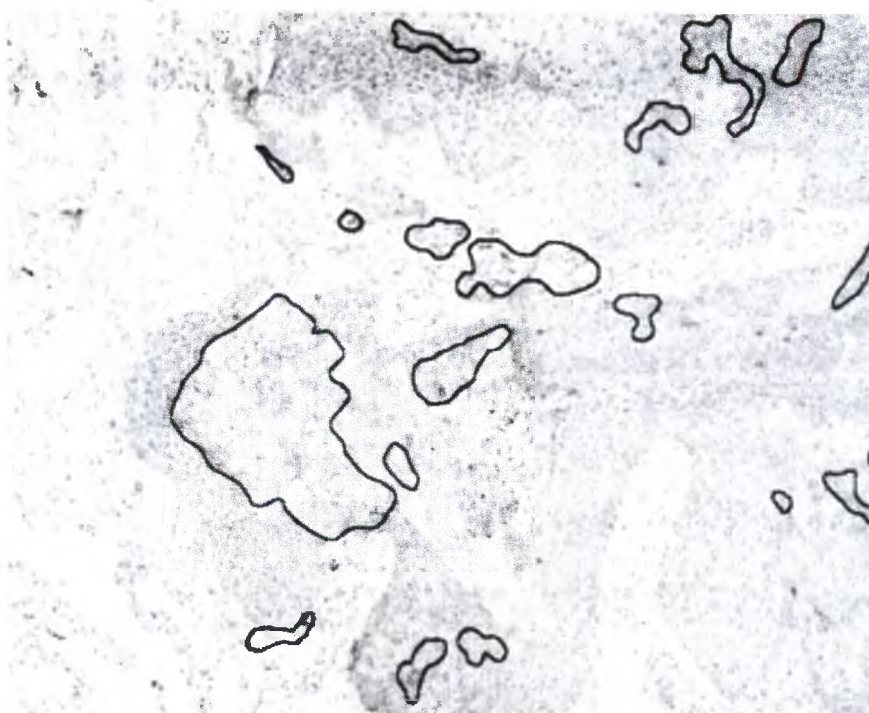
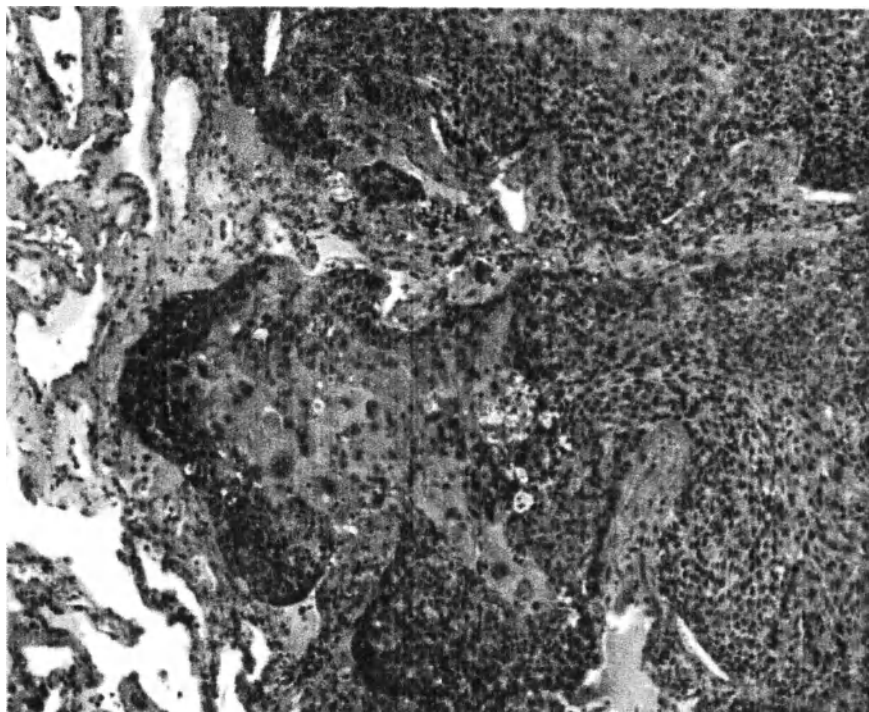


Фото 8. Опухоль с 20% клеток, показывающих в этом поле слабое мембранное окрашивание (выделено синим). Область опухоли содержит некоторое количество иммунных клеток с экспрессией PD-L1 (выделено черным) (10X).

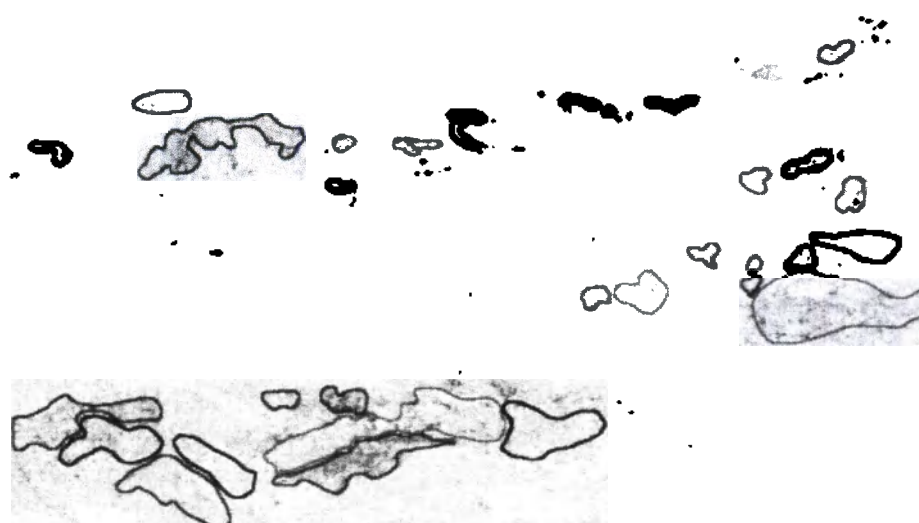


Фото 9. Опухоль с 25% клеток, показывающих в этом поле мембранное окрашивание (выделено синим). Область опухоли содержит некоторое количество иммунных клеток с экспрессией PD-L1 (выделено черным). Области некроза могут показать окрашивание и не должны учитываться (выделено зеленым) (4X).

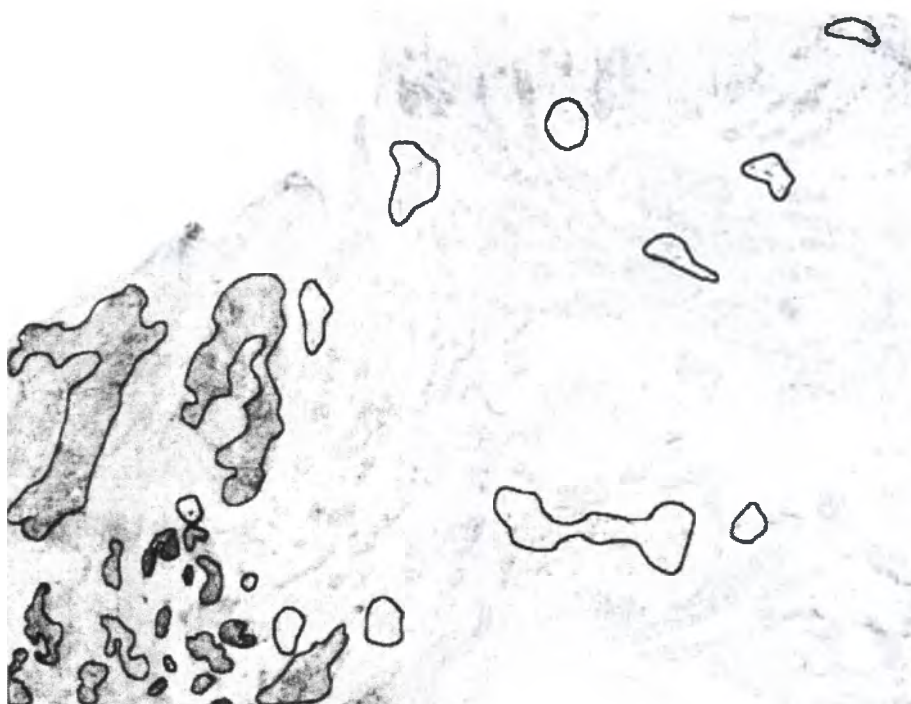
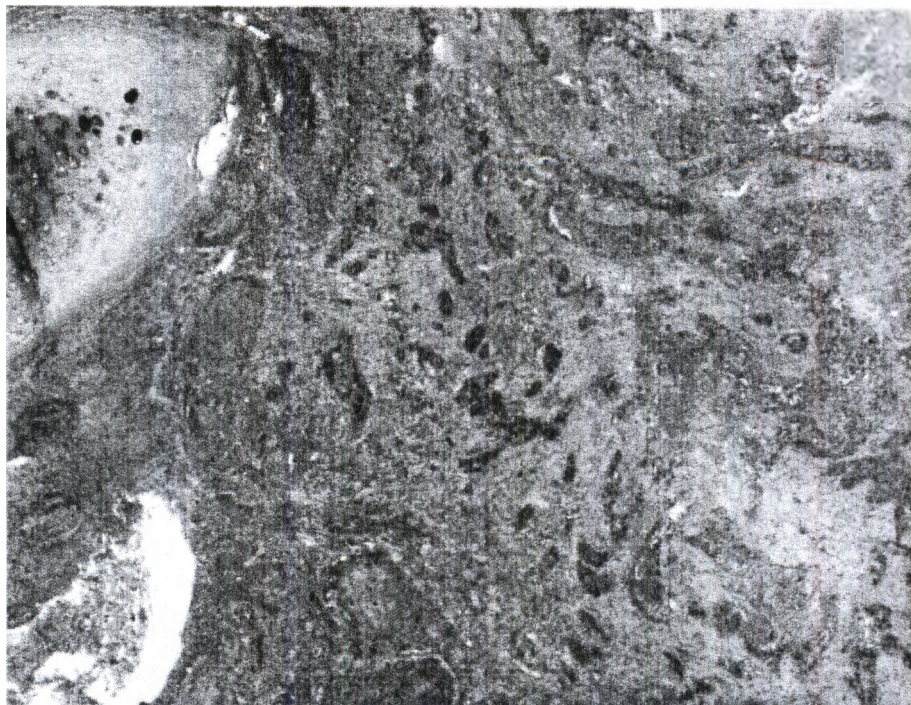


