



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2017 - Año de las Energías Renovables

Disposición

Número: DI-2017-11417-APN-ANMAT#MS

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Miércoles 8 de Noviembre de 2017

Referencia: 1-47-3110-5827/16-2

VISTO el expediente N° 1-47-3110-5827/16-2 del Registro de la Administración Nacional Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica) solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos de los Productos para diagnóstico de uso "vitro" denominados: 1) VENTANA PD-L1 (SP263) Rabbit Monoclonal Primary Antibody; VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay; y 3) VENTANA PD-L1 (SP263) Assay CE IVD.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para autorización.

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establece la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

Que la Dirección Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 el por Decreto N° 101 de fecha 16 de diciembre de 2015.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) de los productos médicos para diagnóstico de uso in vitro denominados: **1) VENTANA PD-L1 (SP263) Rabbit Monoclonal Primary Antibody; 2) VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay 3) VENTANA PD-L1 (SP263) Assay CE IVD**, de acuerdo a lo solicitado por la firma PRODUCTO ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica) con los datos característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones que obran en el documento N° IF-2017-24862995-APN-DNPM#ANMAT.

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM-740-565", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

ARTÍCULO 4º.- Extiéndase el Certificado de Autorización e Inscripción en el RPPTM con los datos característicos mencionados en esta Disposición.

ARTÍCULO 5º.- Regístrese. Inscribáse en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre comercial: **1) VENTANA PD-L1 (SP263) Rabbit Monoclonal Primary Antibody; VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay; y 3) VENTANA PD-L1 (SP263) Assay CE IVD.**

Indicación de uso: Ensayos inmunohistoquímicos que utilizan anticuerpo primario monoclonal de conejo producido contra PD-L1 (B7-H1, CD274), que reconocen una glucoproteína unida a la membrana, tejidos fijados con formalina y embebidos en parafina, produciendo tinción membranosa citoplasmática.

Forma de presentación: 1), 2) y 3) Envases por 50 determinaciones, conteniendo un dispensador por 5 ml.

Período de vida útil y condición de conservación: 24 (VEINTICUATRO) meses desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8°C.

Nombre y dirección del fabricante: 1) Y 2) Ventana Medical Systems, Inc. 1910 E. Innovation Park Drive, Tucson, Arizona 85755 (USA); y 3) Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim (ALEMANIA)

Condición de Venta/Categoría: Venta a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.

Expediente N° 1-47-3110-5827/16-2

Digitally signed by LEDE Roberto Luis
Date: 2017.11.08 14:06:00 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Roberto Luis Lede
SubAdministrador
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología
Médica



VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay

REF 790-4860

07011571001

IVD 50

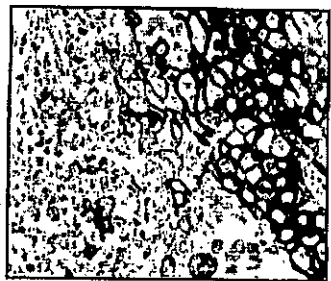


Figura 1. Expresión de PD-L1 en el carcinoma pulmonar de células no pequeñas

evaluación deberá efectuarla un anatomopatólogo, en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Este producto es para uso diagnóstico *in vitro* (IVD).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay es un ensayo inmunohistoquímico que utiliza un anticuerpo primario monoclonal de conejo (SP142) producido contra PD-L1 (B7-H1, CD274) y que reconoce una glucoproteína unida a la membrana que tiene una masa molecular de 45-55 kDa. Este anticuerpo produce tinción membranosa y/o citoplasmática.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

VENTANA PD-L1 (SP142) IHC utiliza un anticuerpo primario monoclonal de conejo que se une a PD-L1 en cortes de tejido embebidos en parafina. El anticuerpo específico puede visualizarse mediante el OptiView DAB IHC Detection Kit, seguido del OptiView Amplification Kit. Consulte los correspondientes prospectos del OptiView DAB IHC Detection Kit y del OptiView Amplification Kit para obtener más información.

REACTIVO SUMINISTRADO

VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay incluye una cantidad de reactivo suficiente para realizar 50 pruebas.

Un dispensador de 5 ml de VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay contiene aproximadamente 36 µg de un anticuerpo monoclonal de conejo.

El anticuerpo se diluye en un tampón de solución salina con Tris 0,05 M, EDTA 0,01 M, Brij-35 al 0,05 % con una proteína transportadora al 0,3 % y azida sódica al 0,05 %, un conservante.

La concentración total de proteína del reactivo es de aproximadamente 3 mg/ml. La concentración del anticuerpo específico es aproximadamente de 7 µg/ml.

VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay contiene un anticuerpo monoclonal recombinante de conejo producido como sobrenadante de un cultivo celular purificado.

Consulte en el prospecto correspondiente del kit de detección de VENTANA las descripciones detalladas de: (1) Principios del procedimiento, (2) Materiales y reactivos necesarios, pero no suministrados, (3) Recogida y preparación de muestras para análisis, (4) Procedimientos de control de calidad, (5) Resolución de problemas, (6) Interpretación de los resultados, y (7) Limitaciones generales.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

No se suministran reactivos de tinción, como los kits de detección de VENTANA, ni componentes auxiliares, incluyendo portaobjetos de control tisular negativos y positivos.

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción:

- Muestras de amígdala humana para usar como tejido de control
- Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (Cat. No. 790-4795 / 06683380001)
- Portaobjetos para microscopio (con carga positiva)
- Etiquetas de código de barras
- Xileno (grado histológico)
- Etanol o alcohol reactivo (grado histológico)
 - Solución al 100 %: etanol o alcohol reactivo sin diluir
 - Solución al 95 %: mezcla 95 partes de etanol o alcohol reactivo con 5 partes de agua desionizada.
 - Solución al 80 %: mezcla 80 partes de etanol o alcohol reactivo con 20 partes de agua desionizada.
- Agua desionizada o destilada
- OptiView DAB IHC Detection Kit (Cat. No. 760-700 / 06396500001)
- OptiView Amplification Kit (Cat. No. 760-099 / 06396518001 (50 pruebas) o 860-099 / 06718663001 (250 pruebas))
- EZ Prep Concentrate (10X) (Cat. No. 950-102 / 05279771001)
- Reaction Buffer Concentrate (10X) (Cat. No. 950-300 / 05353955001)
- LCS (Predilute) (Cat. No. 650-010 / 05264839001) para los instrumentos de tinción automática BenchMark XT y GX
- ULTRA LCS (Predilute) (Cat. No. 650-210 / 05424534001) para el instrumento de tinción automática BenchMark ULTRA
- Cell Conditioning Solution 1 (CC1) (Cat. No. 950-124 / 05279801001) para los instrumentos de tinción automática BenchMark XT y GX
- ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (Cat. No. 950-224 / 05424569001) para el instrumento de tinción automática BenchMark ULTRA
- Hematoxylin II counterstain (Cat. No. 790-2208 / 05277965001)
- Bluing Reagent (Cat. No. 760-2037 / 05266769001)
- Medio de montaje permanente (Permunt Fisher Cat. No. SP15-500 o equivalente)
- Cubreobjetos de cristal (suficiente para cubrir el tejido, como VWR Cat. No. 48393-060)
- Cubreportaobjetos automatizado (como el cubreportaobjetos automatizado Tissue-Tek SCA)
- Microscopio óptico
- Toallitas absorbentes

No todos los productos enumerados en el prospecto están disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local.

CONSERVACIÓN

Tras la recepción y cuando no se utilice, consérvese de 2 a 8 °C. No congelar.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, vuelva a poner el tapón del dispensador después de cada uso y almacene inmediatamente el dispensador en la nevera, en posición vertical.

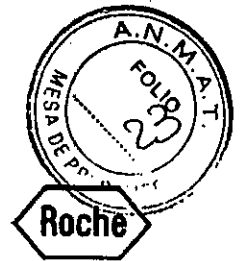
Todos los dispensadores de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. Si se conserva correctamente, este reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta. No utilice el reactivo después de la fecha de caducidad.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Con el procedimiento habitual, los tejidos fijados con formal y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utilizan con los kits de detección de VENTANA y los instrumentos de tinción automática BenchMark ULTRA, BenchMark XT, o BenchMark GX. Ventana recomienda fijar el tejido en una solución de formal tamponado neutro (NBF) al 10 % durante un mínimo de 6 horas y hasta 72 horas como máximo. Un tiempo de fijación inferior a 6 horas puede dar como resultado una pérdida de tinción de PD-L1. La cantidad usada debe ser de 15 a 20 veces superior al volumen de tejido. Ningún fijador penetrará más de 2 a 3 mm en el tejido sólido o 5 mm en el tejido poroso en un periodo de 24 horas. La fijación se puede llevar a cabo a temperatura ambiente (de 15 a 25 °C). 1,2

Fijadores como el alcohol-formol-ácido acético (AFA), el fijador PREFER, y otros fijadores que incluyen alcohol han mostrado una pérdida de tinción específica de PD-L1 en todos los tiempos de fijación evaluados (1-72 horas); no se recomienda su uso para este ensayo.

Form. ROBERTA MELI MAZZA
 PRODUCTOS ROCHE S.A. de C.V.
 DIVISION DIAGNOSTICOS
 2995-APN-DNPM#ANMAT
 CO. DIRECTORA TÉCNICA



Deben realizarse cortes de un grosor aproximado de 4 µm y colocarse en portaobjetos de vidrio con carga positiva. Los portaobjetos deben teñirse inmediatamente, ya que la antigenidad de los cortes de tejido puede disminuir con el tiempo.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico *in vitro* (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. Los materiales de origen animal o humano deben manejarse como materiales de peligro biológico y eliminarse con las precauciones adecuadas.
4. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante.
5. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a unos resultados incorrectos.
6. Consulte a las autoridades locales o nacionales sobre el método de eliminación recomendado.
7. Para obtener información de seguridad complementaria, consulte la hoja de datos de seguridad del producto y la guía de símbolos y peligros que encontrará en la página www.ventana.com.

PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN

VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay ha sido desarrollado para utilizarse en un instrumento de tinción automática BenchMark ULTRA, BenchMark XT, o BenchMark GX junto con Rabbit Monoclonal Negative Control Ig, OptiView DAB IHC Detection Kit, OptiView Amplification Kit, y los reactivos suplementarios. Se debe utilizar un procedimiento de tinción específico del ensayo para VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay. Consulte la Tabla 1 para conocer el protocolo de tinción recomendado y el procedimiento de tinción necesario.

Este anticuerpo se ha optimizado para periodos de incubación específicos, pero el usuario debe validar los resultados obtenidos con este reactivo.

Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el manual del usuario de los instrumentos. Consulte el prospecto correspondiente del kit de detección de VENTANA para obtener más detalles sobre los procedimientos de tinción de inmunohistoquímica.

Tabla 1. Protocolo de tinción recomendado y procedimientos de tinción necesarios para VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay y Rabbit Monoclonal Negative Control Ig con OptiView DAB IHC Detection Kit y OptiView Amplification Kit en un instrumento de tinción automática BenchMark ULTRA, BenchMark XT, o BenchMark GX.

Procedimiento de tinción:		ULTRA VENTANA PDL1 (SP142) XT VENTANA PDL1 (SP142) GX VENTANA PDL1 (SP142)
Paso del protocolo	Entrada de parámetros	
Homeado	Opcional	
Anticuerpo (Primario)	VENTANA PD-L1 (SP142) seleccionado o Control negativo seleccionado	
Contratinción	Hematoxylin II, 4 minutos	
Post-contratinción	Bluing, 4 minutos	

CONTROL DE REACTIVO NEGATIVO

Se recomienda analizar un portaobjetos de control de reactivo negativo correspondiente a cada muestra como ayuda para la interpretación de los resultados. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig, un anticuerpo de control de reactivo negativo, está especialmente indicado para este ensayo y se utiliza en lugar del anticuerpo primario para evaluar una tinción no específica.

TEJIDO DE CONTROL

Un ejemplo de tejido de control positivo y negativo para este ensayo es el tejido de la amígdala. La presencia de tinción de PD-L1 en el interior de los macrófagos y linocitos de los centros germinales y el epitelio reticulado de la cripta amigdalina sirven como elementos de tejido positivos. La ausencia de tinción en el epitelio escamoso superficial y de las células inmunitarias negativas en las regiones interfoliculares amigdalinas sirven como elementos de tejido negativo.

INTERPRETACIÓN DE LAS TINCCIONES / RESULTADOS PREVISTOS

El modelo de tinción celular de VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay es una tinción membranosa perimetral parcial o completa de las células tumorales (con o sin componente citoplásmico) y una tinción discontinua o lineal de las células inmunitarias.

LIMITACIONES ESPECÍFICAS

Este ensayo no se ha validado para su uso con frotis citológicos o muestras decalcificadas.

