



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Disposición

Número:

Referencia: EX-2022-27721084-APN-DGA#ANMAT

VISTO el expediente N° EX-2022-27721084-APN-DGA#ANMAT del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma **ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.** solicita autorización para la venta de los Productos médicos para diagnóstico *in vitro* denominados: **1) PD-L1 IHC 22C3 pharmDx; 2) PD-L1 IHC 28-8 pharmDx.**

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

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que el Instituto Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia y corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM de los productos médicos para diagnóstico *in vitro* objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por el Decreto N° 1490/92 y sus modificatorios.

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 de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) de los productos médicos para diagnóstico *in vitro*: **1) PD-L1 IHC 22C3 pharmDx; 2) PD-L1 IHC 28-8 pharmDx** de acuerdo con lo solicitado por ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A., con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulos y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2022-58379045-APN-DGA#ANMAT.

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda “Autorizado por la ANMAT PM 2357-19”, con exclusión de toda otra leyenda no autorizada y/o 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. Inscríbese en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica a los nuevos productos. 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 el 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) PD-L1 IHC 22C3 pharmDx; 2) PD-L1 IHC 28-8 pharmDx.

MODELO: 1) SK006; 2) SK005.

INDICACIÓN DE USO: 1) PD-L1 IHC 22C3 pharmDx es un ensayo inmunohistoquímico (IHC) cualitativo que utiliza Monoclonal Mouse Anti-PD-L1, Clone 22C3, indicado para su uso en la detección de la proteína PD-L1 en tejidos de cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica, de carcinoma de células escamosas de esófago (ESCC), de cáncer cervical, de carcinoma urotelial, de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) y de cáncer de mama triple negativo (TNBC) fijados con formol e incluidos en parafina (FFPE) mediante el sistema de visualización EnVision FLEX en Autostainer Link 48; 2) PD-L1 IHC 28-8 pharmDx es un ensayo inmunohistoquímico cualitativo que utiliza Monoclonal Rabbit Anti-PD-L1, Clone 28-8 indicado para el uso en la detección de la proteína PD-L1 en tejidos de melanoma y cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) fijados con formol e incluidos en parafina (FFPE) mediante el sistema de visualización EnVision FLEX en Autostainer Link 48.

FORMA DE PRESENTACIÓN: 1) Envases por 50 determinaciones conteniendo: Peroxidase-Blocking Reagent (1 vial x 34,5 ml), Monoclonal Mouse Anti-PD-L1 clone 22C3 (1 vial x 19,5 ml), Negative control Reagent (1 vial x 15 ml), LINKER Anti-Mouse (1 vial x 34,5 ml), Visualization Reagent-HRP (1 vial x 34,5 ml), DAB+ Substrate Buffer (15 viales x 7,2 ml), DAB+ Chromogen (1 vial x 5 ml), DAB Enhancer (1 vial x 34,5 ml), EnVision FLEX Target Retrieval Solution Low pH (50x) (6 viales x 30 ml) y 15 Control Slides PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. 2) Envases por 50 determinaciones conteniendo: Peroxidase-Blocking Reagent (1 vial x 34,5 ml), Monoclonal Rabbit Anti-PD-L1 clone 28-8 (1 vial x 19,5 ml), Negative control Reagent (1 vial x 15 ml), LINKER Anti-Rabbit (1 vial x 34,5 ml), Visualization Reagent-HRP (1 vial x 34,5 ml), DAB+ Substrate Buffer (15 viales x 7,2 ml), DAB+ Chromogen (1 vial x 5 ml), DAB Enhancer (1 vial x 34,5 ml), EnVision FLEX Target Retrieval Solution Low pH (50x) y 15 Control Slides PD-L1 IHC 28-8 pharmDx.

PERIODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE CONSERVACIÓN: 1) 12 (DOCE) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8°C; 2) 14 (CATORCE) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8°C.

NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE: 1) y 2): Agilent Technologies, Inc., 5301 Stevens Creek Blvd, Santa Clara, California, 95051 (USA) y Agilent Technologies, Inc., 6392 Via Real, Carpinteria, California, 93013 (USA).

CONDICIÓN DE VENTA/CATEGORÍA: USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.

Nº EX-2022-27721084-APN-DGA#ANMAT

AM

PROYECTO DE RÓTULOS

Rótulo Externo

PD-L1 IHC 22C3 / 28-8 pharmDx

Importado por:

ANALYTICAL TECHNOLOGIES SA

J. F. Kennedy 2840 Piso 10, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Director Técnico: **Bioq., Alida Lucía Álvarez. MN 6998.**

Fabricado por:

AGILENT TECHNOLOGIES, INC.

5301 Stevens Creek Blvd, Santa Clara, California, 95051, EEUU.

6392 Via Real, Carpinteria, California, 93013, Estados Unidos.

Marca: **Agilent.**

REF

SK006 / SK005



31/08/22

LOT

11347981C

IVD



50

Autorizado por la ANMAT - PM 2357-19

**Todos los componentes deben almacenarse a una Temperatura de Entre 2° C a 8 °C
para evitar la degradación de los reactivos.**

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS: VER INSTRUCCIONES DE USO.

Solamente para uso diagnóstico in-vitro

Venta exclusiva a laboratorios de análisis clínicos.

USO PROFESIONAL EXCLUSIVO

Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO






Rótulo del fabricante:

Modelo 1:

**PD-L1 IHC 22C3
pharmDx**

PEROXIDASE-BLOCKING REAGENT	 2020-10-05
MONOCLONAL MOUSE ANTI-PD-L1 CLONE 22C3	REF SK006
NEGATIVE CONTROL REAGENT	LOT 12345678
LINKER, ANTI-MOUSE	 50
VISUALIZATION REAGENT-HRP	 2°C / 8°C
DAB+ SUBSTRATE BUFFER	 agilent.com/library/eifu +44 161 492 7050
DAB+ CHROMOGEN	IVD
DAB ENHANCER	
EnVision FLEX TARGET RETRIEVAL SOLUTION LOW pH (50x)	
CONTROL SLIDES	


(01)0570057 1112885(17)201005(10)12345678

 Danger			 Agilent Technologies, Inc. 5301 Stevens Creek Blvd. Santa Clara, CA 95051 United States
			Manufactured in the United States
			Agilent Technologies Denmark ApS Produktionsvej 42 2600 Glostrup, Denmark



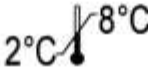

SK00621-507 Secondary v1



Bco. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998







ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Modelo 2:

**PD-L1 IHC 28-8
pharmDx**

PEROXIDASE-BLOCKING REAGENT	 2020-10-05
MONOCLONAL RABBIT ANTI-PD-L1 CLONE 28-8	REF SK005
NEGATIVE CONTROL REAGENT	LOT 12345678
LINKER, ANTI-RABBIT	 50
VISUALIZATION REAGENT-HRP	 2°C / 8°C
DAB+ SUBSTRATE BUFFER	 agilent.com/library/eifu +44 161 492 7050
DAB+ CHROMOGEN	IVD
DAB ENHANCER	
EnVision FLEX TARGET RETRIEVAL SOLUTION LOW pH (50x)	
CONTROL SLIDES	


(01)05700573000845(17)201005(10)12345678

			 Agilent Technologies, Inc. 5301 Stevens Creek Blvd. Santa Clara, CA 95051 United States
Danger			Manufactured in the United States
			 Agilent Technologies Denmark ApS Produktionsvej 42 2600 Glostrup, Denmark

SK00521-501 Secondary v2


Bco. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

MANUAL DE INSTRUCCIONES

1. Nombre comercial del Producto

1-PD-L1 IHC 22C3 pharmDx (Ref.: SK006).

2-PD-L1 IHC 28-8 pharmDx (Ref.: SK005).

2. Descripción de la finalidad de uso del producto

Modelo 1:

Para uso en diagnóstico in vitro.

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx es un ensayo inmunohistoquímico (IHC) cualitativo que utiliza Monoclonal Mouse Anti-PD-L1, Clone 22C3, indicado para su uso en la detección de la proteína PD-L1 en tejidos de cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica, de carcinoma de células escamosas de esófago (ESCC), de cáncer cervical, de carcinoma urotelial, de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) y de cáncer de mama triple negativo (TNBC) fijados con formol e incluidos en parafina (FFPE) mediante el sistema de visualización EnVision FLEX en Autostainer Link 48.