Фото 10. Опухоль с 35% клеток, показывающих в этом поле мембранное окрашивание (выделено синим). Область опухоли содержит некоторое количество иммунных клеток с экспрессией PD-L1 (выделено черным) (4X).

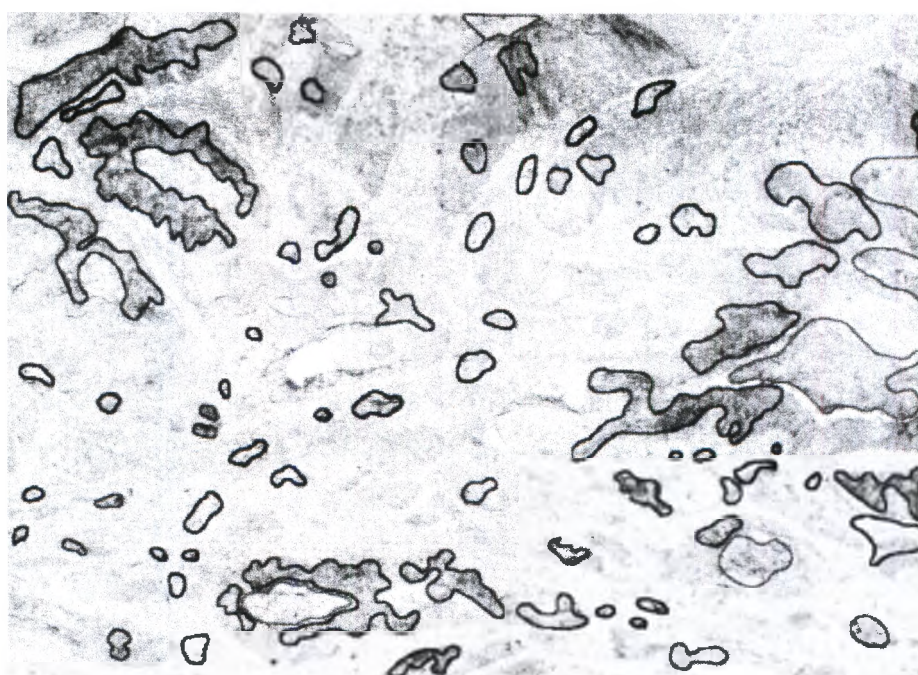


Фото 11. Опухоль с 50% клеток, показывающих в этом поле мембранное окрашивание (выделено синим). Область опухоли (состоящая из жизнеспособной опухоли и окружающей десмоплазии и воспаленной ткани) содержит очаги иммунных клеток, показывающих экспрессию PD-L1 (выделено черным). Области некроза с окрашиванием выделены зеленым и не должны учитываться (4X).

Случаи, показывающие более 50% опухолевых клеток с мембранным окрашиванием, могут быть оценены с более высокой точностью и воспроизводимостью путем подсчета процента опухолевых клеток без мембранного окрашивания и его последующего вычитания из 100% для получения окончательного значения уровня экспрессии PD-L1.

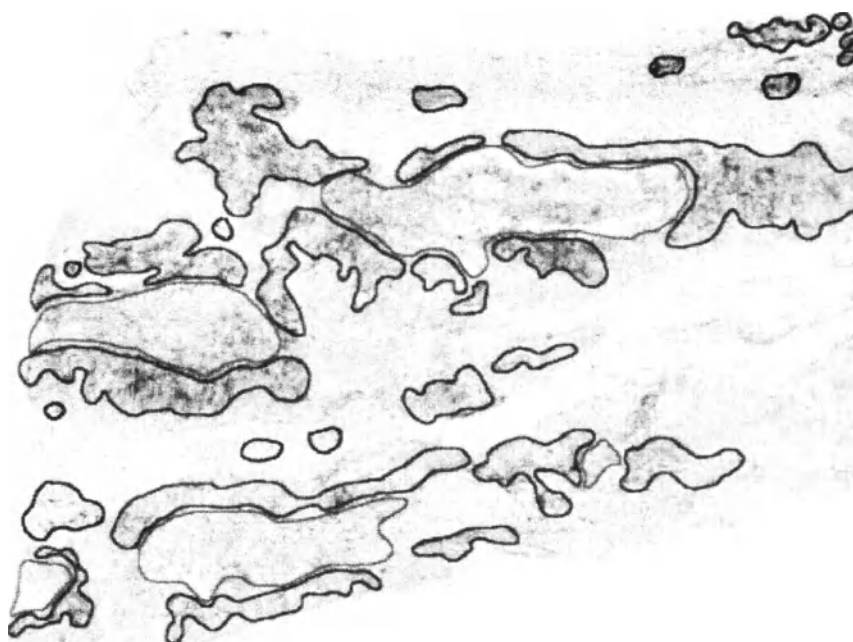


Фото 12. Опухоль с 70% клеток, показывающих в этом поле мембранное окрашивание (выделено синим). Область опухоли содержит иммунные клетки с экспрессией PD-L1 (выделено черным). Любое окрашивание в зонах некроза не должно учитываться (выделено зеленым) (4X).