Se ha observado una pérdida de rendimiento de la tinción en el uso de VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay en la tinción de cortes de tejido que habían sido almacenados a temperatura ambiente durante un periodo superior a 60 días.

CARACTERÍSTICAS DE COMPORTAMIENTO

Se realizaron pruebas de tinción para especificidad, sensibilidad y reproducibilidad, y los resultados se indican en la Tabla 2 y en la Tabla 3 y en la sección Reproducibilidad.

Especificidad

Tabla 2. La especificidad de la tinción con VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay se determinó mediante el análisis de tejidos normales fijados con formol y embebidos en parafina.

Tejido	N.º de casos positivos / total	Tejido	N.º de casos positivos / total
Glándula suprarrenal	1/3	Músculo, cardíaco	0/3
Vejiga	3/3**	Músculo, esquelético	0/2
Mama	1/3	Mieloides	0/2
Cerebelo	0/3***	Nervio, periférico	0/3
Cerebro	0/3	Ovario	0/3
Útero	2/2	Páncreas	0/3****
Colon	2/3	Paratiroide	0/2
Endometrio	1/3	Próstata	0/3
Esófago	0/3	Glándula salival	2/3
Hipófisis	0/3***	Piel	0/3
Intestino, delgado	1/3	Bazo	3/3
Riñón	2/3	Estómago	0/3
Glándula lingual	0/1	Testículo	0/3***
Hígado	0/3	Glándula timo	3/3
Pulmón	1/25	Glándula tiroideas	1/3
Ganglio linfático	3/3	Amígdala	3/3
Mesotelio	0/3		

* Tinción de células inmunitarias ** Tinción focal de células inmunitarias

*** Se observaron puntos focales DAB en 1/3 de los tejidos del cerebro y en 1/3 de los tejidos del testículo

**** Se observó tinción nuclear en 1/3 de los tejidos del páncreas y 1/3 de los tejidos de la hipófisis

Form. ROBERTA ALEJANDRA
PRODUCTOS ROCHE S.A. de C.V.
DIVISION DIAGNOSTICA
DIRECTORA TÉCNICA

APN-DNPM#ANMAT

Sensibilidad

Tabla 3. La sensibilidad de la tinción con VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay se determinó mediante el análisis de varios tejidos neoplásicos fijados con formal y embebidos en parafina.

Origen	Patología	N.º de casos positivos/total	
		Células Inmunitarias	Células tumorales
Abdomen	Mesotelioma maligno	1/1	0/1
Espalda	Neurofibroma	1/1	0/1
Vejiga	Leiomioma maligno de grado bajo	0/1	0/1
Vejiga	Carcinoma de células transicionales	1/1	0/1
Hueso	Osteosarcoma	0/1	0/1
Mama	Carcinoma ductal invasivo	1/1	0/1
Mama	Carcinoma intraductal con infiltración temprana	1/1	0/1
Cerebro	Glioblastoma	0/1	0/1
Cerebro	Meningioma atípico	0/1	0/1
Cerebro	Ependimoma maligno	0/1	0/1
Cerebro	Oligodendroglioma	0/1	0/1
Colon	Adenocarcinoma	1/1	0/1
Colon	Intersticialoma	0/1	0/1
Esófago	Carcinoma de células escamosas	0/1	0/1
Esófago	Adenocarcinoma	1/1	0/1
Intestino	Adenocarcinoma	1/1	0/1
Intestino	Sarcoma de estroma	1/1	0/1
Riñón	Carcinoma de células claras	1/1	0/1
Hígado	Carcinoma hepatocelular	0/1	0/1
Hígado	Hepatoblastoma	1/1	0/1
Pulmón	Adenocarcinoma	0/1	0/1
Pulmón	Carcinoma no diferenciado de células pequeñas	1/1	0/1
Pulmón	Carcinoma de células escamosas	1/1	0/1
Ganglio linfático	Linfoma difuso de células B	1/1*	1/1*
Ganglio linfático	Linfoma de Hodgkin	1/1	0/1
Mediastino	Linfoma difuso de células B	1/1*	1/1*
Músculo, liso	Leiomioma maligno moderado	1/1	0/1
Músculo, estriado	Rabdomiosarcoma embrionario	0/1	0/1
Ovario	Adenocarcinoma seroso	1/1	0/1
Ovario	Adenocarcinoma	1/1	0/1

Origen	Patología	N.º de casos positivos/total	
		Células inmunitarias	Células tumorales
Páncreas	Tumor de células de islotes	0/1	0/1
Páncreas	Adenocarcinoma	1/1	0/1
Cavidad péptica	Linfoma anaplásico de células grandes	1/1*	1/1*
Próstata	Adenocarcinoma	0/2	0/2
Recto	Adenocarcinoma	1/1	1/1
Recto	Intersticialoma maligno moderado	0/1	0/1
Recto	Melanoma maligno	1/1	0/1
Retroperitoneo	Neuroblastoma	1/1	0/1
Retroperitoneo	Rabdomiosarcoma de células fusiformes	0/1	0/1
Piel	Carcinoma de células basales	1/1	0/1
Piel	Carcinoma de células escamosas	1/1	0/1
Bazo	Linfoma difuso de células B	1/1*	1/1*
Estómago	Carcinoma de células en anillo de sello	1/1	0/1
Testículo	Seminoma	1/1	0/1
Testículo	Carcinoma embrionario	0/1	0/1
Tiroides	Carcinoma medular	0/1	0/1
Tiroides	Carcinoma papilar	0/1	1/1
Cuello de útero	Carcinoma de células escamosas	2/2	0/2
Útero	Leiomioma	0/1	0/1
Útero	Adenocarcinoma	1/1	0/1
Útero	Carcinoma de células claras del endometrio	1/1	1/1

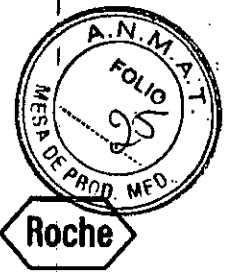
* La tinción de células tumorales e inmunitarias no se pudo diferenciar

Repetibilidad y precisión intermedia

Se llevaron a cabo estudios de repetibilidad de VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay para demostrar:

- La reproducibilidad entre lotes del anticuerpo.
- La reproducibilidad intraanálisis e interanálisis en un instrumento de tinción automática BenchMark ULTRA.
- La reproducibilidad intraplataforma en los instrumentos de tinción automática BenchMark ULTRA, BenchMark XT y BenchMark GX.
- La reproducibilidad entre plataformas con los instrumentos de tinción automática BenchMark XT y BenchMark GX y el instrumento de tinción automática BenchMark ULTRA.

Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.



BIBLIOGRAFIA

1. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2011.
2. CLSI. Quality Assurance for Design Control and Implementation of Immunohistochemistry Assays: Approved Guideline-Second Edition. CLSI document I/LA28-A2 (ISBN 1-56238-745-6). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2011.

PROPIEDAD INTELECTUAL

BENCHMARK, OPTIVIEW, VENTANA y el logotipo de VENTANA son marcas comerciales de Roche.

El resto de marcas comerciales es propiedad de sus respectivos propietarios.

© 2016 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMACIÓN DE CONTACTO



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)



www.ventana.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany



US

2016-06-29
FT0700-4108

4/4

Roma ROBERTA MELE MAZZA
PRODUCTOS ROCHE S.A.C. e.I.
DIVISION DIAGNOSTICA
C/O DIRECTORA TÉCNICA

1012318ES Rev B

IF-2017-24862995-APN-DNPM#ANMAT



VENTANA PD-L1 (SP263) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

REF 790-4905

07494190001

IVD 50

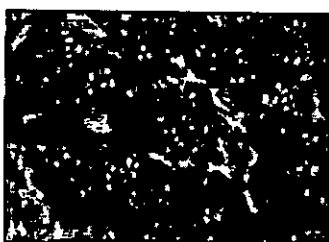


Figura 1. Carcinoma pulmonar de células no pequeñas teñido con el VENTANA PD-L1 (SP263) Rabbit Monoclonal Primary Antibody.

USO PREVISTO

VENTANA PD-L1 (SP263) Rabbit Monoclonal Primary Antibody está diseñado para su uso en laboratorio para la detección de la proteína PD-L1 en tejido fijado con formalina y embebido en parafina. Se ha concebido para la tinción con los módulos de tinción de portaobjetos automatizados de la serie VENTANA BenchMark. Está indicado como ayuda en la evaluación de la expresión PD-L1 en el carcinoma pulmonar de células no pequeñas (CPCNP) y otros tipos de tumores.

Este producto debe ser interpretado por un anatomopatólogo calificado junto con exámenes histológicos, información clínica relevante y controles adecuados.

Este anticuerpo está destinado para uso diagnóstico *in vitro* (IVD).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

VENTANA PD-L1 (SP263) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (VENTANA PD-L1 (SP263)) es un anticuerpo primario monoclonal de conejo producido contra el ligando de muerte programada 1 (PD-L1) homólogo 1 de B7 (B7-H1, CD274). Reconoce una glucoproteína unida a la membrana que tiene una masa molecular de 45-55 kDa. Este anticuerpo produce tinción membranosa y/o citoplasmática.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

VENTANA PD-L1 (SP263) es un anticuerpo primario monoclonal de conejo, que se une a PD-L1 en cortes de tejido embebidos en parafina. El anticuerpo específico se puede localizar mediante un anticuerpo secundario haptenado seguido de un conjugado antihapteno-HRP multímero (OptiView DAB IHC Detection Kit, N.º cat. 760-700). El complejo anticuerpo-enzima específico se visualiza entonces con un producto de reacción de precipitación de la enzima. Cada paso se incuba durante un tiempo y a una temperatura precisos. Al final del paso de incubación, los cortes se enjuagan con el módulo de tinción automatizado de VENTANA BenchMark para detener la reacción y eliminar el material no unido que impediría la reacción deseada en los pasos siguientes. También aplica LCS (N.º cat. 650-210 / N.º cat. 650-010), que minimiza la evaporación de los reactivos acuosos del portaobjetos de la muestra.

Además de la tinción con VENTANA PD-L1 (SP263), se debe teñir un segundo portaobjetos con Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (N.º cat. 790-4795). El control de reactivos negativo se utiliza para evaluar la tinción de fondo.

REACTIVO SUMINISTRADO

VENTANA PD-L1 (SP263) contiene reactivo suficiente para 50 pruebas.

Un dispensador de 5 ml VENTANA PD-L1 (SP263) contiene aproximadamente 8,05 µg de un anticuerpo monoclonal de conejo.

El anticuerpo se diluye en un tampón formado por Tris-HCl 0,05 M con una proteína transportadora al 1 % y ProClin 300 al 0,10 % como conservante.

La concentración de proteína total del reactivo es de aproximadamente 10 mg/ml. La concentración del anticuerpo específico es de aproximadamente 1,61 µg/ml. No se ha observado ninguna reactividad del anticuerpo no específica conocida en este producto.

VENTANA PD-L1 (SP263) es un anticuerpo monoclonal recombinante de conejo producido como sobrenadante de un cultivo celular purificado.

Consulte en el prospecto correspondiente del kit de detección de VENTANA las descripciones detalladas de: (1) Principios del procedimiento, (2) Materiales y reactivos

necesarios pero no suministrados, (3) Extracción y preparación de la muestra para su análisis, (4) Procedimientos de control de calidad, (5) Resolución de problemas, (6) Interpretación de los resultados y (7) Limitaciones generales.

MATERIALES NECESARIOS QUE NO SE SUMINISTRAN

No se suministran reactivos de tinción como los kits de detección de VENTANA ni componentes auxiliares, incluidos los portaobjetos con controles de tejido negativos y positivos.

No todos los productos enumerados en el prospecto están disponibles en todos los lugares. Consulte con su representante local.

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios para la tinción, pero no se suministran:

1. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (N.º cat. 790-4795)
2. Portaobjetos para microscopio (con carga positiva)
3. Etiquetas de código de barras (etiquetas para el control de reactivo negativo y para el anticuerpo primario que se está analizando)
4. Xileno (calidad histológica)
5. Etanol o alcohol adecuado como reactivo (calidad histológica)
 - Solución al 100 %: etanol o alcohol reactivo sin diluir
 - Solución al 95 %: mezclar 95 partes de etanol o alcohol reactivo con 5 partes de agua desionizada
 - Solución al 80 %: mezclar 80 partes de etanol o alcohol reactivo con 20 partes de agua desionizada
6. Agua desionizada o destilada
7. OptiView DAB IHC Detection Kit (N.º cat. 760-700)
8. EZ Prep Concentrate (10X) (N.º cat. 950-102)
9. Reaction Buffer Concentrate (10X) (N.º cat. 950-300)
10. ULTRA LCS (Predilute) (N.º cat. 650-210)
11. LCS (Predilute) (N.º cat. 650-010)
12. ULTRA Cell Conditioning Solution (CC1) (N.º cat. 950-224)
13. Cell Conditioning Solution (CC1) (N.º cat. 950-124)
14. Hemaloxylín II Counterstain (N.º cat. 790-2208)
15. Bluing Reagent (N.º cat. 760-2037)
16. Medio de montaje permanente (Permount Fisher N.º cat. SP15-500 o equivalente)
17. Cubreobjetos (suficiente para cubrir el tejido, como VWR N.º cat. 48393-060)
18. Montador de portaobjetos automatizado (como el Tissue-Tek SCA Automated Coverslipper)
19. Microscopio óptico
20. Toallitas absorbentes.