La expresión de la proteína PD-L1 en el NSCLC se determinó con la puntuación Tumor Proportion Score (TPS), que es el porcentaje de células tumorales viables que muestran una tinción parcial o completa de cualquier intensidad de la membrana.

La expresión de la proteína PD-L1 en el adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica, ESCC, el cáncer cervical, el carcinoma urotelial, el HNSCC y el TNBC se determina mediante la puntuación Combined Positive Score (CPS), que es el número de células para la tinción de PD-L1 (células tumorales, linfocitos, macrófagos) dividido entre el número total de células tumorales viables, multiplicado por 100.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Indicaciones de diagnóstico complementarias:

Tipo de tumor	Expresión de PD-L1 Nivel	Uso previsto
NSCLC	TPS \geq 1 %	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx está indicado como ayuda para la identificación de pacientes con NSCLC para recibir tratamiento con KEYTRUDA® (pembrolizumab)**.
Adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica	CPS \geq 1	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx está indicado como ayuda para la identificación de pacientes con adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica para recibir tratamiento con KEYTRUDA® (pembrolizumab).
ESCC	CPS \geq 10	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx está indicado como ayuda para la identificación de pacientes con ESCC para recibir tratamiento con KEYTRUDA® (pembrolizumab).
Cáncer cervical	CPS \geq 1	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx está indicado para facilitar la identificación de pacientes con cáncer cervical y el posible tratamiento con KEYTRUDA® (pembrolizumab).
Carcinoma urotelial	CPS \geq 10	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx está indicado para facilitar la identificación de pacientes con carcinoma urotelial y el posible tratamiento con KEYTRUDA® (pembrolizumab). **
HNSCC	CPS \geq 1	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx está indicado como ayuda para la identificación de pacientes con HNSCC para recibir tratamiento con KEYTRUDA® (pembrolizumab). **


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.938


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

TNBC	CPS ≥ 10	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx está indicado como ayuda para la identificación de pacientes con TNBC para recibir tratamiento con KEYTRUDA® (pembrolizumab).
------	---------------	--

**Consulte la etiqueta de producto de KEYTRUDA® para ver las circunstancias clínicas específicas que conllevan el análisis de PD-L1.

Modelo 2:

Para uso diagnóstico in vitro.

PD-L1 IHC 28-8 pharmDx es un ensayo inmunohistoquímico cualitativo que utiliza Monoclonal Rabbit Anti-PD-L1, Clon 28-8 indicado para el uso en la detección de la proteína PD-L1 en tejidos de melanoma y cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) fijados con formol e incluidos en parafina (FFPE) mediante el sistema de visualización EnVision FLEX en Autostainer Link 48.

La expresión de la proteína PD-L1 se define como el porcentaje de células tumorales evaluables que muestran tinción parcial o completa de la membrana en cualquier intensidad.

Indicación de diagnóstico complementaria

Tipo de tumor	Expresión de PD-L1 Nivel	Uso previsto
NSCLC	TPS ≥ 1 %	PD-L1 IHC 28-8 pharmDx está indicado para facilitar la identificación de pacientes con NSCLC para recibir tratamiento con OPDIVO® (nivolumab) en combinación con YERVOY® (ipilimumab).

La expresión de PD-L1 (expresión de células tumorales de $\geq 1\%$, $\geq 5\%$ o $\geq 10\%$), tal como la detecta PD-L1 IHC 28-8 pharmDx en NSCLC no escamoso, se puede asociar a una mejora de la supervivencia con OPDIVO®.

La expresión de PD-L1 (expresión de células tumorales de $\geq 1\%$), tal como la detecta PD-L1 IHC 28-8 pharmDx en melanoma, se puede utilizar para facilitar la evaluación de

Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matriculada Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

pacientes para los cuales se está considerando un tratamiento con una combinación de OPDIVO® y YERVOY®.

Consulte las etiquetas de producto de OPDIVO® y YERYOV® para ver las circunstancias clínicas específicas que conllevan el análisis de PD-L1.

3. Descripción del principio de acción del Kit

Modelo 1:

La unión de los ligandos para PD-1, PD-L1 y PD-L2, al receptor PD-1 que se encuentra en las células T, inhibe la proliferación de células T y la producción de citocina. En algunos tumores, tiene lugar un aumento de la expresión de los ligandos para PD-1 y señalar esta ruta puede contribuir a la inhibición de la vigilancia inmunitaria activa de los tumores por parte de las células T. KEYTRUDA es un anticuerpo monoclonal humanizado que se une al receptor PD-1 y bloquea su interacción con PD-L1 y PD-L2, produciendo una inhibición mediada por la ruta de PD-1 de la respuesta inmunitaria, incluida la respuesta inmunitaria antitumoral.1 En modelos singénicos de tumores en ratones, el bloqueo de la actividad de PD-1 ocasionó una disminución del crecimiento tumoral.

Modelo 2:

La unión de los ligandos para PD-1, PD-L1 y PD-L2, al receptor PD-1 que se encuentra en las células T, inhibe la proliferación de células T y la producción de citocina. En algunos tumores, tiene lugar un aumento de la expresión de los ligandos para PD-1 y señalar esta ruta puede contribuir a la inhibición de la vigilancia inmunitaria activa de los tumores por parte de las células T (1). OPDIVO® (nivolumab) es un anticuerpo monoclonal humano de tipo inmunoglobulina G4 (IgG4) que se une al receptor PD-1 y bloquea su interacción con PD-L1 y PD-L2, produciendo una inhibición mediada por la ruta de PD-1 de la respuesta inmunitaria, incluida la respuesta inmunitaria antitumoral (2). En modelos singénicos de tumores en ratones, el bloqueo de la actividad de PD-1 ocasionó una disminución del crecimiento tumoral (3). El antígeno 4 (CTLA-4) asociado al linfocito T citotóxico es un regulador negativo de la actividad de las células T. YERVOY® (ipilimumab) es un anticuerpo monoclonal que se une a CTLA-4 y bloquea la interacción de CTLA-4 con sus ligandos,



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

CD80/CD86. Se ha demostrado que el bloqueo de CTLA-4 aumenta la activación y proliferación de células T, lo que contribuye a un incremento general de la respuesta inmunitaria antitumoral (4). La PD-1 y la CTLA-4 inhiben la inmunidad antitumoral por medio de mecanismos complementarios y no redundantes. Se ha investigado la utilidad clínica de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx para la evaluación del estado de PD-L1 en pacientes con NSCLC y melanoma tratados solo con OPDIVO® o en combinación con YERVOY®.

4. Componentes del Kit

El kit suministra material suficiente para un máximo de 15 sesiones individuales de tinción.:

Cantidad	Descripción
1 x 34,5 ml	Reactivo inhibidor de la peroxidasa Solución tamponada que contiene peróxido de hidrógeno, detergente y 0,015 mol/l de azida sódica.
1 x 19,5 ml	SK006: Anticuerpo primario: Anti-PD-L1 monoclonal de ratón, clon 22C3 (para el modelo 1) / 28-8 (para el modelo 2) Anti-PD-L1 (IgG1) monoclonal de ratón en una solución tamponada que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.
1 x 15 ml	Reactivo de control negativo Anticuerpo IgG1 de control monoclonal de ratón en una solución tamponada que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.
1 x 34,5 ml	Mouse LINKER Anticuerpo secundario de conejo frente a inmunoglobulinas de ratón en una solución tamponada que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.
1 x 34,5 ml	Reactivo de visualización de peroxidasa de rábano picante Dextrano unido a moléculas de peroxidasa y moléculas de anticuerpo secundario de cabra contra inmunoglobulinas de conejo y ratón en una



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	solución tamponada que contiene proteína estabilizadora y un agente antimicrobiano.
15 x 7,2 ml	Tampón sustrato DAB+ Solución tamponada que contiene peróxido de hidrógeno y un agente antimicrobiano.
1 x 5 ml	Cromógeno DAB+ Tetrahydrocloruro de 3,3'-diaminobencidina en disolvente orgánico.
1 x 34,5 ml	Potenciador DAB Sulfato de cobre en agua.
6 x 30 ml	Solución de recuperación antigénica EnVision FLEX, pH bajo (50x) Solución tamponada, pH 6,1, que contiene un detergente y un agente antimicrobiano.
15 portaobjetos	Portaobjetos de control PD-L1 IHC 22C3 (para el modelo 1) / 28-8 (para el modelo 2) pharmDx Cada portaobjetos contiene cortes de dos líneas celulares en forma de sedimento fijadas con formol e incluidas en parafina: NCI-H226* con expresión moderada de la proteína PD-L1 y MCF-7 con expresión negativa de la proteína PD-L1.