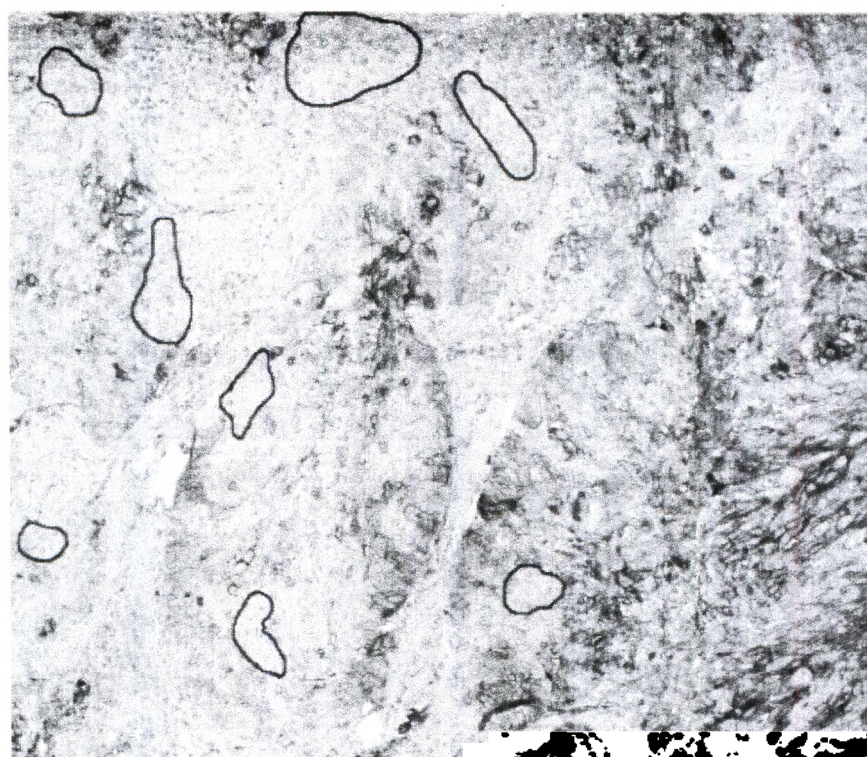
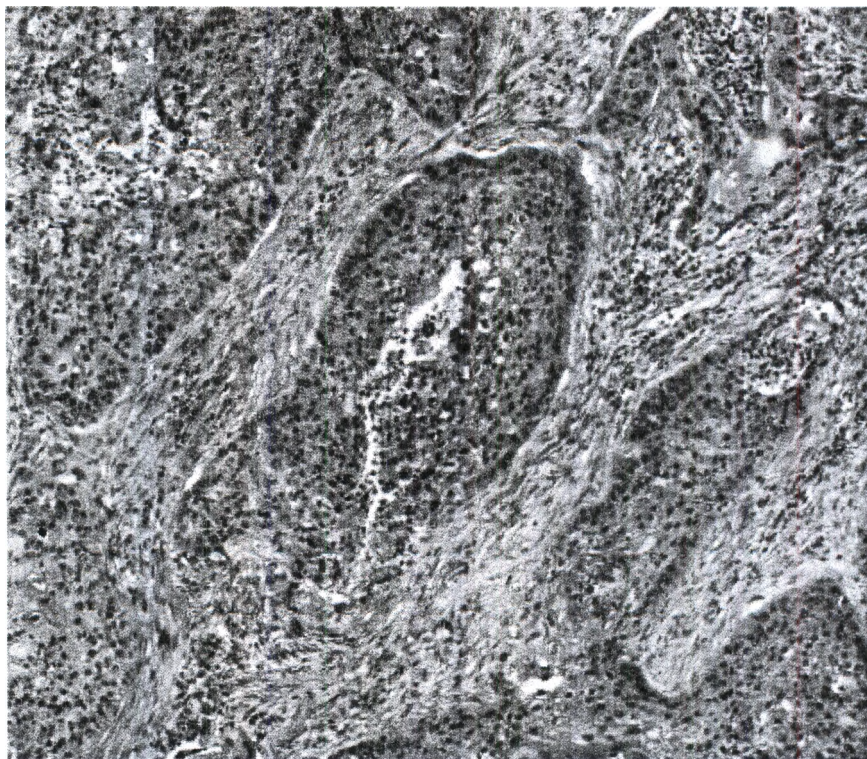


Фото 13. Опухоль с 80% клеток, показывающих в этом поле мембранное окрашивание. Подсчет количества опухолевых клеток без мембранного окрашивания (выделено красным) и его последующее вычитание из 100% может быть более точным и воспроизводимым способом расчета окончательного процентного значения опухолевых клеток с мембранным окрашиванием (10X).

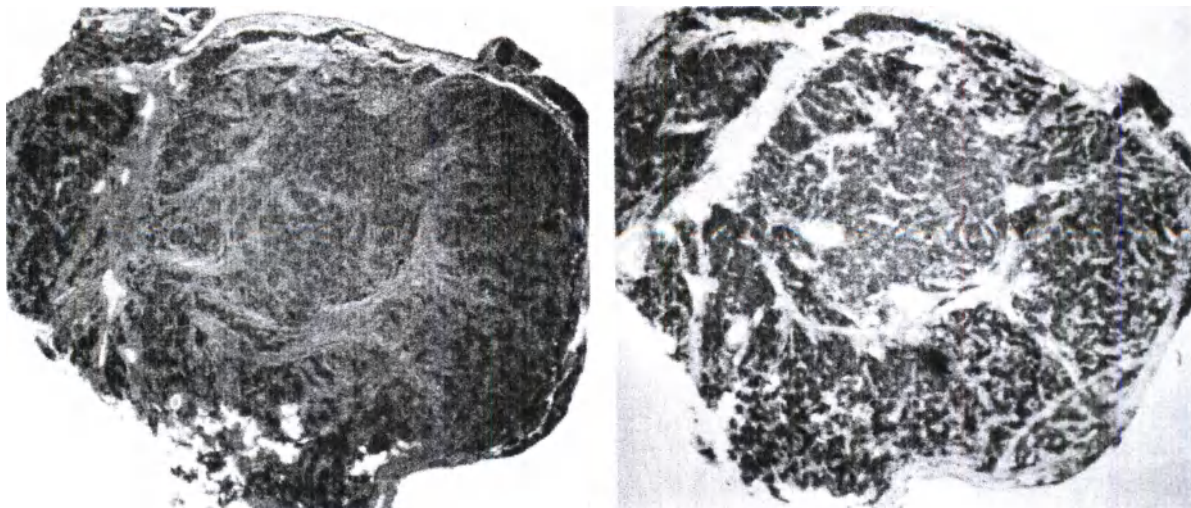


Фото 14. Мембранное окрашивание опухолевой клетки при 100% (4X)

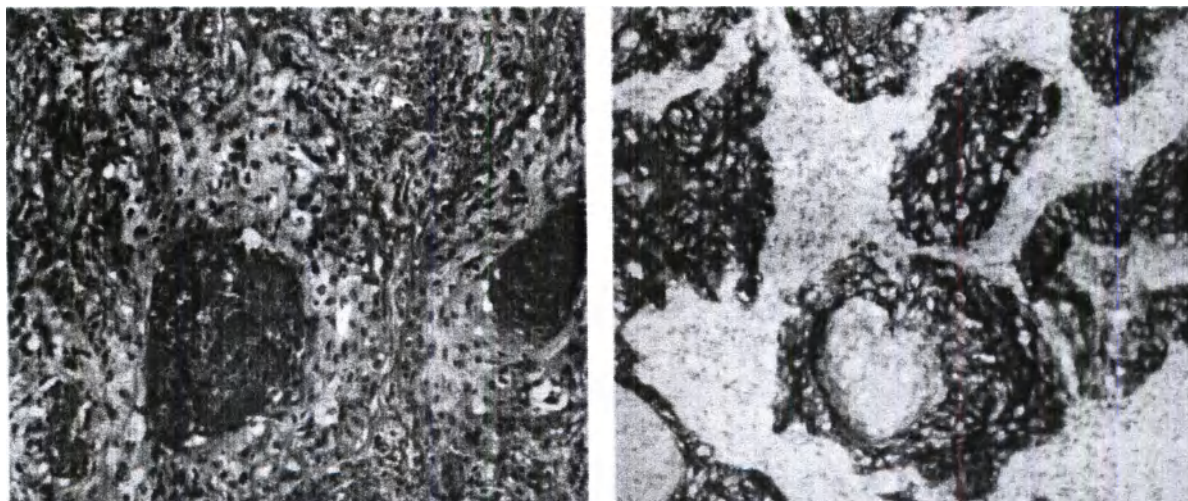


Фото 15. Положительное мембранное окрашивание опухолевой клетки (100%) без опухолеспецифического окрашивания иммунных клеток (20X).

Факторы, затрудняющие оценку

Различные структуры окрашивания и морфологические признаки могут затруднить интерпретацию и количественное определение окрашивания опухолевых мембран.

Некоторые случаи могут быть особенно сложными из-за следующих факторов:

- **Слабое цитоплазматическое окрашивание**

В некоторых образцах возможно проявление слабого цитоплазматического окрашивания опухолевых клеток, которое при малом увеличении может быть спутано со слабым мембранным окрашиванием опухолевых клеток. По этой причине при оценке результатов окрашивания образцов реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay слабое окрашивание должно быть изучено при большем увеличении для дифференциации между мембранным и цитоплазматическим окрашиванием опухолевых клеток.

- **Наложение интенсивного окрашивания иммунных клеток на окрашивание опухолевых клеток**

Некоторые опухоли могут содержать обширный воспалительный компонент, который может окружать опухоль или инфильтрироваться в нее. В случаях, когда сильное окрашивание наблюдается как для опухолевых, так и для иммунных

Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay для окрашивания немелкоклеточного рака легких
Руководство по интерпретации результатов

клеток, могут возникнуть сложности в их дифференциации и количественном определении уровня экспрессии PD-L1 для опухолевых клеток. Присутствие иммунных клеток, инфильтрирующих опухоль, должно быть подтверждено окрашиванием образца гематоксилином и эозином. Структура PD-L1 окрашивания и клеточные ядерные характеристики помогают присвоить экспрессию иммунным (точечное окрашивание) или опухолевым клеткам (линейное мембранное окрашивание).