No todos los productos enumerados en el prospecto están disponibles en todos los lugares. Consulte con su representante local.

CONSERVACIÓN/ALMACENAMIENTO

Tras la recepción y cuando no se utilice, conservar a una temperatura de 2 a 8 °C. No congelar.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, tras cada utilización se debe volver a poner el tapón y almacenar inmediatamente el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. Si se almacena correctamente, el reactivo se mantendrá estable hasta la fecha indicada en la etiqueta. No use el reactivo después de la fecha de caducidad.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Cuando se utiliza el procedimiento habitual, los tejidos fijados con formalina y embebidos en parafina resultan adecuados para el uso con este anticuerpo primario cuando se utiliza con el VENTANA OptiView DAB IHC Detection Kit y los módulos de tinción de portaobjetos automatizados VENTANA BenchMark ULTRA, BenchMark XT y BenchMark GX. El fijador de tejidos recomendado es una solución de formalina tamponada neutra (NBF) al 10 % durante un tiempo de fijación de 6 horas como mínimo hasta 48 horas. Los fijadores aceptables para el uso con VENTANA PD-L1 (SP263) son la formalina de zinc y kits fijadores Z-5 cuando se utilizan con un tiempo de fijación de 6 horas como mínimo. Otros fijadores, entre los que se incluyen el alcohol al 95 %, AFA y Prefer, no son aceptables para el uso con el VENTANA PD-L1 (SP263). La cantidad usada es de entre 15 y 20 veces el volumen de tejido. Ningún fijador penetrará más de 2 a 3 mm en tejido sólido o de 5 mm en tejido poroso en un periodo de 24 horas. Un corte de tejido de 3 mm o menor se debe fijar en no menos de 4 horas y no más de 8 horas. La fijación se puede realizar a temperatura

ambiente (15-25 °C).² Los portaobjetos deben teñirse inmediatamente, ya que la antigenicidad de las secciones de los cortes de tejido puede disminuir con el tiempo. Se recomienda que los controles positivos y negativos se analicen simultáneamente con muestras desconocidas.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico *in vitro* (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. La solución ProClin 300 se utiliza como conservante en este reactivo. Está clasificado como irritante y puede ocasionar sensibilización por contacto con la piel. Adopte precauciones razonables cuando lo manipule. Evite el contacto de los reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Utilice ropa protectora y guantes.
4. Los materiales de origen animal o humano deben manejarse como materiales peligrosos para el medio ambiente y eliminarse con las precauciones adecuadas.
5. Evite el contacto de los reactivos con los ojos o las membranas mucosas. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, enjuague con abundante agua.
6. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, pues podría dar lugar a unos resultados incorrectos.
7. Consulte con las autoridades locales o nacionales el método de eliminación recomendado.
8. Para información de seguridad complementaria, consulte la hoja de datos de seguridad del producto y la guía de símbolos y frases de riesgo en la dirección www.ventana.com.

PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN

Los anticuerpos primarios VENTANA se han desarrollado para su uso en los módulos de tinción automatizados VENTANA BenchMark XT, BenchMark GX y BenchMark ULTRA junto con los kits de detección VENTANA y sus accesorios. Consulte la tabla 1 para ver los protocolos de tinción recomendados.

Este anticuerpo se ha optimizado para períodos de incubación específicos, pero el usuario debe validar los resultados obtenidos con este reactivo.

Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el manual del usuario de los instrumentos. Consulte el prospecto correspondiente del kit de detección de VENTANA para obtener más detalles sobre los procedimientos de tinción de inmunohistoquímica.

Tabla 1. Protocolo de tinción recomendado para VENTANA PD-L1 (SP263) con OptiView DAB IHC Detection Kit y equipos BenchMark series.

Tipo de procedimiento	Método
Desparafinado	Seleccionado
Cell Conditioning (Desenmascaramiento del antígeno)	Cell Conditioning 1, 64 minutos estándar
Inhibidor preprimario de peroxidasa	Seleccionado
Anticuerpo (primario)	Equipo BenchMark GX 16 minutos, 37 °C Equipo BenchMark XT 16 minutos, 37 °C Equipo BenchMark ULTRA 16 minutos, 36 °C
OptiView HQ Linker	8 min (valor predeterminado)
OptiView HRP Multimer	8 min (valor predeterminado)
Contratinción	Hematoxylin II, 4 a 8 minutos
Post contratinción	Bluing, 4 minutos

Debido a variaciones en la fijación y el procesamiento del tejido, así como a las condiciones generales de los equipos y del entorno del laboratorio, puede ser necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario y el acondicionamiento celular o tratamiento previo de la proteasa en función de las muestras particulares, de la detección que se haya utilizado y de las preferencias del profesional

encargado de la lectura. Para obtener más información acerca de las variables de fijación, consulte "Immunohistochemistry Principles and Advances".³

CONTROL DE TEJIDO POSITIVO

Un ejemplo de tejido de control positivo para este anticuerpo es tejido placentario humano, que muestra la tinción uniforme de moderada a fuerte de la membrana y citoplasma de las células de linaje trofoblástico. La vasculatura y el tejido estromático placentario se pueden utilizar para la evaluación de una tinción de fondo.

INTERPRETACIÓN DE LAS TINCIONES/RESULTADOS ESPERADOS

El patrón de tinción celular para VENTANA PD-L1 (SP263) es membranoso y citoplasmático en células tumorales. Las células inmunitarias manifiestan tinción membranaria lineal, citoplasmática difusa, y/o punteada.

LIMITACIONES ESPECÍFICAS

VENTANA PD-L1 (SP263) se ha optimizado en equipos VENTANA BenchMark ULTRA en combinación con el OptiView DAB IHC Detection Kit con un tiempo de incubación del anticuerpo primario de 16 minutos.

La prueba de isquemia fría de VENTANA PD-L1 (SP263) que utilizó un modelo de tejido de xenoinjerto no estableció condiciones de cero a 24 horas que no fueran favorables para el ensayo.

Se deben realizar cortes de aproximadamente 4-5 µm de grosor y colocarse en portaobjetos de vidrio cargados positivamente. Se recomienda que el tejido del paciente se tiña en los 90 días después de cortarlo.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Se realizaron pruebas de tinción para especificidad, sensibilidad y reproducibilidad, y los resultados se detallan en 2 y 3 y en la sección Reproducibilidad.

Especificidad

Tabla 2. La especificidad de VENTANA PD-L1 (SP263) se determinó analizando tejidos normales fijados con formalina y embebidos en parafina.

Tejido	N.º de casos positivos/total	Tejido	N.º de casos positivos/total
Cerebro	0/3	Mieloides (médula ósea)	0/2
Cerebelo	0/3	Pulmón	3/5
Glándula suprarrenal	0/3	Corazón	0/3
Ovario	0/3	Esófago	0/3
Páncreas	0/3	Estómago	0/3
Hipófisis	0/3	Intestino delgado	1/3
Testículo	0/3	Colon	2/3
Tiroideas	0/3	Hígado	0/3
Mama	0/3	Glándula salival	0/3
Bazo	3/3	Riñón	0/3
Amígdala	3/3	Próstata	0/3
Útero	0/3	Cuello uterino	0/3
Músculo esquelético	0/3	Piel	0/2
Nervio (disperso)	0/3	Ganglio linfático	3/3
Timo	3/3	Pericardio	0/1



Sensibilidad

Tabla 3. La sensibilidad de VENTANA PD-L1 (SP263) se determinó analizando una variedad de tejidos neoplásicos fijados con formalina y embebidos en parafina.

Patología	N.º de casos positivos/total
Glioblastoma	0/1
Meningioma atípico	0/1
Ependimoma maligno	0/1
Oligodendroglioma maligno	0/1
Adenocarcinoma seroso	0/1
Adenocarcinoma de ovario	0/1
Tumor de células de islotes	1/1
Adenocarcinoma pancreático	0/1
Seminoma	0/1
Carcinoma embrionario	0/1
Carcinoma medular	0/1
Carcinoma papilar	1/1
Carcinoma intraductal de mama	0/1
Carcinoma ductal infiltrante de mama	0/2
Linfoma difuso de células B	0/1
Carcinoma pulmonar no diferenciado de células pequeñas	1/1
Carcinoma pulmonar de células escamosas	1/1
Adenocarcinoma de pulmón	0/1
Carcinoma neuroendocrino esofágico	0/1
Adenocarcinoma de esófago	0/1
Carcinoma de células en anillo de sello gástrico	0/1
Adenocarcinoma gastrointestinal	0/1
GIST	0/1
Adenocarcinoma de colon	0/1
Intersticialoma de colon	0/1
Adenocarcinoma rectal	0/1
Intersticialoma rectal	0/1
Carcinoma hepatocelular	0/1
Hepatoblastoma	0/1
Carcinoma renal de células claras	0/1
Adenocarcinoma de próstata	0/2
Leiomioma	0/1
Adenocarcinoma endometrial	0/1
Carcinoma de células claras endometriales	1/1
Carcinoma uterino de células escamosas	0/2
Rabdomiosarcoma embrionario	0/1

Melanoma maligno rectal	0/1
Carcinoma de células basales (piel)	0/1
Carcinoma de células escamosas (piel)	0/1
Neurofibroma (espalda)	0/1
Neuroblastoma de retroperitoneo	0/1
Mesotelioma maligno (cavidad abdominal)	0/1
Linfoma difuso de células B (mediastino)	0/1
Linfoma de Hodgkin	1/1
Linfoma difuso de células B (ganglio linfático)	0/1
Linfoma anaplásico de células grandes (cavidad pélvica)	0/1
Leiomioma de grado bajo (vejiga)	0/1
Osteosarcoma	0/1
Rabdomiosarcoma de células fusiformes (retroperitoneo)	0/1
Leiomioma de grado intermedio (músculo liso)	0/1
Carcinoma de células transicionales (vejiga)	0/1

Reproducibilidad

Se completaron estudios de reproducibilidad de VENTANA PD-L1 (SP263) para demostrar:

- La repetibilidad entre lotes del anticuerpo.
- La repetibilidad intraanálisis e interanálisis en un equipo BenchMark ULTRA.
- Repetibilidad intraplataforma en los equipos GX y BenchMark XT y el equipo BenchMark ULTRA.
- Repetibilidad interplataformas entre los equipos GX y BenchMark XT y el equipo BenchMark ULTRA.

Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.

BIBLIOGRAFÍA

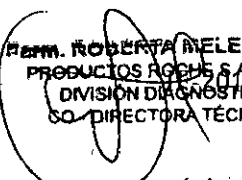
1. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and practice of Histotechnology, 2nd edition. St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1980.
 2. Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition, Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
- Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.

PROPIEDAD INTELECTUAL

BENCHMARK, OpiView, VENTANA, y el logotipo VENTANA son marcas comerciales de Roche.

Cualquier otra marca comercial es propiedad de sus respectivos propietarios.

© 2015 Ventana Medical Systems, Inc.


DR. ROBERTA ELEAZZA
 PRODUCTOS ROCHE S.A. DE C.V.
 DIVISION DIAGNOSTICA
 CO-DIRECTORA TÉCNICA



INFORMACIÓN DE CONTACTO



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)



www.ventana.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany





VENTANA PD-L1 (SP263) Assay

REF 741-4905
07419821001

IVD **I** 50

USO PREVISTO

El VENTANA PD-L1 (SP263) Assay se ha diseñado para la detección cualitativa de la proteína del ligando de muerte programada 1 (PD-L1) en tejidos de non-small cell lung carcinoma (NSCLC) fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE), teñidos con el OptiView DAB IHC Detection Kit en un equipo de tinción automatizado de VENTANA BenchMark Series.

La expresión de PD-L1 en la membrana de las células tumorales que detecta el ensayo VENTANA PD-L1 (SP263) Assay en el NSCLC puede asociarse a una mayor supervivencia con OPDIVO® (nivolumab).

Este producto requiere la interpretación de un patólogo cualificado junto con exámenes histológicos, información clínica relevante y controles adecuados.