*Se reconoce la contribución del Dr. AF Gazdar y del Dr. JD Minna del NIH en el desarrollo de NCI-H226 (Número ATCC: CRL-5826).

Nota: Todos los reactivos incluidos están específicamente formulados para su uso en este kit. Para que la prueba pueda realizarse según las especificaciones, no deben realizarse sustituciones salvo en el caso de EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x) (n.º de catálogo K8005). PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se ha personalizado para su uso con Autostainer Link 48. Consulte los manuales del usuario de Autostainer Link 48 y PT Link para obtener más información.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

5. Consumibles, equipos y hardware necesarios

Material necesario, pero no suministrado:

PT Link Pre-treatment Module (n.º de catálogo PT100/PT101/PT200)

Autostainer Link 48 (n.º de catálogo AS480)

EnVision FLEX Wash Buffer (20x) (n.º de catálogo K8007)

Hematoxylin (n.º de catálogo K8008)

Agua destilada o desionizada (agua de grado reactivo)*

Cronómetro

Tejidos positivo y negativo para utilizar como controles del proceso (véase la sección "Control de calidad")

Portaobjetos para microscopio: Dako FLEX IHC Microscope Slides (n.º de catálogo K8020)

o los portaobjetos SuperFrost Plus

Cubreobjetos

Medio de montaje no acuoso permanente y reactivos complementarios necesarios para montar los cubreobjetos

Microscopio óptico (objetivo de 4x-40x aumentos)

Medidor de pH (calibrado según la recomendación del fabricante)

*Nota: No todas las fuentes de agua destilada o desionizada tienen la calidad suficiente para la preparación del reactivo IHC. Agilent recomienda el uso de agua destilada o desionizada de grado reactivo [correspondiente al estándar para agua de grado reactivo para laboratorio clínico (CLRW), según lo especificado por CLS114], o de agua de calidad similar a la usada para la preparación del reactivo.

6. Condiciones de almacenamiento y transporte

Almacene todos los componentes de PD-L1 IHC 22C3 / 28-8 pharmDx, incluidos los portaobjetos de control Control Slides, protegidos de la luz a 2-8 °C cuando no se estén utilizando en Autostainer Link 48.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

No utilice el kit después de la fecha de caducidad impresa en la parte externa del envase. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas en estas instrucciones de uso, el usuario debe validar dichas condiciones.

No hay signos obvios que indiquen la inestabilidad de este producto, por lo que los controles positivo y negativo deben ejecutarse simultáneamente con las muestras del paciente.

7. Precauciones generales

1. Para uso en diagnóstico in vitro.
2. Para usuarios profesionales.
3. Este producto contiene azida sódica (NaN_3), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. Aunque a las concentraciones presentes en el producto no está clasificada como peligrosa, la NaN_3 puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre y formar acumulaciones de azidas metálicas muy explosivas. Tras desechar el producto, deje correr abundante cantidad de agua para evitar acumulaciones de azidas metálicas en las cañerías.¹⁵
4. Primary Antibody, Negative Control Reagent, Linker y Visualization Reagent contienen materiales de origen animal.
5. Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales a ellas expuestos deben manipularse como si fuesen potencialmente infecciosas y deben eliminarse de acuerdo con las precauciones adecuadas.¹⁶
6. Los tiempos, las temperaturas o los métodos de incubación diferentes de los especificados pueden producir resultados erróneos.
7. Los reactivos se suministran a la dilución óptima. Una nueva dilución puede ocasionar la pérdida de la tinción antigénica.
8. Visualization Reagent, Liquid DAB+ Chromogen y la solución preparada DAB+ Substrate-Chromogen Solution pueden verse afectados de forma negativa si se exponen a niveles excesivos de luz. No almacene componentes del sistema ni realice la tinción bajo una luz demasiado intensa, como la luz solar directa.
9. Los residuos de parafina pueden dar lugar a falsos negativos.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

10. El uso de volúmenes de reactivos distintos a los recomendados puede provocar una pérdida de inmunorreactividad a la PD-L1 visible.
11. Los resultados de un estudio pequeño mostraron un intervalo dinámico similar de expresión de PD-L1 en pares de muestras de NSCLC primario y metastásico. Es posible que haya diferencias en la expresión de PD-L1 entre los tumores primarios y los sitios metastásicos en el mismo paciente.
12. Es posible que los cortes de tejido de grandes dimensiones necesiten 3 x 150 µl de reactivo.
13. Como regla general, los menores de 18 años no pueden manipular este producto. Los usuarios deben ser instruidos meticulosamente en los procedimientos laborales adecuados, las propiedades peligrosas del producto y las instrucciones de seguridad necesarias. Consulte la hoja de datos de seguridad (SDS) para obtener información más detallada.
14. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
15. La solución no utilizada debe desecharse de acuerdo a las normativas locales, nacionales y de la UE.
16. Hay información disponible acerca de peligros en el documento de GHS del interior del envase del producto. Hay hojas de datos de seguridad disponibles en www.agilent.com o previa solicitud.
17. Para países que no sean los Estados Unidos, consulte la etiqueta local de producto de KEYTRUDA para ver las indicaciones y los valores de corte de expresión aprobados con el fin de guiar el tratamiento.
18. Para países que no pertenezcan a Estados Unidos, consulte las etiquetas locales de producto de OPDIVO® y YERVOY® para ver los tipos de tumor y los valores de corte de expresión aprobados con el fin de guiar el tratamiento.



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

8. Preparación de la muestra

Las muestras tisulares deben manipularse de forma que se conserve el tejido para su tinción IHC. Deberán emplearse los métodos habituales de procesamiento de tejidos en todas las muestras.

8.1 Muestras incluidas en parafina

Está indicado el uso de muestras tisulares FFPE. Otros fijadores no han sido validados y pueden producir resultados erróneos. Se recomienda un tiempo de fijación de 12-72 horas con formol tamponado neutro (NBF) al 10 %; sin embargo, un estudio con muestras limitadas mostró que tiempos de fijación de 4-168 horas en NBF al 10 % no modificaban sistemáticamente la detección de PD-L1. Tiempos de fijación ≤ 3 horas pueden provocar una detección de PD-L1 variable. Las muestras deben cortarse en bloques de 3 o 4 mm de grosor, fijarse con formol, deshidratarse y secarse en una serie de alcoholes y xileno, y ser infiltradas con parafina fundida. La temperatura de la parafina no debe superar los 60 °C. Los bloques de tejido FFPE de NSCLC con una antigüedad igual o superior a 5 años pueden provocar una pérdida de inmunorreactividad de PD-L1. Consulte la sección 15.2 (Limitaciones específicas del producto) para obtener información sobre muestras de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica.

Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de 4-5 μm . Después de realizar el corte, los tejidos deben montarse en Dako FLEX IHC Microscope Slides (n.º de catálogo K8020) o portaobjetos Superfrost Plus y seguidamente colocarse en un horno a 58 ± 2 °C durante 1 hora.

8.2 Recomendación de almacenamiento de los cortes

Para conservar la antigenicidad, los cortes de tejido, una vez montados en los portaobjetos, deben estar protegidos de la luz a 2-8 °C (recomendado) o a temperatura ambiente hasta 25 °C. Las condiciones de almacenamiento y manipulación de



Two signatures are shown side-by-side. The signature on the left is in blue ink and is written over a printed name and title. The signature on the right is also in blue ink and is written over a printed name and title.

Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

portaobjetos no deben superar los 25 °C en ningún momento tras el montaje para garantizar la integridad y antigenicidad del tejido.

8.2.1 Recomendación para el almacenamiento de cortes de tejido de NSCLC

Los cortes de tejido se deben teñir en el plazo de 6 meses si se almacenan a 2-8 °C (recomendado) o a 25 °C.