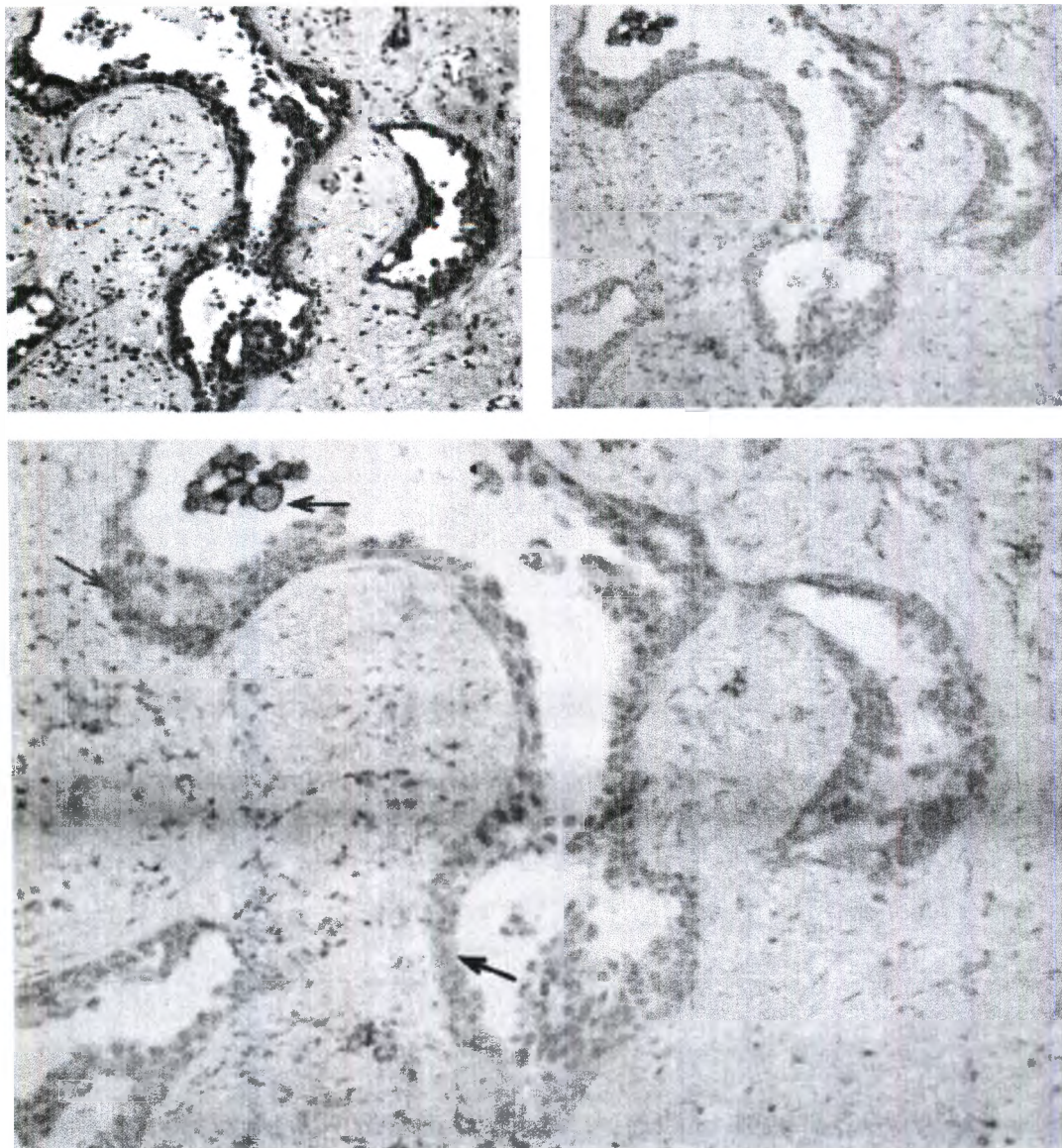
- **Маскирующий эндогенный материал**

Иногда присутствие в образцах НМРЛ такого эндогенного материала, как антракозный пигмент, меланин или гемосидерин, может затруднить анализ и исказить результаты оценки окрашивания опухолевых и иммунных клеток при помощи реагента VENTANA PD-L1 (SP263) Assay. Сравнение образца отрицательного изотипного контроля с образцом PD-L1 окрашивания может помочь в дифференциации между окрашиванием биомаркера и эндогенного материала. В опухолях НМРЛ со значительным образованием кератина может быть получен гистиоцитарный ответ в виде гигантских клеток инородного тела. Подобный иммунный ответ может имитировать окрашивание опухолевых клеток с мембранным окрашиванием гигантских клеток.

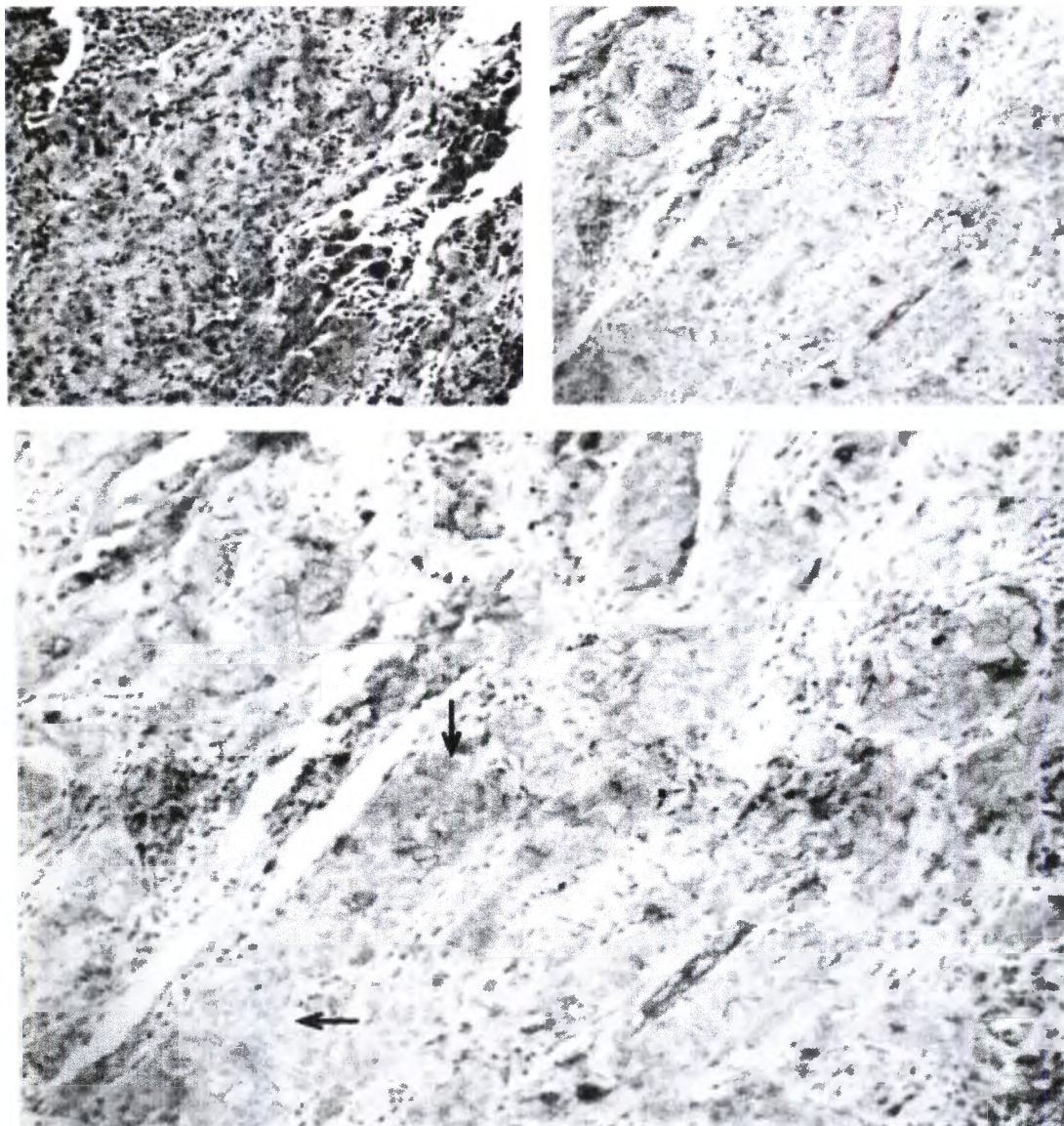
- **Гетерогенность**

Оценка общего процента мембранного окрашивания опухолевых клеток может быть затруднена при гетерогенном распределении экспрессии. В этом случае может помочь системный подход и разделение опухоли на меньшие равные части жизнеспособной опухоли с последующим определением в них процента опухолевых клеток с мембраной и расчетом среднего значения.