Este anticuerpo está destinado para uso diagnóstico *in vitro* (IVD).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El VENTANA PD-L1 (SP263) Assay (VENTANA PD-L1 (SP263)) es un rabbit monoclonal primary antibody que se produce contra el ligando de muerte programada 1 (PD-L1) homólogo 1 de B7 (B7-H1, CD274). Reconoce una glucoproteína unida a la membrana que tiene una masa molecular de 45-55 kDa. Este anticuerpo produce tinción membranosa y/o citoplasmática.

El cáncer de pulmón es, desde hace varias décadas, el cáncer más común y la principal causa de muerte relacionada con esta enfermedad a nivel mundial. Se estima que representa el 12,9 % de todos los nuevos casos de cáncer y causa casi 1,59 millones de muertes al año en todo el mundo o, lo que es lo mismo, es la causa de una de cada cinco muertes relacionadas con el cáncer¹. Aunque se han incorporado mejoras en las opciones de diagnóstico y tratamiento, el pronóstico sigue siendo desfavorable, con tasas bajas de supervivencia a largo plazo en todas las fases. Durante los últimos 30 años, se ha comprobado que el cáncer de pulmón muestra la menor mejora en los índices de supervivencia en comparación con otros tipos de cáncer².

El cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC), uno de los tipos de cáncer principales, representa aproximadamente el 85 % de los casos de cáncer de pulmón³. En más de la mitad de los pacientes diagnosticados con NSCLC, la enfermedad ya ha alcanzado la fase de metástasis, lo que disminuye en gran medida la posibilidad de supervivencia. El índice de supervivencia relativo a 5 años para los pacientes diagnosticados con NSCLC como enfermedad distante es del 4,7 %³. La mayoría de los pacientes con NSCLC presentan una enfermedad localmente avanzada e inoperable (fase IIIB) o metastásica (fase IV). Actualmente, no existen opciones de tratamiento curativo para ninguna de las dos y, de media, estos pacientes mueren en un plazo de un año desde el diagnóstico. Existen posibilidades de mejora en el resultado clínico del cáncer de pulmón si se conocen mejor los acontecimientos moleculares que subyacen a la patogénesis con el fin de identificar nuevos blancos de biomarcadores y desarrollar nuevas opciones de tratamiento.

PD-L1 es una proteína transmembrana que regula las respuestas inmunitarias mediante el enlace con sus receptores inhibidores de muerte programada-1 (PD-1) y B7.1^{4,5}. PD-1 es un receptor inhibidor que se expresa en los linfocitos T tras su activación y se mantiene en estados de estimulación crónica, como en infección crónica o cáncer⁶. El enlace de PD-L1 con PD-1 inhibe la proliferación de linfocitos T, la producción de citoquina y la actividad citotóxica, lo que conlleva la desactivación funcional o agotamiento linfocítico. B7.1 es una molécula expresada en células que presentan antígeno y linfocitos T activados. El enlace de PD-L1 y B7.1 en los linfocitos T y las células que presentan antígeno puede mediar la regulación de la respuesta inmunitaria, incluyendo la inhibición de la activación de linfocitos T y la producción de citoquina⁷. Se ha observado la expresión de PD-L1 en células inmunitarias y tumorales⁴. Se ha detectado que la expresión aberrante de PD-L1 en células tumorales obstaculiza la inmunidad antitumoral, dando como resultado la evasión inmunitaria⁶. Por consiguiente, la interrupción de la vía PD-L1/PD-1 representa una estrategia atractiva para reavivar la inmunidad específica frente a tumores de los linfocitos T que suprime la expresión de PD-L1 en el microentorno tumoral.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El VENTANA PD-L1 (SP263) es un rabbit monoclonal primary antibody que se enlaza al PD-L1 en secciones de tejido fijadas en parafina. El anticuerpo específico se puede localizar mediante un anticuerpo secundario haptenado seguido de un conjugado anti-hapteno-HRP multimer (OptiView DAB IHC Detection Kit, Cat. No. 760-700).

El complejo anticuerpo-enzima específico se visualiza entonces con un producto de reacción de precipitación de la enzima. Cada paso se incuba durante un tiempo y a una temperatura precisos. Al final de cada paso de incubación, el módulo de tinción de portaobjetos automatizado de VENTANA BenchMark lava las secciones para detener la reacción y eliminar el material no fijado que pueda dificultar la reacción esperada en los pasos posteriores. Lo mismo ocurre con LCS (Cat. No. 650-210 / Cat.No. 650-010), que minimiza la evaporación de los reactivos acuosos del portaobjetos de la muestra.

Además de la tinción con el VENTANA PD-L1 (SP263), es necesario teñir un segundo portaobjetos con el Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (Cat. No. 790-4795). El control de reactivos negativo se utiliza para evaluar la tinción de fondo.

REACTIVO SUMINISTRADO

El VENTANA PD-L1 (SP263) contiene reactivo suficiente para 50 pruebas.

Un dispensador de 5 ml de VENTANA PD-L1 (SP263) contiene aproximadamente 8,05 µg de anticuerpo monoclonal de conejo.

El anticuerpo se diluye en un tampón formado por Tris-HCl 0,05 M con una proteína transportadora al 1 % y ProClin 300 al 0,10 %, un conservante.

La concentración total de proteína del reactivo es aproximadamente de 10 mg/ml. La concentración del anticuerpo específico es aproximadamente de 1,61 µg/ml. No se ha observado ninguna reactividad del anticuerpo no específica conocida en este producto.

El VENTANA PD-L1 (SP263) es un anticuerpo monoclonal recombinante de conejo producido como sobrenadante de un cultivo purificado.

Consulte en el prospecto correspondiente del kit de detección de VENTANA las descripciones detalladas de: (1) Principios del procedimiento, (2) Materiales y reactivos necesarios pero no suministrados, (3) Extracción y preparación de la muestra para su análisis, (4) Procedimientos de control de calidad, (5) Resolución de problemas, (6) Interpretación de los resultados y (7) Limitaciones generales.

MATERIALES NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS

No se suministran reactivos de tinción, como los kits de detección de VENTANA, ni componentes auxiliares, incluyendo portaobjetos de control tisular negativos y positivos. No todos los productos enumerados en el prospecto están disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local.

No se incluyen los reactivos y materiales siguientes, pero pueden ser necesarios para la tinción:

- Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (Cat. No. 790-4795)
- Portaobjetos para microscopio con carga positiva
- Etiquetas de código de barras (etiquetas para el control de reactivo negativo y para el anticuerpo primario que se está analizando)
- Xileno (grado histológico)
- Etanol o alcohol reactivo (grado histológico)
 - Solución al 100 %: etanol o alcohol reactivo sin diluir
 - Solución al 95 %: mezcla 95 partes de etanol o alcohol reactivo con 5 partes de agua desionizada.
 - Solución al 80 %: mezcla 80 partes de etanol o alcohol reactivo con 20 partes de agua desionizada.
- Agua desionizada o destilada
- OptiView DAB IHC Detection Kit (Cat. No. 760-700)
- EZ Prep Concentrate (10X) (Cat. No. 950-102)
- Reaction Buffer Concentrate (10X) (Cat. No. 950-300)
- ULTRA LCS (Predilute) (Cat. No. 650-210)
- LCS (Predilute) (Cat.No. 650-010)
- ULTRA Cell Conditioning Solution (CC1) (Cat. No. 950-224)
- Cell Conditioning Solution (CC1) (Cat.No. 950-124)
- Hematoxylin II Counterstain (Cat. No. 790-2208)
- Bluing Reagent (Cat. No. 760-2037)
- Medio de montaje permanente (Permount Fisher Cat. No. SP15-500 o equivalente)



17. Cubreobjetos de cristal (suficiente para cubrir el tejido, como VWR Cat. No. 48393-060)
18. Cubreportaobjetos automatizado (como el cubreportaobjetos automatizado Tissue-Tek SCA)
19. Microscopio óptico
20. Toallitas absorbentes.

No todos los productos enumerados en el prospecto están disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local.

ALMACENAMIENTO

Tras la recepción y cuando no se utilice, consérvase de 2 a 8 °C. No congelar.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, vuelva a poner el tapón del dispensador después de cada uso y almacene inmediatamente el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpo tienen una fecha de caducidad. Si se conserva correctamente, este reactivo es estable hasta la fecha indicada en la etiqueta. No utilice el reactivo después de la fecha de caducidad.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Los tejidos fijados con formol y embebidos en parafina que se procesan de forma habitual son adecuados para su uso con este anticuerpo primario, cuando se utiliza con el VENTANA OptiView DAB IHC detección kit y los módulos de tinción de portaobjetos automatizados VENTANA BenchMark XT, BenchMark GX y BenchMark ULTRA. Según los tejidos de la placenta y las amígdalas que expresan PD-L1, el fijador de tejidos recomendado es una solución de formalina tamponada neutra (NBF) al 10 % durante un tiempo de fijación de entre 6 y 72 horas⁸. Los fijadores aceptables para el uso con el VENTANA PD-L1 (SP263) son la formalina de zinc y los fijadores Z-5 cuando se utilizan con un tiempo de fijación mínimo de 6 horas. Otros fijadores, entre los que se incluyen el alcohol al 95 %, AFA y PREFER, no son aceptables para el uso con el VENTANA PD-L1 (SP263) Assay. La cantidad usada es de entre 15 y 20 veces el volumen de tejido. La fijación se puede realizar a temperatura ambiente (15 - 25 °C)⁹. Los portaobjetos deben teñirse inmediatamente, ya que la antigenicidad de las secciones de los cortes de tejido puede disminuir con el tiempo. Para más información sobre las variables de fijación, consulte "Immunohistochemistry Principles and Advances"¹⁰.

Se recomienda que los controles positivos y negativos se analicen simultáneamente con muestras desconocidas.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico *in vitro* (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. La solución ProClim 300 se utiliza como conservante en este reactivo. Está clasificada como irritante y puede ocasionar sensibilización por contacto con la piel. Adopte precauciones razonables cuando la manipule. Evite el contacto de reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Utilice ropa protectora y guantes.
4. Los materiales de origen animal o humano deben manejarse como materiales de peligro biológico y eliminarse con las precauciones adecuadas.
5. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante.
6. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a unos resultados incorrectos.
7. Consulte a las autoridades locales o nacionales sobre el método de eliminación recomendado.
8. Para obtener información de seguridad complementaria, consulte la hoja de datos de seguridad del producto y la guía de símbolos y peligros que encontrará en la página www.ventana.com.

PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN

Los anticuerpos primarios de VENTANA se han creado para su uso con los módulos de tinción de portaobjetos automatizados VENTANA BenchMark ULTRA, BenchMark XT y BenchMark GX junto con los kits de detección de VENTANA y sus accesorios. Consulte Tabla 1 para ver los protocolos de tinción recomendados.

Este anticuerpo se ha optimizado para periodos de incubación específicos, pero el usuario debe validar los resultados obtenidos con este reactivo.

Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el manual del usuario de los instrumentos. Consulte el

prospecto correspondiente del kit de detección de VENTANA para obtener más detalles sobre los procedimientos de tinción de inmunohistoquímica.

Tabla 1. Protocolo de tinción para VENTANA PD-L1 (SP263) junto con los instrumentos OptiView DAB IHC Detección Kit y BenchMark series.

Nombre del procedimiento:	ULTRA VENTANA PD-L1 (SP263) Assay XT VENTANA PD-L1 (SP263) Assay GX VENTANA PD-L1 (SP263) Assay
Paso del protocolo	Entrada de parámetros
Homeado	Opcional
Anticuerpo (Primario)	VENTANA PD-L1 (SP263) seleccionado o Control negativo seleccionado
Contratinción	Hematoxylin II, de 4 a 8 minutos (predeterminado a 4 minutos)

CONTROL DE TEJIDO POSITIVO

Un ejemplo de tejido de control positivo para este anticuerpo es tejido placentario humano, que muestra la tinción uniforme de moderada a fuerte de la membrana y una tinción uniorde de débil a fuerte del citoplasma de las células de linaje trofoblástico. La vasculatura y el tejido estromático placentario se pueden utilizar para la evaluación de una tinción de fondo.

INTERPRETACIÓN DE LAS TINCIONES/RESULTADOS PREVISTOS

El patrón de tinción para el VENTANA PD-L1 (SP263) es membranoso y citoplásmico en células tumorales. Las células inmunitarias manifiestan tinción membranaria lineal, citoplásmica difusa y/o punteada. Aunque se presente la tinción citoplásmica de células tumorales y células del sistema inmunitario, esta no se considerará positiva para los fines de clasificación.

Controles tisulares positivos/negativos de nivel del sistema

Los controles de tejido positivo y negativo teñidos deben examinarse para determinar que todos los reactivos funcionan adecuadamente. La presencia de un producto de reacción con un color adecuado en el tejido de NSCLC con un resultado positivo de PD-L1 en la tinción membranosa o citoplásmica de las células tumorales indica la reactividad positiva. Las células inmunitarias manifiestan tinción membranaria lineal, citoplásmica difusa y/o punteada.