8.2.2 Recomendación para el almacenamiento de cortes de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica

Los cortes de tejido se deben teñir en el plazo de 5 meses si se almacenan a 2-8 °C (recomendado) o a 25 °C.

8.2.3 Recomendación para el almacenamiento de cortes de tejido de ESCC

Los cortes de tejido se deben teñir en el plazo de 4,5 meses si se almacenan a 2-8 °C (recomendado) o en el plazo de 1 mes si se almacenan a 25 °C.

8.2.4 Recomendación para el almacenamiento de cortes de tejido de cáncer cervical


Los cortes de tejido se deben teñir en el plazo de 5 meses si se almacenan a 2-8 °C (recomendado) o en el plazo de 1 mes si se almacenan a 25 °C.

8.2.5 Recomendación para el almacenamiento de cortes de tejido de carcinoma urotelial

Los cortes de tejido se deben teñir en el plazo de 5 meses si se almacenan a 2-8 °C (recomendado) o en el plazo de 2 meses si se almacenan a 25 °C.

8.2.6 Recomendación para el almacenamiento de cortes de tejido de HNSCC

Los cortes de tejido se deben teñir en el plazo de 6 meses si se almacenan a 2-8 °C (recomendado) o en el plazo de 4 meses si se almacenan a 25 °C.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

8.2.7 Recomendación para el almacenamiento de cortes de tejido de TNBC

Los cortes de tejido se deben teñir en el plazo de 7,5 meses si se almacenan a 2-8 °C (recomendado) o en el plazo de 4 meses.

9. Preparación de los reactivos

Los siguientes reactivos deben prepararse antes de la tinción:

Solución de recuperación angigénica EnVision FLEX, pH bajo (50x)

Prepare una cantidad suficiente de Target Retrieval Solution, Low pH, 1x diluyendo Target Retrieval Solution, Low pH (50x) en una proporción de 1:50 con agua destilada o desionizada; el pH de Target Retrieval Solution 1x debe ser de $6,1 \pm 0,2$. En ningún caso deberá modificar el pH de Target Retrieval Solution 1x tras su preparación. Si se sospecha que hay algún problema con el pH de Target Retrieval Solution, consulte la sección sobre solución de problemas para obtener más información. Un frasco de 30 ml de Target Retrieval Solution, Low pH (50x), diluida en una proporción de 1:50 generará 1,5 l de reactivo 1x, suficiente para rellenar un tanque de PT Link que tratará hasta 24 portaobjetos por uso. Deseche Target Retrieval Solution 1x después de tres usos y no la utilice después de 5 días tras la dilución. Tenga en cuenta que FLEX Target Retrieval Solution, low pH (50x), es una solución de color rojo. Consulte la Sección 15.2 (Limitaciones específicas del producto) para obtener información sobre las limitaciones de Target Retrieval Solution en muestras de ESCC.

Si es necesario, hay disponible más EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x) con n.º de catálogo K8005.

Tampón de lavado EnVision FLEX (20x)

Prepare una cantidad suficiente de Wash Buffer diluyendo Wash Buffer (20x) en una proporción de 1:20 con agua destilada o desionizada para los pasos de lavado. Almacene la solución 1x no utilizada a 2-8 °C durante no más de un mes. Deseche la solución tampón



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

si tiene un aspecto turbio. Para más información, consulte el manual del usuario de su Autostainer Link 48.

EnVision FLEX Wash Buffer (20x) está disponible con n.º de catálogo K8007.

DAB+ Substrate-Chromogen Solution

Esta solución debe mezclarse bien antes de usar. La calidad de la tinción no se verá afectada por la formación de precipitado en la solución.

Para preparar DAB+ Substrate-Chromogen Solution, añada una gota de Liquid DAB+ Chromogen por ml de DAB+ Substrate Buffer y mézclelo*. La solución Substrate-Chromogen preparada es estable durante 5 días si se almacena protegida de la luz a 2-8 °C.

Notas importantes:

- *Si usa un frasco entero de DAB+ Substrate Buffer, añada nueve gotas de DAB+ Chromogen. Aunque en la etiqueta aparezca 7,2 ml, este es el volumen utilizable y no tiene en cuenta el “volumen muerto” del frasco (1,8 ml).
- El color del Liquid DAB+ Chromogen en el frasco puede variar de transparente a color marrón-lavanda. Esto no alterará el rendimiento de este producto. Diluya según las indicaciones anteriores. La adición de un exceso de Liquid DAB+ Chromogen al DAB+ Substrate Buffer causará el deterioro de la señal positiva.

10. Procedimiento de tinción en la solución Autostainer Link 48

Notas sobre el procedimiento

El usuario debe leer estas instrucciones atentamente y familiarizarse con todos los componentes y los instrumentos antes de la utilización (véase la sección 6, “Precauciones”). Los reactivos deben estabilizarse a temperatura ambiente (20-25 °C) antes de la inmunotinción. De forma similar, todas las incubaciones deben realizarse a temperatura ambiente.



Two signatures are shown side-by-side. The signature on the left is in blue ink and is written over a printed name and title. The signature on the right is also in blue ink and is written over a printed name and title.

Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

No deje que los cortes de tejido se sequen durante el procedimiento de tinción. Los cortes de tejido secos pueden presentar un aumento de tinción inespecífica.

Todos los pasos y los tiempos de incubación requeridos para la tinción han sido preprogramados en el software Dako Link. Consulte los manuales del usuario de Autostainer Link 48 y PT Link para obtener información sobre los protocolos de programación y la carga de portaobjetos y reactivos.

Nota: Los reactivos y las instrucciones suministradas con este sistema se han diseñado para obtener resultados óptimos al usarse con los reactivos y materiales recomendados. Una mayor dilución de los reactivos o la modificación de los tiempos de incubación o de las temperaturas pueden producir resultados erróneos o incoherentes.

Protocolo de tinción

Seleccione el protocolo de tinción PD-L1 IHC 22C3 /28-8 pharmDx (según corresponda) entre las opciones del menú desplegable de Dako Link.

Todos los pasos y los tiempos de incubación requeridos para la tinción han sido preprogramados en el Autostainer Link 48. Si no encuentra en su servidor los protocolos correspondientes a PD-L1 IHC 22C3 /28-8 pharmDx, póngase en contacto con su representante del servicio técnico para obtener los protocolos.

Paso 1: Procedimiento de desparafinización, rehidratación y recuperación antigénica (3 en 1)

Para más detalles, consulte la Guía del usuario de PT Link.

Ajuste Preheat (Precalentar) y Cool (Enfriamiento) de PT Link (n.º de catálogo PT100/PT101/PT200) a 65 °C. Ajuste Heat (Conservación calor) a 97 °C durante 20 minutos.

► Llene los tanques del PT Link con 1,5 l de solución de trabajo Target Retrieval Solution, Low pH, 1x por tanque para cubrir los cortes de tejido.

► Precaliente Target Retrieval Solution a 65 °C.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

► Sumerja las gradillas Autostainer que contienen cortes de tejido FFPE montados en la solución precalentada Target Retrieval Solution, Low pH, (solución de trabajo 1x) en el tanque del PT Link. Incube durante 20 minutos a 97 °C.

► Cuando haya terminado la incubación para la recuperación antigénica y la temperatura haya bajado a 65 °C, retire del tanque del PT Link cada gradilla Autostainer para portaobjetos con los portaobjetos y coloque inmediatamente la gradilla Autostainer con los portaobjetos en un tanque (p. ej., PT Link Rinse Station, n.º de catálogo PT109) con Wash Buffer (n.º de catálogo K8007) diluido y a temperatura ambiente.

► Incube los portaobjetos en Wash Buffer diluida y a temperatura ambiente durante 5 minutos.

Paso 2: Procedimiento de tinción

Tras el procedimiento de desparafinización, rehidratación y recuperación antigénica (3 en 1), las gradillas Autostainer con portaobjetos se colocan en Autostainer Link 48. El instrumento realizará el proceso de tinción aplicando el reactivo apropiado, monitorizando el tiempo de incubación y enjuagando los portaobjetos entre reactivos. Los tiempos de los reactivos han sido preprogramados en el software Dako Link.