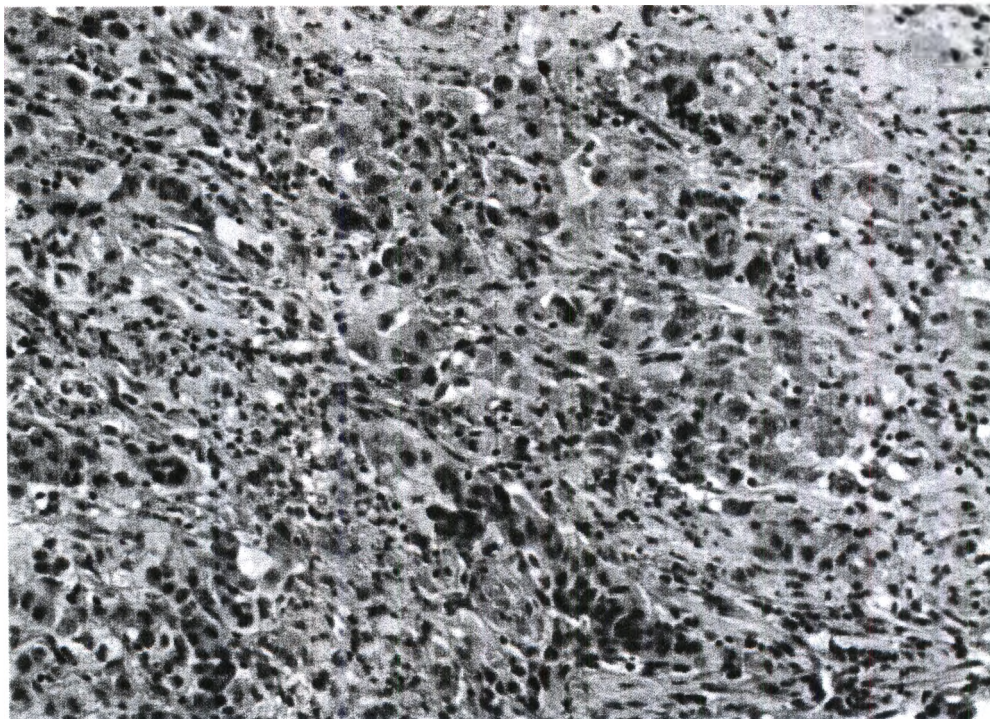
Некоторые примеры сложных случаев приведены на следующих страницах.



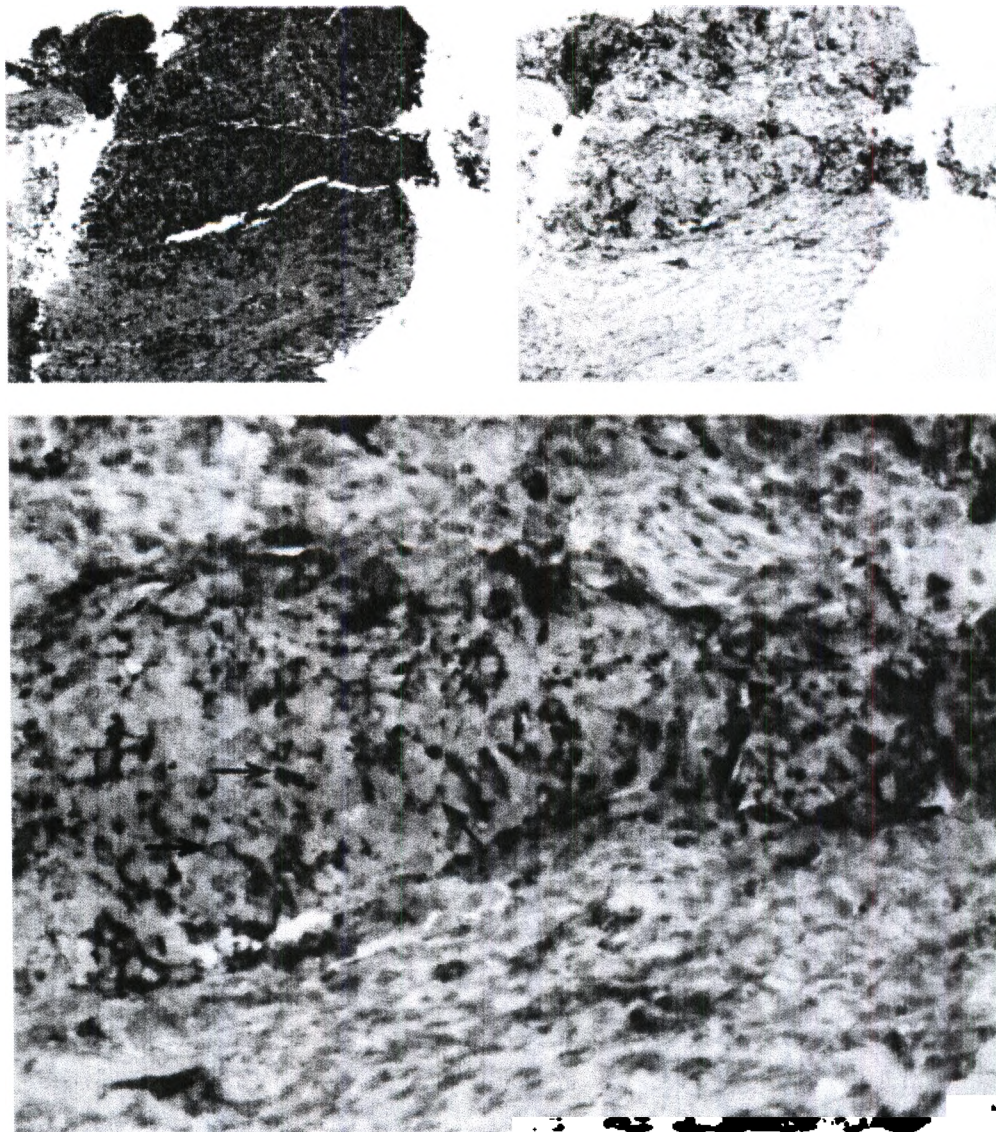
Сложный случай 1. Окрашивание HMPЛ реagentом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay со слабым цитоплазматическим (черная стрелка) и слабым мембранным окрашиванием (зеленая стрелка) опухолевых клеток. Для дифференциации слабого цитоплазматического и мембранного окрашивания необходимо изучение при большем увеличении. Также наблюдается окрашивание альвеолярных макрофагов (красная стрелка). В этом поле 10% опухолевых клеток показывают мембранное окрашивание (20X).