Si los controles de tejidos positivos o negativos no muestran una tinción adecuada o muestran un cambio en la interpretación, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar no válidos.

Los criterios de evaluación del control tisular de la placenta se describen en la Tabla 2. Las imágenes representativas se facilitan en la Guía de Interpretación para el ensayo VENTANA PD-L1 (SP263) Assay de tinción del cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC) P/N 1015317ES.

Tabla 2. Criterios de evaluación del control tisular de la placenta para el VENTANA PD-L1 (SP263) Assay

Interpretación	Descripción de la tinción
Aceptable	Se percibe una tinción uniforme de la membrana de las células de linaje trofoblástico de moderada a fuerte. El estroma placentario y la vasculatura no presentan tinción.
No aceptable	La membrana de las células de linaje trofoblástico no presenta tinción. Se observa una tinción específica en el tejido estromático placentario y el vascular.

Control de reactivo negativo

Se percibe una tinción no específica, de estar presente, con un aspecto difuso y se puede evaluar mediante el portaobjetos Negative Reagent Control teñido con el Rabbit Monoclonal Negative Control Ig. Para la interpretación de la tinción, deben usarse las células intactas, ya que las células necróticas o degeneradas se tiñen de forma no específica. Si la tinción de fondo es excesiva, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar como no válidos.



Tejido del paciente

Es preciso evaluar el tejido del paciente de acuerdo con el algoritmo de puntuación del VENTANA PD-L1 (SP263) Assay que aparece en la Tabla 3. Consulte la Guía de interpretación para el ensayo VENTANA PD-L1 (SP263) Assay de tinción del cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC) P/N 1015317ES.

Se describe el algoritmo de puntuación para el VENTANA PD-L1 (SP263) Assay en la Tabla 3. Las imágenes representativas se facilitan en la Guía de Interpretación P/N 1015317ES.

Tabla 3. Algoritmo de puntuación del VENTANA PD-L1 (SP263) Assay.

Interpretación de PD-L1	Descripción de la tinción
≥1 %	≥1 % de células tumorales con positividad membranosa de PD-L1 con una intensidad superior a la tinción de fondo, tal y como indicó el control negativo correspondiente.
<1 %	<1 % de células tumorales con positividad membranosa de PD-L1 con una intensidad superior a la tinción de fondo, tal y como indicó el control negativo correspondiente.
≥5 %	≥5 % de células tumorales con positividad membranosa de PD-L1 con una intensidad superior a la tinción de fondo, tal y como indicó el control negativo correspondiente.
<5 %	<5 % de células tumorales con positividad membranosa de PD-L1 con una intensidad superior a la tinción de fondo, tal y como indicó el control negativo correspondiente.
≥10 %	≥10 % de células tumorales con positividad membranosa de PD-L1 con una intensidad superior a la tinción de fondo, tal y como indicó el control negativo correspondiente.
<10 %	<10 % de células tumorales con positividad membranosa de PD-L1 con una intensidad superior a la tinción de fondo, tal y como indicó el control negativo correspondiente.

LIMITACIONES ESPECÍFICAS

La prueba de isquemia fría del VENTANA PD-L1 (SP263) que usó un modelo de tejido de xenoinjerto no estableció condiciones de cemo a 24 horas que no fueran favorables para el ensayo.

Se deben realizar cortes de aproximadamente 4-5 µm de grosor y colocarse en portaobjetos de vidrio cargados positivamente. Se recomienda la tinción del tejido del paciente en un plazo de 12 meses después de la sección.

CARACTERÍSTICAS DE COMPORTAMIENTO

Se han realizado pruebas de especificidad de la tinción, sensibilidad, influencia del grosor del tejido, repetibilidad y precisión intermedia, así como pruebas para estudios de precisión del lector, reproducibilidad entre laboratorios y comparación de métodos. Los resultados se enumeran en las siguientes secciones.

Especificidad

Se tiñó una serie de muestras de tejidos normales con el VENTANA PD-L1 (SP263) Assay y se evaluó cualquier presencia de tinción de PD-L1, como se describe en la Tabla 4.

Tabla 4. Se ha determinado la especificidad del VENTANA PD-L1 (SP263) mediante pruebas en tejidos normales fijados en formol e incluidos en parafina.

Tejido	N.º de casos positivos / total	Tejido	N.º de casos positivos / total
Cerebro	0/3	Mielóide (médula ósea)	0/2
Cerebelo	0/3	Pulmón	3/5
Glándula suprarrenal	0/3	Corazón	0/3
Ovario	0/3	Esófago	0/3
Páncreas	0/3	Estómago	0/3
Hipófisis	0/3	Intestino delgado	1/3
Testículo	0/3	Colon	2/3
Tiroides	0/3	Hígado	0/3
Mama	0/3	Glándula salival	0/3
Bazo	3/3	Riñón	0/3
Amígdala	3/3	Próstata	0/3
Útero	0/3	Cuello del útero	0/3
Músculo esquelético	0/3	Piel	0/2
Nervio (disperso)	0/3	Ganglio linfático	3/3
Timo	3/3	Pericardio	0/1

Sensibilidad

Se ha probado la sensibilidad del VENTANA PD-L1 (SP263) Assay en 245 casos únicos de muestras FFPE de NSCLC (en fases de I a IV) mediante un lote de producción fabricada. La evaluación de la expresión de PD-L1 mostró tinción en un rango de tinción de células tumorales positivas de entre 0 y 100 %.

Se ha evaluado la tinción de las células tumorales de un conjunto de tejidos neoplásicos con el VENTANA PD-L1 (SP263) Assay según se describe en la Tabla 5.

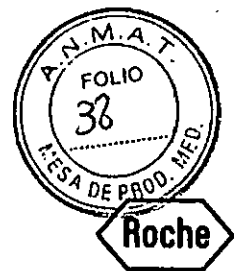
Tabla 5. La sensibilidad del VENTANA PD-L1 (SP263) se determinó analizando una variedad de tejidos neoplásicos fijados en formol e incluidos en parafina.

Patología	N.º de casos positivos / total
Glioblastoma	0/1
Meningioma atípico	0/1
Ependimoma maligno	0/1
Oligodendroglioma maligno	0/1
Adenocarcinoma seroso papilar	0/1
Adenocarcinoma de ovario	0/1
Carcinoma de células de los islotes	1/1
Adenocarcinoma pancreático	0/1
Seminoma	0/1
Carcinoma embrionario	0/1
Carcinoma medular	0/1

Firm. ROBERTA MELE MAZZA

PRODUCTOS ROCHE S.A. de C.V.
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA P/N-DNPM#ANMAT

CD - DIRECTORA TÉCNICA



Patología	N.º de casos positivos / total
Carcinoma papilar	1/1
Carcinoma intraductal de mama	0/1
Carcinoma ductal invasivo de mama	0/2
Linfoma difuso de linfocitos B	0/1
Carcinoma pulmonar no diferenciado de células pequeñas	1/1
Carcinoma pulmonar de células escamosas	1/1
Adenocarcinoma pulmonar	0/1
Carcinoma neuroendocrino esofágico	0/1
Adenocarcinoma esofágico	0/1
Carcinoma de células en anillo de sello gástrico	0/1
Adenocarcinoma gastrointestinal	0/1
Tumor del estroma gastrointestinal	0/1
Adenocarcinoma de colon	0/1
Intersticialoma de colon	0/1
Adenocarcinoma rectal	0/1
Intersticialoma rectal	0/1
Carcinoma hepatocelular	0/1
Hepatoblastoma	0/1
Carcinoma renal de células claras	0/1
Adenocarcinoma de próstata	0/2
Carcinoma prostático de células transicionales	0/1
Leiomioma	0/1
Adenocarcinoma endometrial	0/1
Carcinoma de células claras endometriales	0/1
Carcinoma uterino de células escamosas	0/2
Rabdomiocarcinoma embrionario	0/1
Melanoma rectal maligno	0/1
Carcinoma de células basales	0/1
Carcinoma de células escamosas	0/1
Neurofibroma	0/1
Neuroblastoma de retroperitoneo	0/1
Mesotelioma maligno (cavidad abdominal)	0/1
Linfoma difuso de linfocitos B (mediastino)	0/1
Linfoma de Hodgkin	1/1
Linfoma difuso de linfocitos B (ganglio linfático)	0/1
Linfoma anaplásico de células grandes (cavidad pélvica)	0/1

Patología	N.º de casos positivos / total
Leiomiocarcinoma de grado bajo	0/1
Osteosarcoma	0/1
Rabdomiocarcinoma de células fusiformes (retroperitoneo)	0/1
Leiomiocarcinoma de grado intermedio (músculo liso)	0/1
Carcinoma de células transicionales (vejiga)	0/1

Grosor del tejido

Se ha evaluado el grosor del tejido a través de 6 casos únicos de NSCLC humano (con resultados de PD-L1 positivos en 5 de ellos y negativos en 1). Se sectionaron y probaron los tejidos por duplicado en 3, 4, 5, 6 y 7 micras. Todos los grosores del tejido mostraron una tinción específica adecuada para PD-L1 y unos niveles de fondo adecuados con el VENTANA PD-L1 (SP263) Assay. Ventana recomienda cortar las muestras en porciones de entre 4 y 6 micras para el ensayo.

Estudios de repetibilidad y precisión Intermedia

Se ha evaluado la repetibilidad y precisión Intermedia del VENTANA PD-L1 (SP263) Assay en el instrumento BenchMark ULTRA en combinación con el OpView DAB Detection Kit mediante la tinción de 24 casos únicos de NSCLC humano y 8 casos únicos de placenta humana. Se han llevado a cabo tres estudios de precisión: una evaluación de la precisión del NSCLC en dos niveles de expresión de PD-L1 y otra de la placenta.

Se ha evaluado la repetibilidad Intradía y la precisión Intermedia Interdía del VENTANA PD-L1 (SP263) Assay en el instrumento BenchMark ULTRA en combinación con el OpView DAB Detection Kit mediante la tinción de 24 casos únicos de NSCLC humano. Para evaluar la repetibilidad Intradía, se hicieron 5 portaobjetos duplicados de cada muestra de NSCLC en un único instrumento BenchMark ULTRA. Para evaluar la precisión Interdía, se hicieron 2 portaobjetos duplicados de cada muestra de NSCLC con el VENTANA PD-L1 (SP263) Assay en un único instrumento BenchMark ULTRA a lo largo de 5 días no consecutivos en un periodo de, al menos, 20 días. Para probar la precisión Intraplatadoma, se hicieron 18 casos de muestras de NSCLC con el VENTANA PD-L1 (SP263) Assay en tres instrumentos de tinción automatizados BenchMark ULTRA. Todos los portaobjetos se enmascararon, aleatorizaron y evaluaron a través del algoritmo de puntuación del VENTANA PD-L1 (SP263) Assay que figura en la Tabla 3. En la Tabla 6 se resumen los resultados.

También se evaluó la repetibilidad y precisión Intermedia de la tinción del VENTANA PD-L1 (SP263) Assay en placenta humana (control de nivel del sistema). Se han empleado 8 muestras de tejidos de placenta humana para este estudio. Para evaluar la precisión Intradía, se hicieron 5 portaobjetos duplicados de 8 muestras de placenta con un único instrumento BenchMark ULTRA. Para evaluar la precisión Interinstrumento, se hicieron 2 portaobjetos duplicados de 8 muestras de placenta con el VENTANA PD-L1 (SP263) Assay en tres instrumentos de tinción automatizados BenchMark ULTRA. Para evaluar la precisión Interdía, se hicieron 2 portaobjetos duplicados de 8 muestras de placenta con el VENTANA PD-L1 (SP263) Assay en un único instrumento BenchMark ULTRA a lo largo de 5 días no consecutivos. Todos los portaobjetos se evaluaron a través de la guía de puntuación del control tisular de la placenta del VENTANA PD-L1 (SP263) Assay que figura en la Tabla 2. Cada una de las muestras de placenta duplicadas arrojó resultados de tinción IHC para PD-L1 equivalentes. El índice de concordancia global para la reproducibilidad Intradía, Interdía e Interinstrumento fue del 100 %.



Tabla 6. Estudio de repetibilidad y precisión intermedia del VENTANA PD-L1 (SP263) Assay en muestras individuales de NSCLC.