Paso 3: Contratinción

Los portaobjetos pueden someterse a contratinción durante 5 minutos con Hematoxylin (Link) (n.º de catálogo K8008). El tiempo de incubación de Hematoxylin está preprogramado en el protocolo.

Paso 4: Montaje

Se requiere un medio de montaje no acuoso y permanente.

Nota: Puede producirse alguna decoloración en los portaobjetos teñidos en función de diferentes factores como por ejemplo, contratinción, materiales de montaje y métodos, y condiciones de almacenamiento. Para minimizar la decoloración, almacene los portaobjetos en la oscuridad a temperatura ambiente (20-25 °C).



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

11. Control de calidad

La calidad de los reactivos de PD-L1 IHC 22C3/28-8 pharmDx ha sido controlada mediante inmunohistoquímica utilizando los procedimientos de recuperación antigénica y tinción explicados anteriormente. Las desviaciones en los procedimientos recomendados para la fijación, el procesamiento y la inclusión de los tejidos en el laboratorio pueden causar variaciones notables en los resultados. En cada sesión de tinción deben realizarse controles de calidad. Estos controles de calidad se especifican en la Tabla 14 e incluyen: una muestra tisular de paciente con tinción de H&E; tejidos de control positivo y negativo proporcionados por un laboratorio; y un portaobjetos con línea celular de control suministrado por Dako.¹⁷ Consulte las pautas del College of American Pathologists (CAP) Accreditation Program for Immunohistochemistry¹⁸, además del CLSI Quality Assurance for Immunocytochemistry, Approved Guideline¹⁹ para obtener información adicional.

12. Verificación del ensayo

Antes del uso inicial de un sistema de tinción en un procedimiento diagnóstico, el usuario debe verificar los resultados del ensayo, analizando una serie de tejidos proporcionados por un laboratorio con características de resultados IHC conocidas que representen tejidos positivos y negativos conocidos. Consulte los procedimientos de control de calidad indicados en la sección anterior de control de calidad. Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse para cada nuevo lote de anticuerpos o siempre que se produzca un cambio en los parámetros de ensayo. En la Tabla 49 se indican las opciones de solución de problemas, sus causas y las acciones correctivas recomendadas.

13. Interpretación de la tinción y de la puntuación para PD-L1 IHC 22C3

13.1 NSCLC: Expresión de PD-L1 determinada con la puntuación Tumor Proportion Score.

Todas las células tumorales viables de todo el corte de tejido deben evaluarse e incluirse en la evaluación de la puntuación de PD-L1. Debe haber presente un mínimo de 100 células tumorales viables en el portaobjetos teñido con PD-L1 para que la muestra se considere adecuada para la evaluación de PD-L1.



Two signatures are shown side-by-side. The signature on the left is in blue ink and is written over a printed name and title. The signature on the right is also in blue ink and is written over a printed name and title.

Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

La evaluación de los portaobjetos debe ser realizada por un patólogo, con un microscopio óptico. Para la evaluación de la tinción y la puntuación inmunohistoquímica, resulta apropiado un objetivo de aumento 10-40x. Cualquier tinción de la membrana de células tumorales perceptible debe incluirse en la puntuación.

La expresión de la proteína PD-L1 se determina con la puntuación TPS, que es el porcentaje de células tumorales viables que muestran una tinción parcial o completa de la membrana de cualquier intensidad.

$$\text{TPS (\%)} = \frac{\text{N.º de células teñidas para PD-L1 (células tumorales)}}{\text{N.º total de células tumorales viables}} \times 100$$

Puntúe una tinción parcial o completa de la membrana ($\geq 1+$) que se distinga de la tinción citoplasmática. La tinción citoplasmática debe considerarse una tinción inespecífica y se excluirá en la evaluación de la intensidad de la tinción. Las células normales y las células inmunitarias asociadas a tumores como los linfocitos infiltrantes o los macrófagos no deben incluirse en la puntuación para la determinación del nivel de expresión de PD-L1.

En la Tabla 1, mostrada a continuación, se ofrece información detallada acerca de qué elementos tisulares se incluyen o excluyen en la determinación de la puntuación TPS.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tabla 1. Criterios de inclusión/exclusión de la TPS para NSCLC

Elementos tisulares	Incluido en la puntuación TPS para NSCLC	Excluido de la puntuación TPS para NSCLC
Células tumorales	<ul style="list-style-type: none"> • Tinción obvia parcial o completa de la membrana celular (de cualquier intensidad) de las células tumorales viables 	<ul style="list-style-type: none"> • Excluir cualquier tinción citoplasmática
Células inmunitarias	<ul style="list-style-type: none"> • No incluido 	<p>Excluir cualquier tinción de células inmunitarias, como por ejemplo:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Células inflamatorias mononucleares (linfocitos grandes, monocitos, macrófagos pulmonares) • Células plasmáticas • Neutrófilos
Otros	<ul style="list-style-type: none"> • No incluido 	<p>Excluir cualquier tinción de:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Células normales adyacentes a las células tumorales • Células del estroma (fibroblastos) • Células necróticas y/o restos celulares • Pigmento antracótico



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matriculada Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Para cada sesión de tinción, deben examinarse los portaobjetos del modo presentado en la Tabla 14 (sección 14) para determinar la validez de la sesión de tinción y permitir una evaluación de la tinción del tejido muestra. Examine las muestras del paciente teñidas con PD-L1 y NCR de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx durante la evaluación de la expresión de PD-L1. Las muestras teñidas con NCR deben tener tinción específica 0 y tinción inespecífica $\leq 1+$.

Se debe considerar que la muestra tiene expresión de PD-L1 si TPS ≥ 1 % de las células tumorales viables muestran una tinción de la membrana de cualquier intensidad. Se debe considerar que la muestra tiene expresión alta de PD-L1 si TPS ≥ 50 % de las células tumorales viables muestran una tinción de la membrana de cualquier intensidad.

Tumor Proportion Score			
Niveles de expresión de PD-L1	TPS <1 %	TPS ≥ 1 %	TPS ≥ 50 %
Estado de expresión de PD-L1	Sin expresión de PD-L1	Expresión de PD-L1	Alta expresión de PD-L1

Consulte el manual de interpretación de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx para NSCLC a fin de obtener instrucciones adicionales.

13.2 Adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica, ESCC, cáncer cervical, carcinoma urotelial, HNSCC y TNBC: Expresión de PD-L1 determinada con la puntuación Combined Positive Score

Todas las células tumorales viables del corte de tejido completo deben evaluarse e incluirse en la evaluación de la expresión de PD-L1.

La expresión de PD-L1 se determina con la puntuación CPS, que es el número de células para la tinción de PD-L1 (células tumorales, linfocitos, macrófagos) dividido entre el número total de células tumorales viables, multiplicado por 100. La distinción de macrófagos, linfocitos y células tumorales viables es básica para lograr una estimación exacta del



denominador. Aunque el resultado del cálculo puede ser superior a 100, la puntuación máxima es una CPS de 100. La CPS se define como:

$$CPS = \frac{\# \text{ PD-L1 staining cells (tumor cells, lymphocytes, macrophages)}}{\text{Total \# of viable tumor cells}} \times 100$$

inmunohistoquímica, resulta apropiado un objetivo de aumento 10-20x. Para la determinación de la expresión de PD-L1, es necesario un objetivo de aumento 20x.

Por definición, las células teñidas para PD-L1 son:

- Células tumorales con cualquier tinción obvia lineal parcial o completa de la membrana (de cualquier intensidad) que se considere distinta de la tinción citoplasmática.
- Linfocitos y macrófagos (células inflamatorias mononucleares, CIM) dentro de los nidos de tumor y/o del estroma adyacente de sostén con tinción obvia citoplasmática o de la membrana (de cualquier intensidad). Las CIM deben asociarse directamente con la respuesta ante el tumor.

Para cada sesión de tinción, deben examinarse los portaobjetos del modo presentado en la Tabla 14 (sección 14) para determinar la validez de la sesión de tinción y permitir una evaluación de la tinción del tejido muestra. Examine las muestras del paciente teñidas con PD-L1 y NCR de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx durante la evaluación de la expresión de PD-L1. Las muestras teñidas con NCR deben tener tinción específica 0 y tinción inespecífica $\leq 1+$.