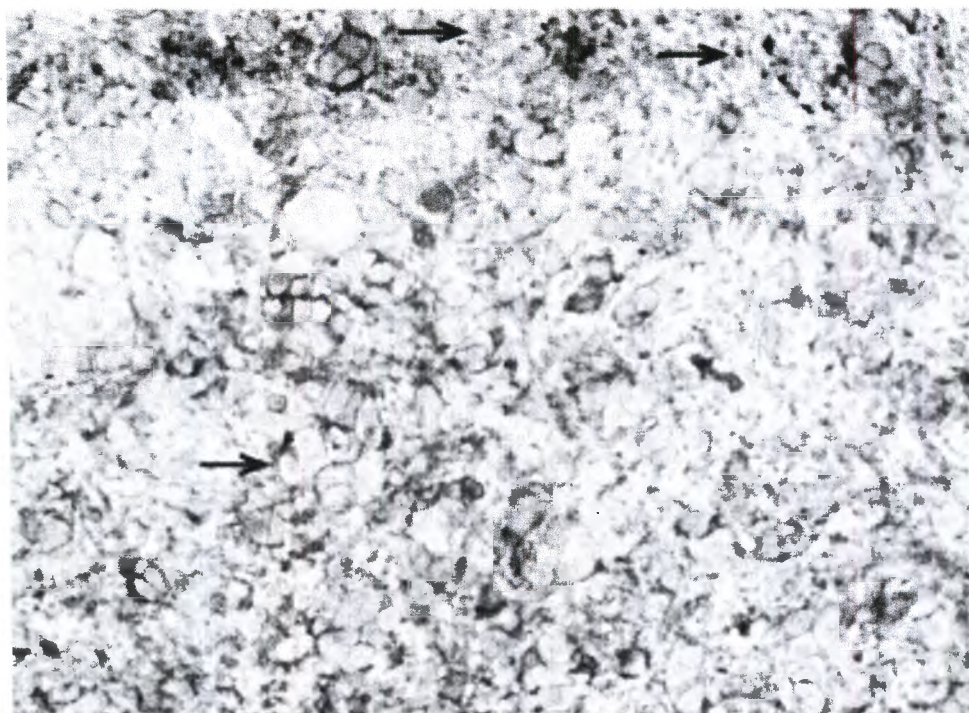
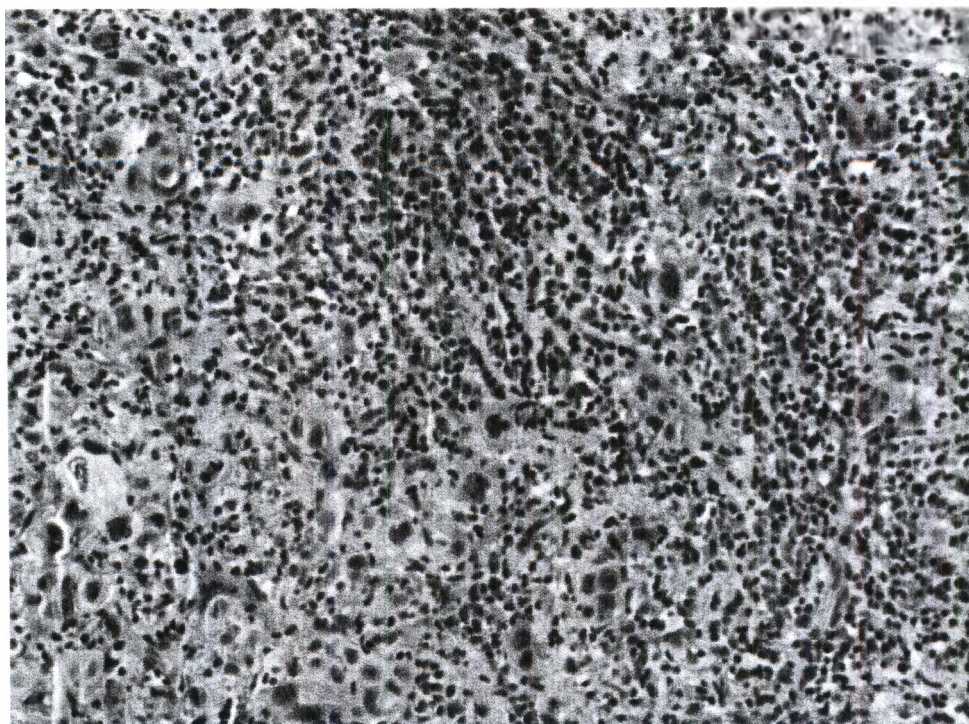
Сложный случай 2. Окрашивание HMPЛ реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay со слабым мембранным окрашиванием (черная стрелка) опухолевых клеток. Во многих опухолевых клетках наблюдается сопровождающий цитоплазматический розовый отблеск. В этом поле 90% опухолевых клеток показывают мембранное окрашивание (20X).



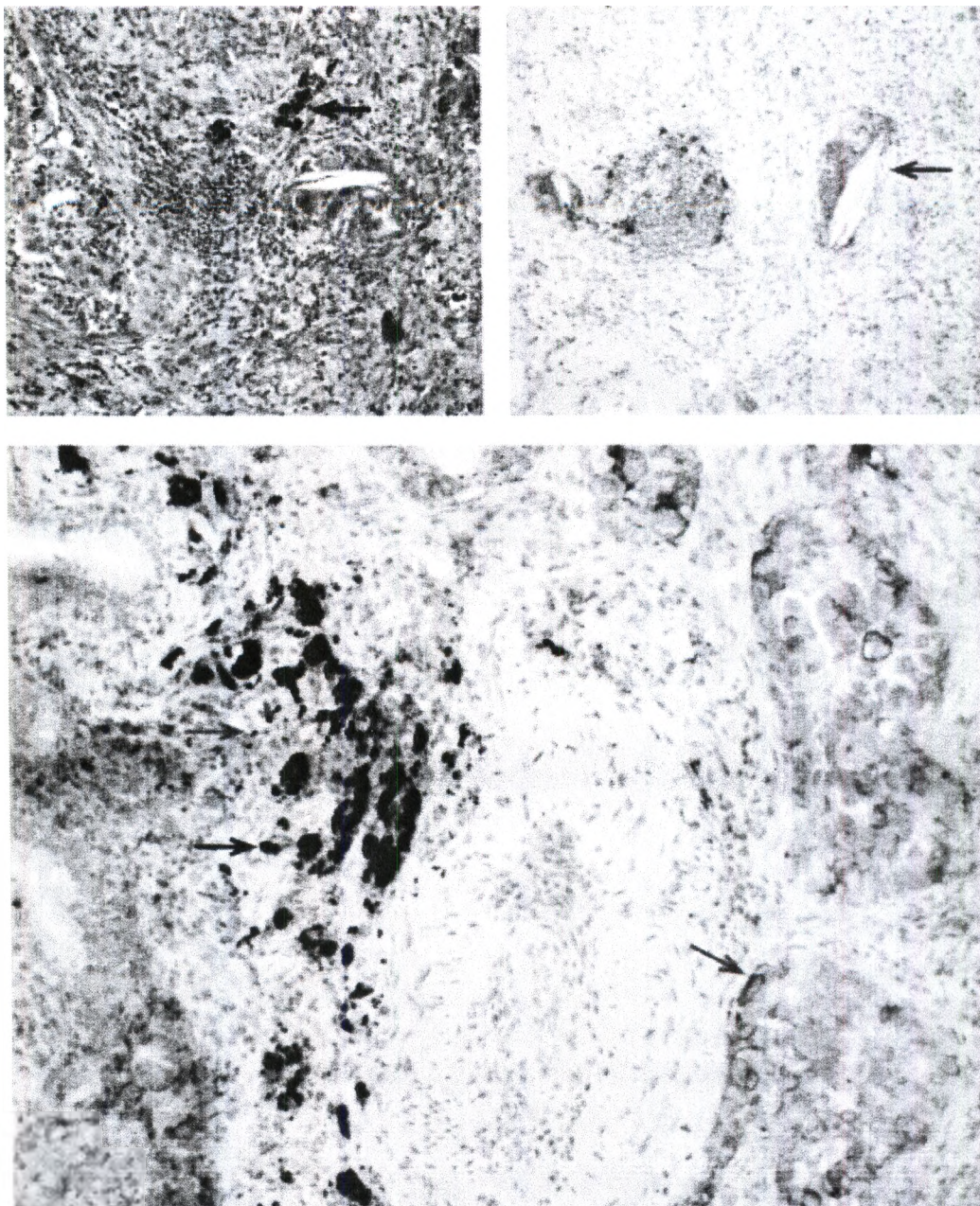
Сложный случай 3. Опухоль отображает клетки со слабым цитоплазматическим вместе со слабым мембранным окрашиванием (черная стрелка) и только слабым мембранным окрашиванием (синяя стрелка). В этом поле 90% опухолевых клеток показывают мембранное окрашивание (20X).