Nivel de expresión de PD-L1		≥1 % de expresión	≥5 % de expresión	≥10 % de expresión
Repetibilidad y precisión de tejidos de NSCLC	n = total de portaobjetos evaluados en la cohorte	Concordancia porcentual global (IC del 95 %)	Concordancia porcentual global (IC del 95 %)	Concordancia porcentual global (IC del 95 %)
Repetibilidad intradía (en un solo día)	120	100,0 % (96,9-100,0)	99,1 % (95,4-99,8)	98,3 % (94,1-99,5)
Precisión intermedia (5 días no consecutivos)	240	100,0 % (98,4-100,0)	97,9 % (95,2-99,1)	98,8 % (96,4-99,6)
Precisión interinstrumento (en 3 instrumentos)	648	100 % (99,4-100,0)	96,5 % (94,7-97,6)	95,2 % (93,3-96,6)

Reproducibilidad de lote a lote

Se ha determinado la reproducibilidad de lote a lote del VENTANA PD-L1 (SP263) Assay mediante la prueba de tres lotes de dicho ensayo en 24 casos únicos de NSCLC en el instrumento BenchMark ULTRA con el OptiView DAB IHC Detección. Se tuvieron todos los casos con cada uno de los tres lotes de anticuerpo primario. Los portaobjetos se enmascararon y aleatorizaron antes de evaluar la expresión de PD-L1, según indica el algoritmo de puntuación del VENTANA PD-L1 (SP263) Assay que figura en la Tabla 3. Los resultados se muestran en la Tabla 7 en forma de índices de concordancia porcentual global, concordancia porcentual positiva y concordancia porcentual negativa para cada nivel de expresión.

Tabla 7. Índices de concordancia de reproducibilidad de lote a lote en 24 muestras de tejido de NSCLC.

Índices de concordancia de reproducibilidad de lote a lote	Concordancia porcentual positiva (IC del 95 %)	Concordancia porcentual negativa (IC del 95 %)	Concordancia porcentual global (IC del 95 %)
Promedio de las tres comparaciones de lote a lote ≥1 % de expresión	100 % (99,0-100,0)	100 % (98,6-100,0)	100 % (99,4-100,0)
Promedio de las tres comparaciones de lote a lote ≥5 % de expresión	94,4 % (91,4-96,5)	98,5 % (96,4-99,3)	96,5 % (94,7-97,6)
Promedio de las tres comparaciones de lote a lote ≥10 % de expresión	97,5 % (94,7-99,9)	93,8 % (91,0-95,8)	95,2 % (93,3-96,6)

También se ha evaluado la reproducibilidad de lote a lote del VENTANA PD-L1 (SP263) Assay mediante 12 muestras de tejido únicas de placenta humana. Se ha determinado la reproducibilidad mediante la prueba de tres lotes de anticuerpos en combinación con tres lotes de OptiView DAB IHC Detección en tres módulos de tinción de portaobjetos automatizados BenchMark ULTRA. El índice de concordancia global para elementos de la placenta de tinción positiva y negativa adecuada mediante el VENTANA PD-L1 (SP263) Assay fue del 100 %.

Estudios de precisión Interlector e Intralector

Para evaluar la precisión Interlector e Intralector, tres patólogos evaluaron un total de 114 casos únicos. Los casos se enmascararon y aleatorizaron antes de evaluar la tinción IHC de PD-H1 conforme al algoritmo de puntuación del VENTANA PD-L1 (SP263) Assay que figura en la Tabla 3. Los resultados que aparecen en la Tabla 8 reflejan los índices de precisión interlector e intralector para casos únicos de la cohorte del estudio.

Tabla 8. Resumen del estudio de precisión Interlector e Intralector.

Precisión del lector	Concordancia positiva media (IC del 95 %)	Concordancia negativa media (IC del 95 %)	Concordancia porcentual global (IC del 95 %)
Promedio de la precisión interlector en los tres lectores (n = 340 observaciones) ≥1 % de expresión	94,3 % (90,5-97,4)	92,6 % (87,8-96,5)	93,5 % (89,9-97,1)
Promedio de la precisión interlector en los tres lectores (n = 340 observaciones) ≥5 % de expresión	94,7 % (90,7-97,8)	94,7 % (90,6-97,7)	94,7 % (91,1-97,7)
Promedio de la precisión interlector en los tres lectores (n = 340 observaciones) ≥10 % de expresión	93,0 % (88,4-96,6)	94,0 % (90,0-97,1)	93,5 % (89,5-97,0)
Promedio de la precisión intralector de los tres lectores (n = 340 observaciones) ≥1 % de expresión	96,7 % (94,7-98,3)	95,6 % (92,9-97,8)	96,2 % (94,1-98,0)
Promedio de la precisión intralector de los tres lectores (n = 340 observaciones) ≥5 % de expresión	95,8 % (92,7-98,2)	96,0 % (93,2-98,3)	95,9 % (93,3-98,2)
Promedio de la precisión intralector de los tres lectores (n = 340 observaciones) ≥10 % de expresión	97,7 % (95,9-99,2)	98,1 % (96,4-99,4)	97,9 % (96,2-99,4)

Estudio de reproducibilidad interlaboratorio

Se ha llevado a cabo un estudio de la reproducibilidad interlaboratorio del VENTANA PD-L1 (SP263) Assay con el objetivo de demostrar la reproducibilidad del ensayo mediante la identificación de la expresión de PD-L1 en casos de NSCLC. Para ello, se han usado 28 muestras de tejido a lo largo de 5 días no consecutivos durante un periodo de más de 20 días en tres laboratorios externos. Las muestras se enmascararon, aleatorizaron y evaluaron a través de un total de 6 lectores (2 lectores/centro). Consulte la Tabla 9 para ver los resultados.

Farm. ROBERTA MELE MAZZA
PRODUCTOS ROCHE S.A. e. l.
UBICACIÓN: 01060990A-APN-DNPM#ANMAT
CO - DIRECTORA TÉCNICA



Tabla 9. Reproducibilidad interlaboratorio: Índices de concordancia del VENTANA PD-L1 (SP263) Assay (n = número de portaobjetos evaluados).

Índices de concordancia de la reproducibilidad interlaboratorio (expresión de PD-L1)	Dako PD-L1 IHC 28-8 pharmDx		
	Porcentaje de concordancia positiva (IC del 95 %)	Porcentaje de concordancia negativa (IC del 95 %)	Porcentaje de concordancia global (IC del 95 %)
En todas las observaciones (n = 682 observaciones) ≥ 1 % de expresión	94,0 % (91,3-95,9)	89,8 % (85,5-92,9)	92,4 % (90,1-94,1)
En todas las observaciones (n = 712 observaciones) ≥ 5 % de expresión	94,7 % (91,9-96,6)	94,9 % (92,1-96,9)	94,8 % (92,9-96,2)
En todas las observaciones (n = 770 observaciones) ≥ 10 % de expresión	95,4 % (92,6-97,2)	96,8 % (94,8-98,1)	96,2 % (94,6-97,4)

≥ 10 % de expresión del ensayo	Dako PD-L1 IHC 28-8 pharmDx		
VENTANA PD-L1 (SP263)	Positivo	Negativo	Total
Positivo	192	17	209
Negativo	19	272	291
Total	211	289	500
	n/N	% (IC del 95 %)	
Concordancia porcentual positiva	192/211	91,0 (86,4-94,2)	
Concordancia porcentual negativa	272/289	94,1 (90,8-96,3)	
Concordancia porcentual global	464/500	92,8 (90,2-94,8)	

ESTUDIO COMPARATIVO DE MÉTODOS

En el estudio comparativo de métodos, se han usado aproximadamente 500 muestras compradas de biopsias de NSCLC anonimizadas y desvinculadas de la información sobre los pacientes. Se ha comparado el rendimiento de su tinción en el VENTANA PD-L1 (SP263) Assay en el Benchmark ULTRA con la del DAKO PD-L1 IHC 28-8 pharmDx en el Autostainer Link 48. El estudio incluyó casos de PD-L1 que representaban un rango dinámico de la expresión de PD-L1. Se tincieron todos los casos mediante ambos métodos en un único laboratorio central. Un patólogo formado en los ensayos VENTANA y DAKO PD-L1 evaluó los portaobjetos teñidos y les asignó una expresión de PD-L1. En el estudio participó un patólogo.

El criterio de valoración primario fue una estimación de punto del 85 % o mayor para la concordancia porcentual positiva, la concordancia porcentual negativa y la concordancia porcentual global, empleando el ensayo DAKO como comparador.

Tabla 10. Comparación de métodos: Índices de concordancia de VENTANA PD-L1 (SP263) Assay (n = número de portaobjetos evaluados).

≥ 1 % de expresión del ensayo	Dako PD-L1 IHC 28-8 pharmDx		
VENTANA PD-L1 (SP263)	Positivo	Negativo	Total
Positivo	264	13	277
Negativo	29	194	223
Total	293	207	500
	n/N	% (IC del 95 %)	
Concordancia porcentual positiva	264/293	90,1 (86,1-93,0)	
Concordancia porcentual negativa	194/207	93,7 (89,6-96,3)	
Concordancia porcentual global	458/500	91,6 (88,8-93,7)	
≥ 5 % de expresión del ensayo	Dako PD-L1 IHC 28-8 pharmDx		
VENTANA PD-L1 (SP263)	Positivo	Negativo	Total
Positivo	225	9	234
Negativo	21	245	266
Total	246	254	500
	n/N	% (IC del 95 %)	
Concordancia porcentual positiva	225/246	91,5 (87,3-94,3)	
Concordancia porcentual negativa	245/254	96,5 (93,4-98,1)	
Concordancia porcentual global	470/500	94,0 (91,6-95,8)	

ESTUDIO DE LOS RESULTADOS CLÍNICOS

Se ha evaluado la utilidad clínica en CA209057, un estudio de Fase 3 aleatorizado y abierto que compara el nivolumab con el docetaxel en pacientes adultos (≥ 18 años) con NSCLC de células no escamosas avanzado o metastásico tras el fallo del tratamiento anterior, consistente en una quimioterapia combinada a base de platino.¹¹ Los pacientes se aleatorizaron y estratificaron a razón de 1:1, según: 1) el uso previo de terapia de mantenimiento en comparación con la ausencia de terapia de mantenimiento y 2) terapia de segunda línea frente a terapia de tercera línea. Se tomaron las muestras de tejido tumoral previas al estudio (inicio) antes de la aleatorización y del primer tratamiento con el objetivo de realizar los análisis de eficacia planeados previamente conforme a los niveles de expresión de PD-L1 iniciales predefinidos (objetivo secundario). El criterio de valoración primario fue la supervivencia general. Otros criterios de valoración secundarios fueron el índice de respuesta objetiva, la supervivencia libre de progresión y la mejora de los síntomas relacionados con la enfermedad en 12 semanas, de acuerdo con la escala de síntomas del cáncer de pulmón.

En términos iniciales, las características demográficas y patológicas iniciales se equilibraron entre los pacientes aleatorizados y asignados a los grupos de nivolumab y docetaxel. La edad media era de 62 años (entre 21 y 85) con un 34 % mayores de 65 años y un 7 % con una edad superior a los 75 años. La mayoría de los pacientes eran de origen caucásico (92 %) y varones (55 %), y el valor inicial de la escala ECOG era de 0 (31 %) o 1 (69 %). El 79 % de los pacientes eran fumadores o exfumadores.

Los pacientes con una expresión de PD-L1 determinada por el DAKO PD-L1 IHC 28-8 pharmDx conforme a todos los niveles de expresión predefinidos en el grupo OPDIVO® mostraron un mejor índice de supervivencia en comparación con aquellos tratados con docetaxel. No obstante, se observaron niveles de supervivencia similares a los del docetaxel en pacientes sin expresión de PD-L1. Se han observado diferencias significativas en la supervivencia general media del nivolumab en comparación con los subgrupos de docetaxel al analizarlos según el nivel de expresión de PD-L1. La supervivencia general media fue de 17,1, 18,2 y 19,4 meses para los pacientes tratados con nivolumab en comparación con los 9,0, 8,1 y 8,0 meses de aquellos a los que se les suministró docetaxel con niveles de expresión de PD-L1 de ≥ 1 %, ≥ 5 % y ≥ 10 %, respectivamente. No se detectaron diferencias en la supervivencia general de los grupos de pacientes con niveles de expresión inferiores al 1 %, al 5 % y al 10 %, ya que la supervivencia general media oscila entre 9,7 y 10,4 meses para el nivolumab y entre 10,1 y 10,3 meses para el docetaxel. Los índices de riesgo no estratificados y la supervivencia general media se muestran en la Figura 1. El gráfico de Kaplan-Meier para los subgrupos por nivel de expresión de PD-L1 se muestra en la Figura 2 y la Figura 3.