Consulte las secciones 13.2.1 a 13.2.6 para obtener información específica para cada tipo de tumor.

13.2.1 Adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica: Interpretación de la CPS

Debe haber presente un mínimo de 100 células tumorales viables en el portaobjetos teñido con PD-L1 (biopsia y extirpación) para que la muestra se considere adecuada para la evaluación. Si las muestras del paciente incluyen más de una biopsia (p. ej., entre 3 y 5



Two signatures are shown. The first signature is in blue ink and is followed by the text: "Bióq. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", "Matrícula Provincial N° 7.938". The second signature is also in blue ink and is followed by the text: "ALEJANDRO BOGNOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", "APODERADO".

biopsias endoscópicas) en un portaobjetos, tendrá que evaluar todos los tejidos del portaobjetos para obtener una única CPS que permita determinar el nivel de expresión de la PD-L1. No es necesario generar un informe de cada biopsia.

En las tablas 2 y 3 se proporciona información acerca de los elementos tisulares que se incluyen y que se excluyen del numerador y del denominador de la CPS, respectivamente, en el adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica.



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tabla 2. Criterios de inclusión/exclusión del numerador de la CPS para adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica

Elementos tisulares	Incluido en el numerador	Excluido del numerador
Células tumorales	<ul style="list-style-type: none"> • Tinción obvia lineal parcial o completa de la membrana (de cualquier intensidad) de las células tumorales viables del adenocarcinoma invasivo gástrico o de la unión gastroesofágica 	<ul style="list-style-type: none"> • Células tumorales sin tinción • Células tumorales únicamente con tinción citoplasmática • Adenoma, displasia y carcinoma in situ
Células inmunitarias	<ul style="list-style-type: none"> • Tinción citoplasmática* o de membrana (de cualquier intensidad) de las células inflamatorias mononucleares (CIM) dentro de los nidos de tumor y del estroma adyacente de sostén**: <ul style="list-style-type: none"> ○ Linfocitos (incluidos agregados linfocitarios) ○ Macrófagos*** • Solo se contabilizan las CIM directamente relacionadas con la respuesta ante el tumor. 	<ul style="list-style-type: none"> • CIM sin tinción • CIM relacionadas con adenoma, displasia y carcinoma in situ • CIM (incluidos agregados linfocíticos) relacionadas con úlceras, gastritis crónica y otros procesos no asociados con el tumor • CIM relacionadas con estructuras normales • Neutrófilos, eosinófilos y células plasmáticas
Otras células	<ul style="list-style-type: none"> • No incluido 	



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		<ul style="list-style-type: none"> • Células normales (incluidas las células ganglionares) • Células del estroma (incluidos fibroblastos) • Células necróticas y/o restos celulares
--	--	--

*En las CIM en muchos casos no se logra distinguir la tinción citoplasmática y de la membrana debido a una elevada relación nuclear/citoplasmática. Por tanto, la tinción citoplasmática o de la membrana de las CIM se incluye en el numerador de CPS.

**Las CIM adyacentes son aquellas que se encuentran el mismo campo de aumento 20x que el tumor. Sin embargo, las CIM que NO están directamente relacionadas con la respuesta ante el tumor se deben excluir.

***Los macrófagos y los histiocitos se consideran las mismas células.

Tabla 3. Criterios de inclusión/exclusión del denominador de la CPS para adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica

Elementos tisulares	Incluidas en el denominador	Excluidas del denominador
Células tumorales	<ul style="list-style-type: none"> • Todas las células tumorales invasivas viables (tinción de PD-L1 o sin tinción) 	<ul style="list-style-type: none"> • Adenoma, displasia y carcinoma in situ
Células inmunitarias	<ul style="list-style-type: none"> • No incluido 	<ul style="list-style-type: none"> • Células inflamatorias mononucleares (linfocitos y macrófagos; CIM) • Neutrófilos, eosinófilos y células plasmáticas



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Otras células	<ul style="list-style-type: none"> • No incluido 	<ul style="list-style-type: none"> • Células normales (incluidas las células ganglionares) • Células del estroma (incluidos fibroblastos) • Células necróticas y/o restos celulares
----------------------	---	--

Debe considerarse que la muestra tiene expresión de la PD-L1 si CPS ≥ 1 .

Puntuación Combined Positive Score		
Nivel de expresión de PD-L1	CPS <1	CPS ≥ 1
Estado de expresión de PD-L1	Sin expresión de PD-L1	Expresión de PD-L1

Consulte el manual de interpretación de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica para obtener instrucciones adicionales.

13.2.2 ESCC: Interpretación de la CPS

Debe haber presente un mínimo de 100 células tumorales viables en el portaobjetos teñido con PD-L1 para que la muestra se considere adecuada para la evaluación.

En las tablas 4 y 5 se proporciona información acerca de los elementos tisulares que se incluyen y que se excluyen del numerador y del denominador de la CPS, respectivamente, en el ESCC.

Tabla 4. Criterios de inclusión/exclusión del numerador de la CPS para ESCC

Elementos tisulares	Incluido en el numerador	Excluido del numerador
Células tumorales	<ul style="list-style-type: none"> • Tinción obvia lineal parcial o completa de la membrana (de 	<ul style="list-style-type: none"> • Células tumorales sin tinción

Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matricula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	<p>cualquier intensidad) de las células tumorales invasivas que sean viables</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Células tumorales únicamente con tinción citoplasmática • Neoplasia no invasiva (incluido el carcinoma in situ)
Células inmunitarias	<ul style="list-style-type: none"> • Tinción citoplasmática* o de membrana (de cualquier intensidad) de las células inflamatorias mononucleares (CIM) dentro de los nidos de tumor y del estroma adyacente de sostén**, como por ejemplo: <ul style="list-style-type: none"> ○ Linfocitos (incluidos agregados linfocitarios) ○ Macrófagos*** • Solo se contabilizan las CIM directamente relacionadas con la respuesta ante el tumor. 	<ul style="list-style-type: none"> • CIM sin tinción • CIM relacionadas con neoplasia no invasiva (incluido el carcinoma in situ) • CIM relacionadas con estructuras benignas • CIM (incluidos agregados linfocíticos) no relacionadas directamente con la respuesta al tumor • Neutrófilos, eosinófilos y células plasmáticas
Otras células	<ul style="list-style-type: none"> • No incluido 	<ul style="list-style-type: none"> • Células epiteliales benignas • Células del estroma (incluidos fibroblastos) • Células necróticas y/o restos celulares



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

*En las CIM, en muchos casos no se logra distinguir la tinción citoplasmática y de la membrana debido a una elevada relación nuclear/citoplasmática. Por tanto, la tinción citoplasmática o de la membrana de las CIM se incluye en la puntuación.

**Las CIM adyacentes son aquellas que se encuentran el mismo campo de aumento 20x que el tumor. Sin embargo, las CIM que NO están directamente relacionadas con la respuesta ante el tumor se deben excluir.

***Los macrófagos y los histiocitos se consideran las mismas células.

Tabla 5. Criterios de inclusión/exclusión del denominador de la CPS para ESCC

Elementos tisulares	Incluidas en el denominador	Excluidas del denominador
Células tumorales	<ul style="list-style-type: none"> Todas las células tumorales invasivas viables 	<ul style="list-style-type: none"> Células tumorales no viables Neoplasia no invasiva (incluido el carcinoma in situ)
Células inmunitarias	<ul style="list-style-type: none"> No incluido 	<ul style="list-style-type: none"> Todas las células inmunitarias
Otras células	<ul style="list-style-type: none"> No incluido 	<ul style="list-style-type: none"> Células benignas Células del estroma (incluidos fibroblastos) Células necróticas y/o restos celulares

Debe considerarse que la muestra tiene expresión de la PD-L1 si CPS ≥ 10 .

Consulte el manual de interpretación de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx para ESCC a fin de obtener instrucciones adicionales.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

13.2.3 Cáncer cervical: Interpretación de la CPS

Debe haber presente un mínimo de 100 células tumorales viables en el portaobjetos teñido con PD-L1 para que la muestra se considere adecuada para la evaluación.