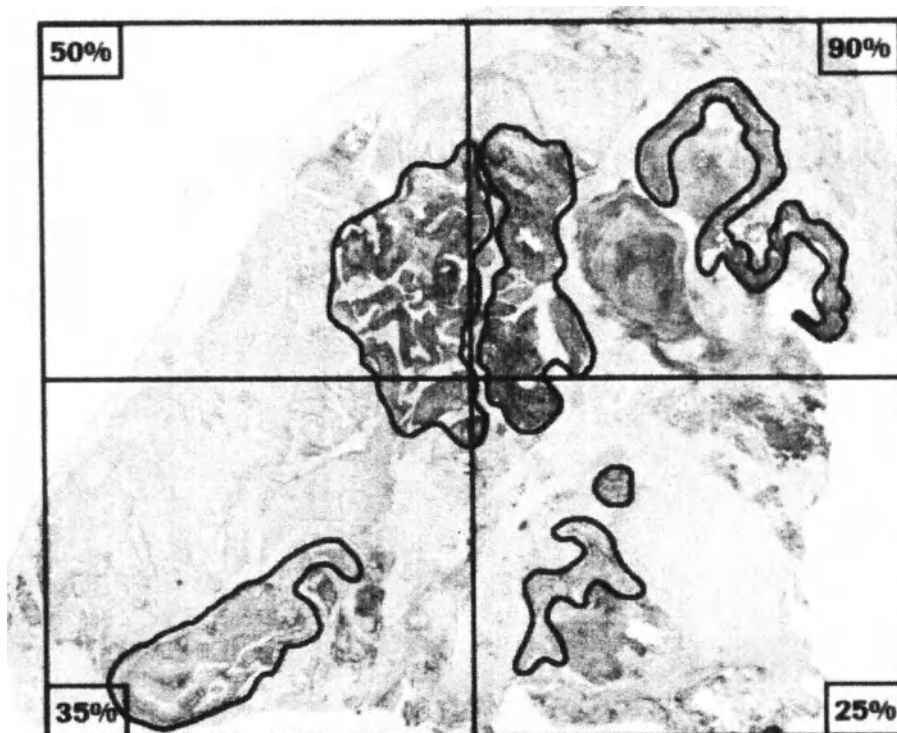
Сложный случай 4. Окрашивание НМРЛ реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay со значительными очагами воспаления. Наблюдается мембранное окрашивание иммунных клеток (черная стрелка) и точечное окрашивание иммунных клеток (синяя стрелка), смешанные с опухолевыми клетками, показывающими частичное линейное мембранное окрашивание (красная стрелка). В этом поле 40% опухолевых клеток показывают мембранное окрашивание. Сильно воспаленная опухоль видна при окрашивании гематоксилином и эозином (40X).



Сложный случай 5. Мембранное окрашивание опухолевых клеток (черная стрелка) в комбинации с диффузным (синяя стрелка) и точечным (красная стрелка) окрашиванием иммунных клеток. В этом поле 100% опухолевых клеток показывают мембранное окрашивание (20X).



Сложный случай 6. Окрашивание HMPJ реagentом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay, показывающее реакцию гигантских клеток антракоза (черная стрелка) и инородного тела (красная стрелка), не связанную с интерпретацией результатов для этого образца (верхний ряд изображений, 20X). В другой зоне образца наблюдается наложение антракозного пигмента (черная стрелка) на точечное окрашивание иммунных клеток (зеленая стрелка) и мембранное окрашивание опухолевых клеток (нижнее изображение, синяя стрелка). В этом поле 80% опухолевых клеток показывают мембранное окрашивание (нижнее изображение, 20X).



Опухолевые клетки с мембранным окрашиванием гетерогенно распределены по этому образцу (выделено синим). Разделение целой опухоли на меньшие части с одинаковым количеством жизнеспособной опухоли помогает произвести более точную оценку результата. Для определения общего уровня экспрессии PD-L1 оценивается процент опухолевых клеток с мембранным окрашиванием в каждой части с последующим расчетом среднего значения. Окрашивание в некротических зонах не учитывается. В этом примере расчет среднего значения процента жизнеспособных опухолевых клеток с мембранной экспрессией с учетом каждого квадранта дал результат равный уровню экспрессии PD-L1 в размере 50% (0,6X).

Влияние преаналитических условий на процедуру окрашивания реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay

Рекомендации по использованию фиксатора для получения оптимальных результатов окрашивания реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay

Производитель рекомендует производить фиксацию образца в 10%-м нейтральном буферном формалине в течение 6-72 часов. Допустимые фиксаторы и длительность фиксации выделены синим цветом.

Окрашивание тканей плаценты реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay при использовании различных фиксаторов и длительностей фиксации

Time Point (Hrs)	Fixative					
	10% NBF	Zinc Formalin	PREFER fixative**	AFA**	Alcoholic Formalin**	95% Ethanol**
1						
6						
12						
24						
48						
72						

Time Point (Hrs)

Fixative

10% NBF

Zinc Formalin

PREFER fixative**

AFA**

Alcoholic Formalin**

95% Ethanol**

Контрольный момент времени (часов)

Фиксатор

10%-й нейтральный буферный формалин

Цинк-формалин

Фиксатор PREFER**

Фиксатор AFA**

Спиртовой раствор формалина**

95%-й этанол**

Примечания:

* Фиксация в течение 1 часа не рекомендуется для всех типов фиксаторов

** Не рекомендуется использование фиксатора PREFER 95%-го этанола (более слабое окрашивание) или спиртовых фиксаторов (темный фон). См. изображения, полученные при большем увеличении, справа.



Влияние толщины образца ткани на окрашивание реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay

Компания «Вентана» рекомендует использовать для окрашивания реагентом VENTANA PD-L1 (SP263) Assay образцы ткани толщиной 4-5 мкм.

Устойчивость участка обработки микроскопического препарата

Срезы толщиной примерно 4-5 мкм должны быть получены и размещены на предметные стекла с положительно заряженной поверхностью. Образцы должны быть окрашены как можно скорее после получения, однако исследования устойчивости предметных стекол, которые хранились при 2-8 и 30 °С, показали приемлемое окрашивание образцов в течение 12 месяцев после подготовки.

Список использованной литературы

1. Ферлэй Дж., Соерджоматарам И., Эрвик М. и соавт. «Глобокэн» 2012 г. вер. 1.0 «Заболеваемость и смертность от рака по всему миру: база рака МАИР №11» <http://globocan.iarc.fr>. Опубликовано 12 декабря 2013 г. Обновлено 09 января 2014 г. Одобрено в печать 08 февраля 2016 г. (Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0 Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11. <http://globocan.iarc.fr>. Published 2013-12-12. Updated 2014-01-09. Accessed 2016-02-08)
2. Сигел Р., Наисхадхам Д., Джемал А. «Статистика рака, 2013 г.», СА; Журнал по онкологии для врачей, 2013 г.;63(1):11-30 (Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer Statistics, 2013. CA Cancer J Clin. 2013;63(1):11-30)
3. Хаулэдер Н., Нун А.М., Крапко М. и соавт. «Обзор статистики рака согласно программе SEER, 1975 г. – 2012 г. Национальный институт рака» http://seer.cancer.gov/csr/1975_2012/. Опубликовано 23 апреля 2015 г. Обновлено 18 ноября 2015 г. Одобрено в печать 08 февраля 2016 г. (Howlader N, Noone AM, Krapcho M, et al. (eds). SEER Cancer Statistics Review (CSR), 1975-2012. National Cancer Institute. http://seer.cancer.gov/csr/1975_2012/. Published 2015-04-23. Updated 2015-11-18. Accessed 2016-02-08)
4. Кейр М.Е., Буттэ М.Дж., Фриман Г.Дж. и соавт. «PD-1 и его лиганды в резистентности и иммунитете». Ежегодный обзор иммунологии, 2008 г.;26:677-704 (Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, et al. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. Annu Rev Immunol 2008;26:677-704)
5. Бланк К., Мак-Кенсен А. «Вклад цепи PD-L1/PD-1 в истощение Т-клеток: обновление о последствиях для хронических инфекций и уклонения опухоли от иммунологического контроля». Онкологические иммунология, иммунотерапия. 2007 г.;56(5):739-745 (Blank C, Mackensen A. Contribution of the PD-L1/PD-1 pathway to T-cell exhaustion: an update on implications for chronic infections and tumor evasion. Cancer Immunol Immunother. 2007;56(5):739-745)
6. Буттэ М.Дж., Кейр М.Е., Памдуй Т.Б. и соавт. «Белок programmed death-1 ligand 1 специфически взаимодействует с костимуляторной молекулой B7-1 для ингибирования ответов Т-клеток». Иммунология, 2007 г.;27(1):111-122 (Butte MJ, Keir ME, Phamduy TB, et al. Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T-cell responses. Immunity. 2007;27(1):111-122)
7. Дон Х., Чжу Г., Тамада К. и соавт. «B7-H1 – третий член семейства B7, стимулирует пролиферацию Т-клеток и секрецию интерлейкина-10», Природная медицина, 1999 г.;5(12):1365-1369 (Dong H, Zhu G, Tamada K, et al. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. Nat Med. 1999;5(12):1365-1369)

Реагент VENTANA PD-L1 (SP263) Assay для окрашивания немелкоклеточного рака легких
Руководство по интерпретации результатов

8. Массард К., Гордон М.С., Шарма С. и соавт. «Безопасность и эффективность применения дурвamuлаба (MEDI4736), ингибитора иммунной контрольной точки лиганда 1 антизапрограммированной смерти клетки, у пациентов с прогрессирующим уротелиальным раком мочевого пузыря». Журнал клинической онкологии, 2016 г.;34(26):3119-3126 (Massard C, Gordon MS, Sharma S, et al. Safety and efficacy of durvalumab (MEDI4736), an anti-programmed cell death ligand-1 immune checkpoint inhibitor, in patients with advanced urothelial bladder cancer. J Clin Oncol. 2016;34(26):3119-3126)
9. Пател С.П., Курцрок Р. «Экспрессия PD-L1 в качестве предупреждающего биомаркера в иммунотерапии рака», Молекулярная терапия рака, 2015 г.;14(4) 847-856 (Patel SP, Kurzrock R. PD-L1 expression as a predictive biomarker in cancer immunotherapy. Mol Cancer Ther. 2015;14(4) 847-856)



«Рош Диагностикас ГмбХ»

Сандхоффер Штрассе, 116

D-68305, Маннхайм

Германия

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



www.ventana.com

© «Вентана Медикал Системс, Инк.» (Ventana Medical Systems, Inc.) 2017 г.