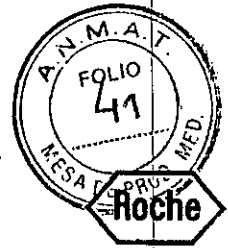
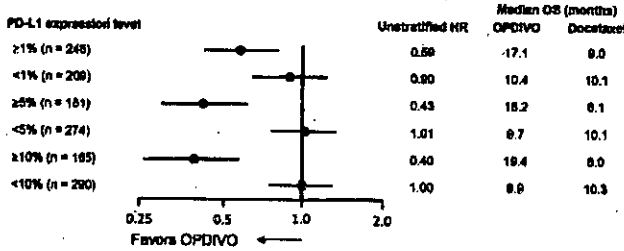
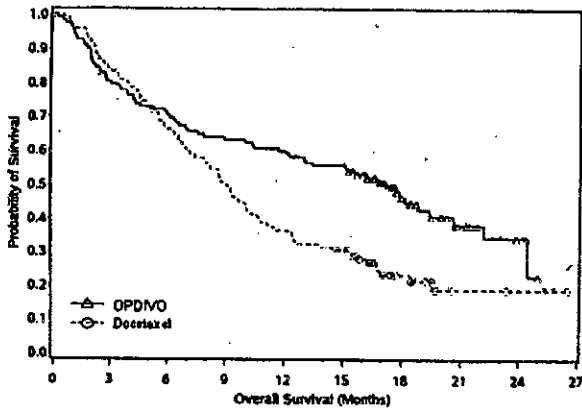


Figura 1. Gráfico de Forest: supervivencia general según la expresión de PD-L1 en pacientes con NSCLC de células no escamosas (CA209057).



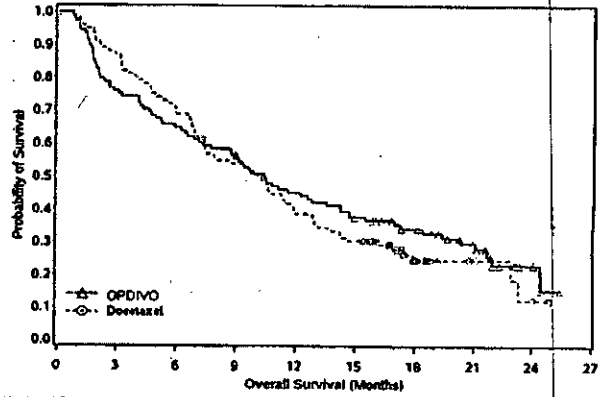
Nota: el índice de riesgo no estratificado y el IC del 95 % correspondiente se estimaron con un modelo de riesgo proporcional de Cox considerando el grupo aleatorizado como una sola covariable.

Figura 2. Supervivencia general: pacientes con ≥1 % de expresión de PD-L1 (CA209057).



Number at Risk	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27
OPDIVO	123	98	86	77	73	65	27	13	5	0
Docetaxel	123	102	90	61	44	36	13	4	3	0

Figura 3. Supervivencia general: pacientes con NSCLC de células no escamosas con <1 % de expresión de PD-L1 (CA209057).



Number at Risk	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27
OPDIVO	108	82	70	60	48	39	26	17	4	0
Docetaxel	101	87	69	53	38	30	13	5	2	0

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Las directrices para la resolución de problemas se muestran en la Tabla 11. En caso de que algún problema no pueda atribuirse a ninguna de estas causas o la acción correctiva sugerida no consiga resolver el problema, diríjase a su representante de asistencia local.

Tabla 11. Directrices para la resolución de problemas del VENTANA PD-L1 (SP263) Assay.

Problema	Possible causa	Acción recomendada
Tinción inapreciable o inexistente de los portaobjetos	Selección del protocolo de tinción incorrecto	Comprobar si se ha utilizado el procedimiento de tinción recomendado.
		Verificar que se ha seleccionado VENTANA PD-L1 (SP263) como el anticuerpo primario.
	Degradación del tejido	Comprobar si se ha teñido el tejido en el intervalo recomendado tras la sección.
	Fallo del dispensador	Verificar que se ha retirado la tapa de la boquilla. Asegurarse de que el dispensador está lleno. Comprobar que no hay partículas ni cuerpos extraños, como fibras o precipitados, en la cámara de cebado. Consultar el prospecto del paquete del dispensador en línea que encontrará en P/N 740-4907, disponible en www.ventana.com . Asegurarse de utilizar únicamente los fijadores y tiempos de fijación recomendados.
Fijador de fluidos incorrecto o inexistente	Asegurarse de llenar correctamente los reactivos de fluidos.	

Firma: ROBERTA MELE MAZZA
 PRODUCTORA ROCHE S.A. APN-DNPM#ANMAT
 DIVISION UMBRISTICA
 SO - DIRECTORA TÉCNICA

Problema	Posible causa	Acción recomendada
Tinción de fondo de los portaobjetos excesiva	Selección del protocolo de tinción incorrecto	Comprobar si se ha utilizado el procedimiento de tinción recomendado.
	Fijador de fluidos incorrecto o inexistente	Asegurarse de llenar correctamente los reactivos de fluidos.
	Método de fijación inadecuado	Asegurarse de utilizar únicamente los fijadores y tiempos de fijación recomendados.
Tejido separado de los portaobjetos	Uso de los portaobjetos para microscopio incorrectos	Asegurarse de que los portaobjetos para microscopio tienen carga positiva.

REFERENCIAS

- Fertay 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.
- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer Statistics, 2013. *CA Cancer J Clin*. 2013;63(1):11-30.
- Howlander 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.
- 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):1365-9
- Latchman Y, Wood CR, Chernova T, et al. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol*. 2001;2(3):261-268.
- 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):739-45.
- 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):111-22.
- Sheehan DC, Hrapchak BB. *Theory and practice of Histotechnology*, 2nd edition. St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1980.
- Carson F, Hladik C. *Histotechnology: A Self Instructional Text*, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
- Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
- 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.

PROPIEDAD INTELECTUAL

BENCHMARK, OPTVIEW, VENTANA y el logotipo de VENTANA son marcas comerciales de Roche.

El resto de marcas comerciales es propiedad de sus respectivos propietarios.

© 2016 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMACIÓN DE CONTACTO


Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

 www.ventana.com

2016-06-30
FT0700-4101

8 / 8

1014258ES Rev B

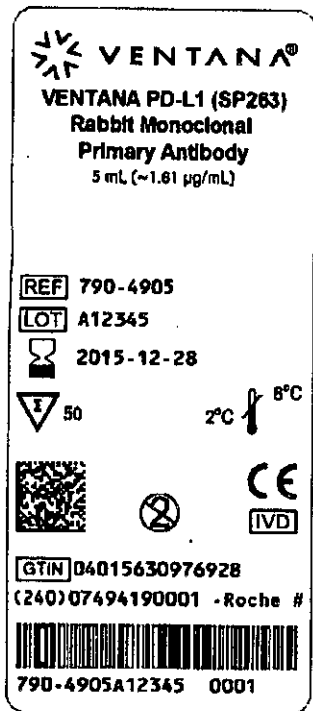
Farm. ROBERTA MELE MAZZA
PRODUCTOS ROCHE S.A. Q. e. l.
IF-2015-04-010087-CA-PN-DNPM#ANMAT
CO-DIRECTORA TÉCNICA

PROYECTO DE ROTULO

Refollado N° 194
Direc. de Productos Médicos
A.N.M.A.T. FOLIO 127
D.V. C. PROD. MED.

• 7494190 - VENTANA PD-L1 (SP263) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

Rótulos externos:



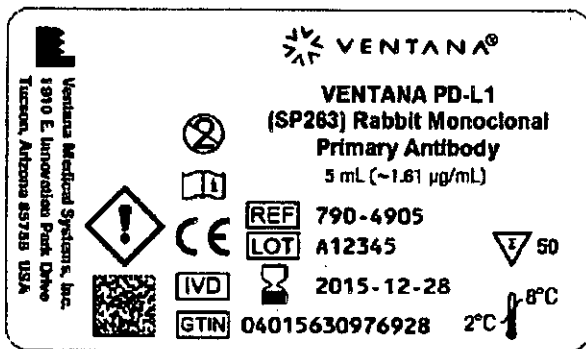
Sobre-rótulo externo colocado locamente

Directora Técnica: Farm. Vanesa Diambra – Farmacéutica
Autorizado por la A.N.M.A.T. CERT. XXXX

Productos Roche S.A.Q. e I. (División Diagnóstica).
Otto Krause 4211, Tortuguitas,
Malvinas Argentinas, Pcia. de Buenos Aires
República Argentina

Uso profesional exclusivo

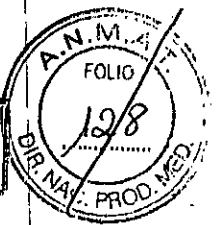
Rótulos internos:



Farm. ROBERTA MELI MAZZA
II-2017-27862905-1-A-6-DNPM#ANMAT
PRODUCTOS S.A.Q.
DIVISION DIAGNOSTICA
CO-DT & APCDEFADN LEGAL
página 17 de 23

- 7011571 - Ventana PD-L1 (SP142) IHC Assay

Refollado N° 160
 Direc. de Productos Médicos



Rótulos externos:

VENTANA®
VENTANA PD-L1 (SP142)
IHC Assay
 5 mL (~7 µg/mL)

REF 790-4860
LOT A12345
 2015-12-28

50 2°C 8°C

CE
IVD

GTIN 04015630976591
 (240)07011571001 - Roche #

790-4860A12345 0001

Sobre-rótulo externo colocado locamente

Directora Técnica: Farm. Vanesa Diambra – Farmacéutica
 Autorizado por la A.N.M.A.T. CERT. XXXX

Productos Roche S.A.Q. e I. (División Diagnóstica),
 Otto Krause 4211, Tortuguitas,
 Malvinas Argentinas, Pcia. de Buenos Aires
 República Argentina

Uso profesional exclusivo

Rótulos internos:

VENTANA®
VENTANA PD-L1 (SP142)
IHC Assay
 5 mL (~7 µg/mL)

REF 790-4860
LOT A12345
 2015-12-28

50 2°C 8°C

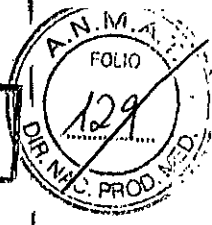
CE
IVD

GTIN 04015630976591

Ventana Medical Systems, Inc.
 1810 E. Inverness Park Drive
 Tucson, Arizona 85738 USA

Farm. ROBERTA MELP MAZZA
 PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I.
 DIVISION DIAGNOSTICA
 CO. DT & APOI. ERADA LEGAL

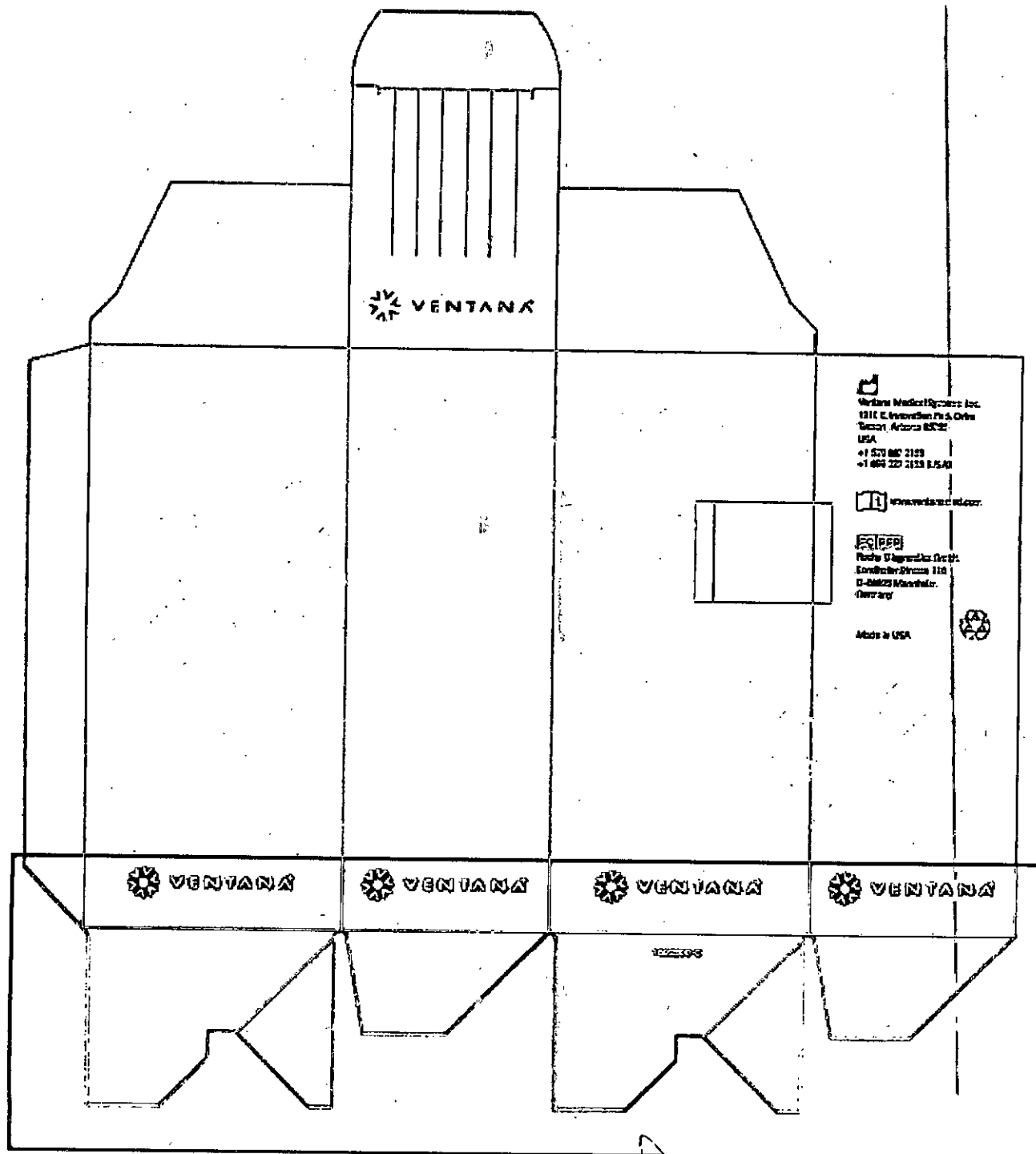
Refoliado N° 161
Direc. de Productos Médicos