En las tablas 6 y 7 se proporciona información acerca de los elementos tisulares que se incluyen y que se excluyen del numerador y del denominador de la CPS, respectivamente, en el cáncer cervical.

Tabla 6. Criterios de inclusión/exclusión del numerador de la CPS para cáncer cervical

Elementos tisulares	Incluido en el numerador	Excluido del numerador
Células tumorales	<ul style="list-style-type: none">• Tinción obvia lineal parcial o completa de la membrana (de cualquier intensidad) de las células tumorales cervicales invasivas que sean viables	<ul style="list-style-type: none">• Células tumorales sin tinción• Células tumorales únicamente con tinción citoplasmática
Células inmunitarias	<ul style="list-style-type: none">• Tinción citoplasmática* o de membrana (de cualquier intensidad) de las células inflamatorias mononucleares (CIM) dentro de los nidos de tumor y del estroma adyacente de sostén**:<ul style="list-style-type: none">○ Linfocitos (incluidos agregados linfocitarios)○ Macrófagos***	<ul style="list-style-type: none">• CIM sin tinción• CIM asociados a neoplasia intraepitelial cervical (NIC de I a III)• CIM asociados a células benignas; incluidas de mucosa escamosa o glandular, de pólipos cervicales y de hiperplasia microglandular• CIM (incluidos agregados linfocíticos) relacionadas con úlceras y otros procesos no


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	<ul style="list-style-type: none"> • Solo se contabilizan las CIM directamente relacionadas con la respuesta ante el tumor. 	asociados con el tumor, como la cervicitis <ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos, eosinófilos y células plasmáticas
Otras células	<ul style="list-style-type: none"> • No incluido 	<ul style="list-style-type: none"> • NIC de I a III • Células benignas; incluidas de mucosa escamosa o glandular, de pólipos cervicales y de hiperplasia microglandular • Células del estroma (incluidos fibroblastos) • Células necróticas y/o restos celulares

*En las CIM, en muchos casos no se logra distinguir la tinción citoplasmática y de la membrana debido a una elevada relación nuclear/citoplasmática. Por tanto, la tinción citoplasmática o de la membrana de las CIM se incluye en el numerador de CPS.

**Las CIM adyacentes son aquellas que se encuentran el mismo campo de aumento 20x que el tumor. Sin embargo, las CIM que NO están directamente relacionadas con la respuesta ante el tumor se deben excluir.

***Los macrófagos y los histiocitos se consideran las mismas células.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tabla 7. Criterios de inclusión/exclusión del denominador de la CPS para cáncer cervical

Elementos tisulares	Incluidas en el denominador	Excluidas del denominador
Células tumorales	<ul style="list-style-type: none"> • Todas las células tumorales invasivas viables 	<ul style="list-style-type: none"> • Células tumorales necróticas o no viables
Células inmunitarias	<ul style="list-style-type: none"> • No incluido 	<ul style="list-style-type: none"> • Todas las células inmunitarias de cualquier tipo
Otras células	<ul style="list-style-type: none"> • No incluido 	<ul style="list-style-type: none"> • NIC de I a III • Células benignas; incluidas de mucosa escamosa o glandular, de pólipos cervicales y de hiperplasia microglandular • Células del estroma (incluidos fibroblastos) • Células necróticas y/o restos celulares

Para el cáncer cervical, puede utilizarse tejido de cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), con su correspondiente algoritmo de puntuación TPS, a modo de control positivo y/o negativo si no hay tejido cervical de control disponible.

Debe considerarse que la muestra tiene expresión de la PD-L1 si CPS ≥ 1 .



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Puntuación Combined Positive Score		
Nivel de expresión de PD-L1	CPS <1	CPS ≥1
Estado de expresión de PD-L1	Sin expresión de PD-L1	Expresión de PD-L1

Consulte el manual de interpretación de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx de cáncer cervical para obtener instrucciones adicionales.

13.2.4 Carcinoma urotelial: Interpretación de la CPS

Debe haber presente un mínimo de 100 células tumorales viables en el portaobjetos teñido con PD-L1 para que la muestra se considere adecuada para la evaluación de PD-L1.

En las tablas 8 y 9 se proporciona información acerca de los elementos tisulares que se incluyen y que se excluyen del numerador y del denominador de la CPS, respectivamente, en el carcinoma urotelial.

Elementos tisulares	Incluido en el numerador	Excluido del numerador
Células tumorales	<ul style="list-style-type: none"> • Tinción obvia lineal parcial o completa de la membrana (de cualquier intensidad) de las células tumorales viables del carcinoma urotelial, incluido: <ul style="list-style-type: none"> • Carcinoma papilar de alto grado • Carcinoma in situ (CIS) 	<ul style="list-style-type: none"> • Células tumorales sin tinción • Células tumorales únicamente con tinción citoplasmática • Carcinoma papilar de bajo grado†



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	<ul style="list-style-type: none"> • Cualquier invasión serosa, de la capa muscular o de la lámina propia • Carcinoma metastásico 	
Células inmunitarias	<ul style="list-style-type: none"> • Tinción citoplasmática* o de membrana (de cualquier intensidad) de las células inflamatorias mononucleares (CIM) dentro de los nidos de tumor y del estroma adyacente de sostén**: ○ Linfocitos (incluidos agregados linfocitarios) ○ Macrófagos*** • Solo se contabilizan las CIM directamente relacionadas con la respuesta ante el tumor. 	<ul style="list-style-type: none"> • CIM sin tinción • CIM (incluidos agregados linfocíticos) relacionadas con úlceras, cistitis crónica y otros proceso no asociados con el tumor • CIM relacionadas con estructuras normales • Neutrófilos, eosinófilos y células plasmáticas • Granulomas inducidos por BCG††
Otras células	<ul style="list-style-type: none"> • No incluido 	<ul style="list-style-type: none"> • Células normales • Células del estroma (incluidos fibroblastos) • Células necróticas y/o restos celulares

*En las CIM, en muchos casos no se logra distinguir la tinción citoplasmática y de la membrana debido a una elevada relación nuclear/citoplasmática. Por tanto, la tinción citoplasmática o de la membrana de las CIM se incluye en la puntuación.



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

**Las CIM adyacentes son aquellas que se encuentran el mismo campo de aumento 20x que el tumor. Sin embargo, las CIM que NO están directamente relacionadas con la respuesta ante el tumor se deben excluir.

***Los macrófagos y los histiocitos se consideran las mismas células.

†Si el tumor se compone íntegramente de carcinoma papilar de bajo grado, debe marcarse así en el resultado.

††Bacilo de Calmette-Guérin

Tabla 9. Criterios de inclusión/exclusión del denominador de la CPS para carcinoma urotelial

Elementos tisulares	Incluidas en el denominador	Excluidas del denominador
Células tumorales	<ul style="list-style-type: none"> Todas las células tumorales viables, incluidas: <ul style="list-style-type: none"> Carcinoma papilar de alto grado Carcinoma in situ (CIS) Cualquier invasión serosa, de la capa muscular o de la lámina propia o Carcinoma metastásico 	<ul style="list-style-type: none"> Células tumorales necróticas o no viables Carcinoma papilar de bajo grado††
Células inmunitarias	<ul style="list-style-type: none"> No incluido 	<ul style="list-style-type: none"> Todas las células inmunitarias de cualquier tipo
Otras células	<ul style="list-style-type: none"> No incluido 	<ul style="list-style-type: none"> Células normales Células del estroma (incluidos fibroblastos)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		<ul style="list-style-type: none"> • Células necróticas y/o restos celulares
--	--	---

†† Si el tumor se compone íntegramente de carcinoma papilar de bajo grado, debe marcarse así en el resultado

Debe considerarse que la muestra tiene expresión de la PD-L1 si CPS ≥ 10 .

Consulte el manual de interpretación de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx de carcinoma urotelial para obtener instrucciones adicionales.


13.2.5 HNSCC: Interpretación de la CPS

Debe haber presente un mínimo de 100 células tumorales viables en el portaobjetos teñido con PD-L1 para que la muestra se considere adecuada para la evaluación de PD-L1.

En las tablas 10 y 11 se proporciona información acerca de los elementos tisulares que se incluyen y que se excluyen del numerador y del denominador de la CPS, respectivamente, en el HNSCC.