Все права защищены.

VENTANA, BENCHMARK, OPTIVIEW и логотип VENTANA являются товарными знаками компании «Рош». Все остальные товарные знаки являются собственностью соответствующих владельцев.

1015317EN Вер. С



[Перевод с английского языка на русский язык]

[Перевод надписей и штампа на документе «Инструкция по применению на медицинское изделие "Реагент 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 иммунотейнерам автоматическим серии Ventana BenchMark"», представленном на русском языке.]

[На бланке компаний «Рош Диагностикс ГмбХ» и «Вентана Медикал Системс, Инк.»]

[Штамп: Удостоверенная фотокопия]

«Рош Диагностикс ГмбХ», Сандхофер Штрассе 116, В-68305 Маннхайм, Германия

«Вентана Медикал Системс, Инк.», 1910 Е. Инновейшн Парк Драйв Тусон, Аризона 85755
США

Утверждено
компанией «Рош Диагностикс ГмбХ»

Дата: 17 октября 2017 г.

/подпись/

Кристиан Бовенкерк
Руководитель проекта по международно-правовому
регулированию

Штамп

2017 г.

1. Кейр М.Е., Буттэ М.Дж., Фриман Г.Дж. и соавт. «Роль PD-1 и его лиганды в резистентности и иммунитете». Ежегодный обзор иммунологии, 2008 г.; 26:677-704 (Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, et.al. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. Annu Rev Immunol 2008; 26:677-704)
2. Бланк К., Мак-Кенсен А. «Вклад цепи PD-L1/PD-1 в истощение Т-клеток: обновление о последствиях для хронических инфекций и уклонения опухоли от иммунологического контроля». Онкологические иммунология, иммунотерапия, 2007 г.; 56(5):739-745 (Blank C, Mackensen A. Contribution of the PD-L1/PD-1 pathway to T-cell exhaustion: an update on implications for chronic infections and tumor evasion. Cancer Immunol Immunother. 2007;56 (5):739-745)
3. Буттэ М.Дж., Кейр М.Е., Памдуй Т.Б. и соавт. «Белок programmed death-1 ligand 1 специфически взаимодействует с костимуляторной молекулой B7-1 для ингибирования ответов Т-клеток». Иммунитет, 2007 г.; 27(1): 111122 (Butte MJ, Keir ME, Phamduy TB, et al. Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T-cell responses. Immunity. 2007;27 (1): 111122)
4. Дон Х., Чжу Г., Тамада К. и соавт. «B7-H1 - третий член семейства B7, стимулирует пролиферацию Т-клеток и секрецию интерлейкина-10», Природная медицина, 1999 г.; 5(12): 1365-1369 (Dong H, Zhu G, Tamada K, et al. B7-H1, a third member of the B 7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. Nat Med. 1999;5(12): 1365-1369)
5. Массард К., Гордон М.С., Шарма С. и соавт. «Безопасность и эффективность применения дурвалумаба (MED14736), ингибитора иммунной контрольной точки лиганда 1 антизапрограммированной смерти клетки, у пациентов с прогрессирующим уротелиальным раком мочевого пузыря» Журнал клинической онкологии, 2016 г.; 34(26):3119-3126 (Massard C, Gordon MS, Sharma S, et al. Safety and efficacy of durvalumab (MED14736), an anti-programmed cell death ligand-1 immune checkpoint inhibitor, in patients with advanced urothelial bladder cancer. J Clin Oncol. 2016;34(26):3119-3126)
6. Пател С.П., Курцрок Р. «Экспрессия PD-L1 в качестве предупреждающего биомаркера в иммунотерапии рака», Молекулярная терапия рака, 2015 г.; 14(4) 847-856 (Patel SP, Kurzrock R. PD-L1 expression as a predictive biomarker in cancer immunotherapy. Mol Cancer Ther. 2015; 14(4) 847-856)
7. Карсон Ф., Хладик К. «Гистотехнология: учебник для самостоятельного изучения, издание 3-е», Гонконг: Издательство Американского общества клинической патологии; 2009 г. (Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009)
8. Рэтклифф М.Дж., Шарп А., Мидха А. и соавт. «Совпадение данных диагностических исследований лиганда-1 белка программируемой смерти среди нескольких срезов белковой экспрессии ткани немелкоклеточного рака легкого», Клиническое исследование рака, от 10 января 2017 г.: 10.1158/1078- 0432.CCR-16-2375. (Ratcliffe MJ, Sharpe A, Midha A, et al. Agreement Between Program Cell Death Ligand-1 Diagnostic Assays Across Multiple Protein Expression Cut-offs in Non- Small Cell Lung Cancer. Clin Cancer Res. 2017 Jan 10. doi: 10.1158/1078- 0432.CCR-16-2375.)
9. Боргхай Х., Пас-Арес Л., Хорн Л. И соавт. «Ниволумаб против доцетаксела при лечении несквамозного немелкоклеточного рака легкого на поздней стадии», Медицинский журнал Новой Англии 2015 г.; 373:1627-1639. (Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced, Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med 2015; 373:1627-1639.)
10. Рек М. и соавт. «Пембролизумаб против химиотерапии при лечении PD-L1-положительного немелкоклеточного рака легкого (KEYNOTE-024)», Медицинский журнал Новой Англии (NEJM.org) 09 октября 2016 г.; 1-11. (Reck, M, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small Cell Lung Cancer (KEYNOTE-024). The New England Journal of Medicine (NEJM.org) 2016 Oct 09; 1-11.)

11. Хербс Р.С. и соавт. «Пембролизумаб против доцетаксела при терапии ранее леченного PD-L1-положительного немелкоклеточного рака легкого на поздней стадии (KEYNOTE-010): рандомизированное контролируемое исследование», Ланцет онлайн; 19 декабря 2015 г. (Herbs RS, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1 positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomized controlled trial. The Lancet online; 2015 Dec 19.)

© «Вентана Медикал Системс, Инк.»

«Рош Диагностика ГмбХ»
Сандхофер Штрассе 116
D-68305 Маннхайм
Германия

Настоящим удостоверяется соответствие приведенной выше фотокопии представленному мне оригиналу.

Маннхайм, 19 октября 2017 г.

Нотариальная контора г. Маннхайма

/подпись/

(Д-р Фелльмет)

Нотариус

[Печать нотариальной конторы г. Маннхайма]

Перевод данного текста сделан мной, переводчиком Клепневым Виктором Игоревичем.

Российская Федерация

Город Москва

Четвертого декабря две тысячи семнадцатого года

Я, Акимов Глеб Борисович, нотариус города Москвы, свидетельствую подлинность подписи переводчика Клепнева Виктора Игоревича.

Подпись сделана в моем присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре: № 7-48337.

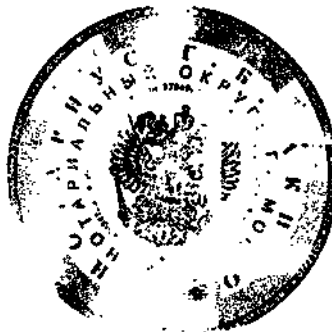
Взыскано государственной пошлины (по тарифу): 100 руб.

Уплачено за изготовление правового и технического характера: 200 руб.

Всего произведено два экземпляра, один из которых
и скреплен печатью Г.Б. Акимов (а) (ос)

Нотариус

Г.Б. Акимов



Российская Федерация
Город Москва

Тридцатого июля две тысячи восемнадцатого года

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

Зарегистрировано в реестре: N 08/82-н/77-2018- 12-1057

Взыскано государственной пошлины (по тарифу): 670 руб.

Уплачено за оказание услуг правового и технического характера: 2150 руб.
В.А. Король



Всего прошнуровано,
пронумеровано и скреплено
печатью 67 лист(-а, -ов)



ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна
ФМБА России

Количество 68 листов

Заместитель генерального директора по
медицинской части

Ю.Д. Удалов

2018 г.