Empaque secundario:

Caja contenedora para dispensador de los productos de Diagnóstico "In Vitro":

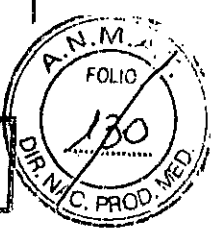
- 7011571 - Ventana PD-L1 (SP142) IHC Assay
- 7494190 - VENTANA PD-L1 (SP263) Rabbit Monoclonal Primary Antibody




CB

Farm. ROBERTA MISLE MAZZA
PROJ. 7-24862095 - A.P.N. DNPM#ANMAT
DIVISION DIAGNOSTICA
CO-DE & ARODERADA LEGAL


Refollado N° 162
Direc. de Productos Médicos



Extracto de la imagen ampliada:




Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)



www.ventanamed.com

EC REP
Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

Made in USA 

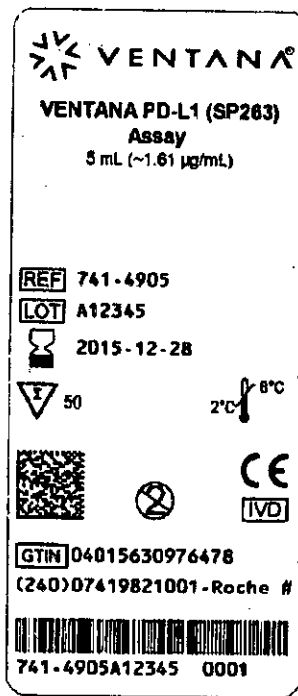
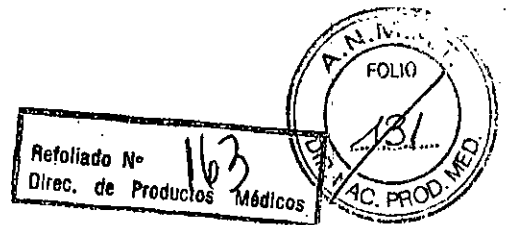


8

IF-2057-22786-2005-ANMAT
COPIA DE PRODUCTO MEDICO
DIVISION DIAGNOSTICA
CO-DT & APODERADA LEGAL
página 20 de 23

• 7419821 - VENTANA PD-L1 (SP263) Assay CE IVD

Rotulo externo:



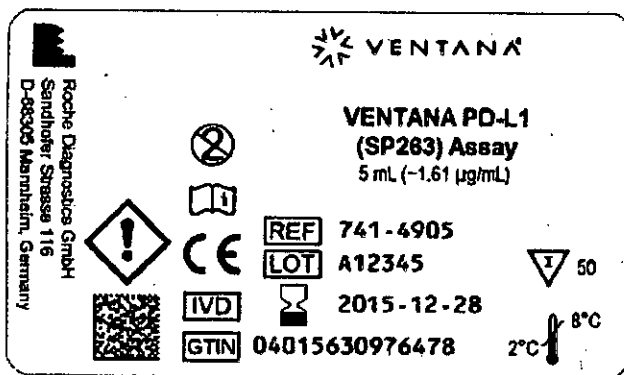
Sobre-rótulo externo Local

Directora Técnica: Farm. Vanesa Diambra – Farmacéutica
Autorizado por la A.N.M.A.T. CERT. XXXX

Productos Roche S.A.Q. e I. (División Diagnóstica).
Otto Krause 4211, Tortuguitas,
Malvinas Argentinas, Pcia. de Buenos Aires
República Argentina

Uso profesional exclusivo

Rotulo interno:



Farm. ROBERTA MELE MAZZA
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I.
DIVISION DIAGNOSTICA
CO-DI. Y APODERADA LEGAL

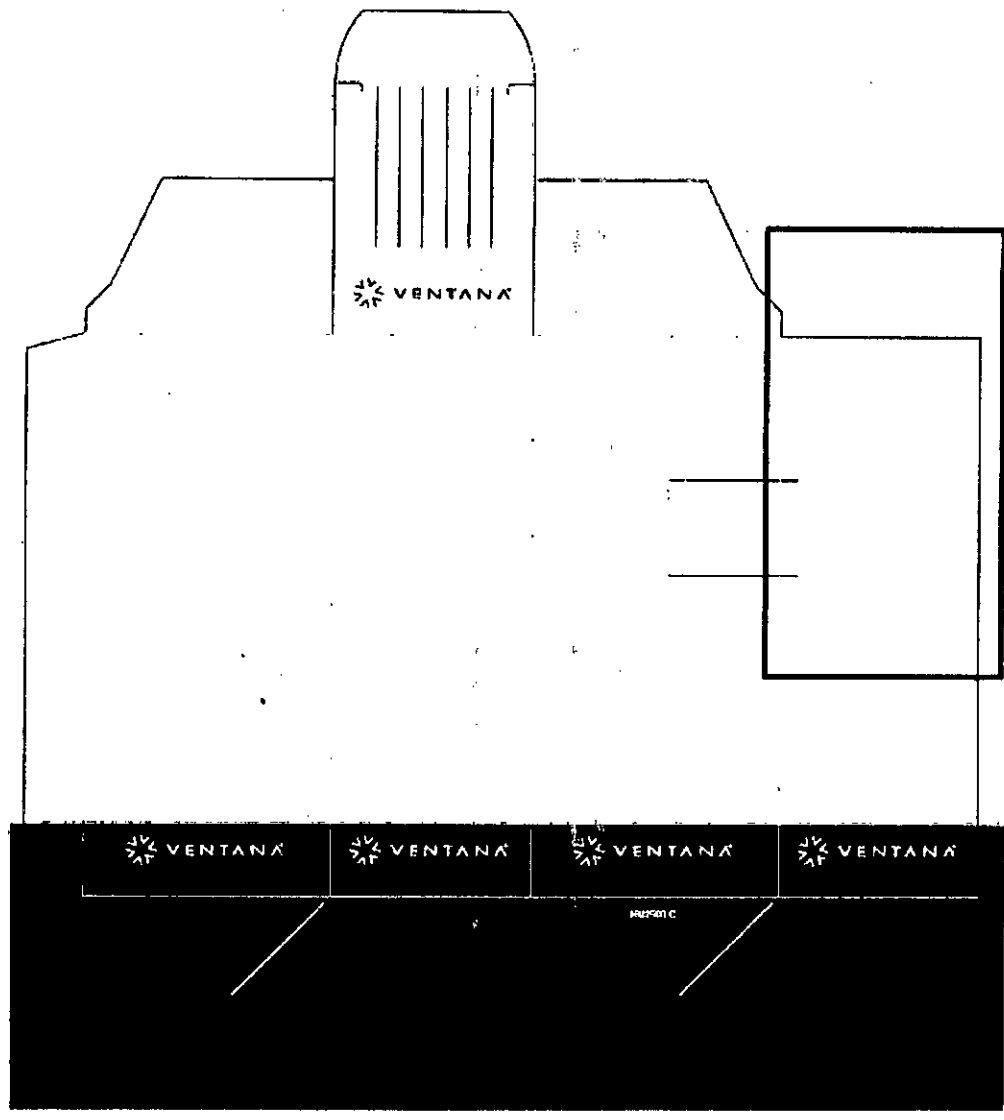
Refoliado N° 164
Dirac. de Productos Médicos



Empaque secundario:

Caja contenedora para dispensador de los productos de Diagnóstico "In Vitro":

- 7419821 - VENTANA PD-L1 (SP263) Assay CE IVD



Nota: En rojo se indica el sector donde se volcará la información del Fabricante con un sticker adhesivo.

186

FAFR. ROBERTA MELE MAZZA
PRODUCTOS ROCHE S.A. del
DIVISION DIAGNOSTICA
CO-RT & APODERADA LEGAL

IF-2017-24862995-APN-DNPM#ANMAT

Refollado N° 165
Direc. de Productos Médicos

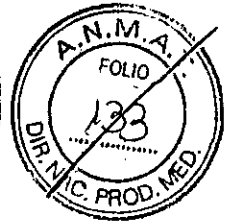
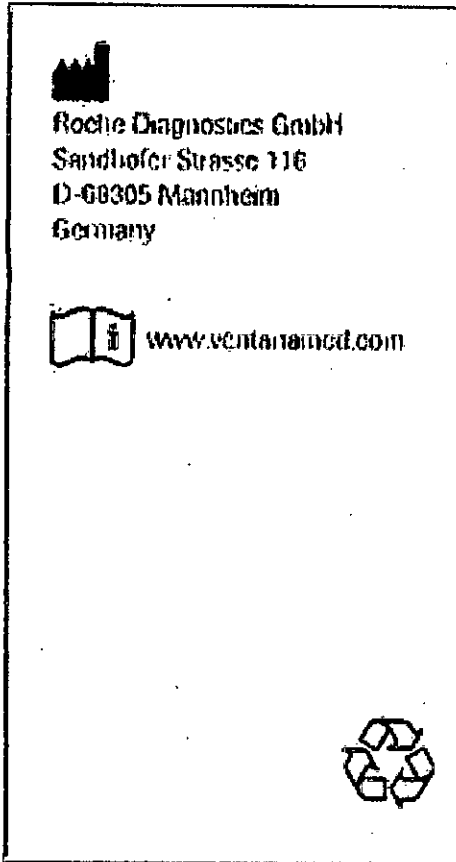


Imagen del sticker colocado en origen:



Farm. ROBERTA MELE MAZZA
PRODUCTOS ROCHE S.A. Q.e.l.
DIVISION DIAGNOSTICA
CO-OT & APODERADA LEGAL

IF-2017-24862995-APN-DNPM#ANMAT



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2017 - Año de las Energías Renovables

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número: IF-2017-24862995-APN-DNPM#ANMAT

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Viernes 20 de Octubre de 2017

Referencia: 1-47-3110-5827-16-2

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 23 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR, o=MINISTERIO DE MODERNIZACION,
ou=SECRETARIA DE MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT 30715117564
Date: 2017.10.20 15:25:22 -03'00'

Mariano Pablo Manenti
Jefe I
Dirección Nacional de Productos Médicos
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología
Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA -
GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR,
o=MINISTERIO DE MODERNIZACION, ou=SECRETARIA DE
MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT
30715117564
Date: 2017.10.20 15:25:23 -03'00'



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas,
Regulación e Institutos
A.N. M. A.T

CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN DE VENTA DE
PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO

Expediente nº 1-47-3110-5827/16-2

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por la firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica), se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de nuevos productos para diagnóstico de uso in vitro con los siguientes datos característicos:

Nombre comercial: **1) VENTANA PD-L1 (SP263) Rabbit Monoclonal Primary Antibody; 2) VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay; y 3) VENTANA PD-L1 (SP263) Assay CE IVD.**

Indicación de uso: Ensayos inmunohistoquímicos que utilizan anticuerpo primario monoclonal de conejo producido contra PD-L1 (B7-H1, CD274), que reconocen una glucoproteína unida a la membrana, en tejidos fijados con formalina y embebidos en parafina, produciendo tinción membranosa y/o citoplasmática.

Forma de presentación: 1), 2) y 3) Envases por 50 determinaciones, conteniendo un dispensador por 5 mL.

Período de vida útil y condición de conservación: 24 (VEINTICUATRO) meses desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8°C.


Nombre y dirección del fabricante: 1) Y 2) Ventana Medical Systems, Inc. 1910 E. Innovation Park Drive, Tucson, Arizona 85755 (USA); y 3) Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim (ALEMANIA)

✓

Condición de Venta/Categoría: Venta a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO PM-740-565

Disposición N° **11417 08 NOV 2017**


DR. ROBERTO LERE
Subadministrador Nacional