Tabla 10. Criterios de inclusión/exclusión del numerador de la CPS para HNSCC

Elementos tisulares	Incluido en el numerador	Excluido del numerador
Células tumorales	<ul style="list-style-type: none"> • Tinción obvia lineal parcial o completa de la membrana (de cualquier intensidad) de las células tumorales invasivas que sean viables 	<ul style="list-style-type: none"> • Células tumorales sin tinción • Células tumorales únicamente con tinción citoplasmática
Células inmunitarias	<ul style="list-style-type: none"> • Tinción citoplasmática* o de membrana (de cualquier intensidad) de las células 	<ul style="list-style-type: none"> • CIM sin tinción • CIM (incluidos agregados linfocíticos) relacionadas con



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	<p>inflamatorias mononucleares (CIM) dentro de los nidos de tumor y del estroma adyacente de sostén**:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Linfocitos (incluidos agregados linfocitarios) ○ Macrófagos*** <p>• Solo se contabilizan las CIM directamente relacionadas con la respuesta ante el tumor.</p>	<p>úlceras y otros procesos inflamatorios</p> <ul style="list-style-type: none"> • CIM relacionadas con carcinoma in situ • CIM relacionadas con estructuras benignas • Neutrófilos, eosinófilos y células plasmáticas
Otras células	<ul style="list-style-type: none"> • No incluido 	<ul style="list-style-type: none"> • Carcinoma in situ • Células benignas • Células del estroma (incluidos fibroblastos) • Células necróticas y/o restos celulares

En las CIM, en muchos casos no se logra distinguir la tinción citoplasmática y de la membrana debido a una elevada relación nuclear/citoplasmática. Por tanto, la tinción citoplasmática o de la membrana de las CIM se incluye en la puntuación.

**Las CIM adyacentes son aquellas que se encuentran el mismo campo de aumento 20x que el tumor. Sin embargo, las CIM que NO están directamente relacionadas con la respuesta ante el tumor se deben excluir.

***Los macrófagos y los histiocitos se consideran las mismas células.

Elementos tisulares	Incluidas en el denominador	Excluidas del denominador
Células tumorales		



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	<ul style="list-style-type: none"> • Todas las células tumorales invasivas viables 	<ul style="list-style-type: none"> • Células tumorales necróticas o no viables
Células inmunitarias	<ul style="list-style-type: none"> • No incluido 	<ul style="list-style-type: none"> • Todas las células inmunitarias de cualquier tipo
Otras células	<ul style="list-style-type: none"> • No incluido 	<ul style="list-style-type: none"> • Carcinoma in situ • Células benignas • Células del estroma (incluidos fibroblastos) • Células necróticas y/o restos celulares

Debe considerarse que la muestra tiene expresión de la PD-L1 si CPS ≥ 1 .

Puntuación Combined Positive Score			
Niveles de expresión de PD-L1	CPS <1	CPS ≥ 1	CPS ≥ 20

Consulte el manual de interpretación de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx para HNSCC a fin de obtener instrucciones adicionales.

13.2.6 TNBC: Interpretación de la CPS

Debe haber presente un mínimo de 100 células tumorales viables en el portaobjetos teñido con PD-L1 para que la muestra se considere adecuada para la evaluación de PD-L1.

En las tablas 12 y 13 se proporciona información acerca de los elementos tisulares que se incluyen y que se excluyen del numerador y del denominador de la CPS, respectivamente, en el TNBC.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

Elementos tisulares	Incluido en el numerador	Excluido del numerador
Células tumorales	<ul style="list-style-type: none"> • Tinción obvia lineal parcial o completa de la membrana (de cualquier intensidad) de las células tumorales invasivas que sean viables 	<ul style="list-style-type: none"> • Células tumorales sin tinción • Células tumorales únicamente con tinción citoplasmática • Carcinoma in situ (CDIS y LCIS)
Células inmunitarias	<ul style="list-style-type: none"> • Tinción citoplasmática* o de membrana (de cualquier intensidad) de las células inflamatorias mononucleares (CIM) dentro de los nidos de tumor y del estroma adyacente de sostén**: o Linfocitos (incluidos agregados linfocitarios) o Macrófagos*** • Solo se contabilizan las CIM directamente relacionadas con la respuesta ante el tumor. 	<ul style="list-style-type: none"> • CIM sin tinción • CIM asociadas a DCIS y LCIS • CIM relacionadas con estructuras benignas • CIM (incluidos agregados linfocíticos) no relacionadas directamente con la respuesta al tumor • Neutrófilos, eosinófilos y células plasmáticas
Otras células	<ul style="list-style-type: none"> • No incluido 	<ul style="list-style-type: none"> • Células epiteliales benignas • Células del estroma (incluidos fibroblastos) • Células necróticas y/o restos celulares



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

*En las CIM, en muchos casos no se logra distinguir la tinción citoplasmática y de la membrana debido a una elevada relación nuclear/citoplasmática. Por tanto, la tinción citoplasmática o de la membrana de las CIM se incluye en la puntuación.

**Las CIM adyacentes son aquellas que se encuentran el mismo campo de aumento 20x que el tumor. Sin embargo, las CIM que NO están directamente relacionadas con la respuesta ante el tumor se deben excluir.

***Los macrófagos y los histiocitos se consideran las mismas células.

Debe considerarse que la muestra tiene expresión de la PD-L1 si CPS ≥ 10 .

Consulte el manual de interpretación de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx para TNBC a fin de obtener instrucciones adicionales.

14. Interpretación de la tinción y de la puntuación para PD-L1 IHC 28-8 pharmDx

Para cada sesión de tinción, deben examinarse los portaobjetos del modo presentado en la Tabla 2 para determinar la validez de la sesión de tinción y permitir una evaluación de la tinción del tejido muestra.

En la Tabla 1 se resume la interpretación de la tinción para PD-L1 IHC 28-8 pharmDx según los tipos de tumor.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tabla 1: Interpretación de la tinción

Interpretación de la tinción PD-L1 IHC 28-8 pharmDx*		
<p>La evaluación de los portaobjetos debe ser realizada por un patólogo, con un microscopio óptico. Para la evaluación de la tinción y la puntuación inmunohistoquímicas de PD-L1, se puede utilizar un objetivo de 4 aumentos para la valoración inicial de la muestra completa, seguido de objetivos de 10-20 aumentos para la puntuación (si es necesario, se puede utilizar de 40 para confirmación). La tinción para PD-L1 se indica con un producto de reacción (3,3'-diaminobencidina, DAB) marrón.</p> <p>La expresión de la proteína PD-L1 se define como el porcentaje de células tumorales evaluables que muestran tinción lineal parcial o completa de la membrana plasmática en cualquier intensidad.</p> $\% \text{ de expresión de PD-L1} = \frac{\text{N.º de células tumorales teñidas}}{\text{N.º total de células tumorales viables}} \times 100$ <p>Debe evaluarse la muestra completa. Todas las células tumorales viables del portaobjetos del paciente con tinción de PD-L1 deben evaluarse e incluirse en la evaluación de la puntuación de PD-L1. Debe haber presente un mínimo de 100 células tumorales viables en el portaobjetos del paciente con tinción de PD-L1 para determinar el porcentaje de células teñidas. Consulte las secciones de este prospecto sobre cómo interpretar la tinción de cada tipo de tumor para obtener pautas más detalladas.</p> <p>La tinción citoplasmática, si la hay, no se considera a efectos de puntuación. También se pueden teñir inmunocitos y células benignas (p. e., al infiltrar linfocitos o macrófagos) con PD-L1; sin embargo, no deben incluirse en la puntuación para la determinación de positividad para PD-L1.</p>		
Tipo de tumor	Consideraciones de puntuación adicionales	Niveles de expresión de PD-L1
NSCLC	N/A	≥1%
nsNSCLC	N/A	≥1%, ≥5%, ≥10%
Melanoma	La melanina se debe excluir de la puntuación de la tinción de la membrana plasmática. Puede resultar útil la comparación con un portaobjetos secuencial teñido con NCR para identificar y excluir el contenido de melanina.	≥1%

*Para obtener instrucciones adicionales sobre la puntuación de PD-L1, consulte las secciones de interpretación de la tinción de cada tipo de tumor que se muestran a continuación y el correspondiente manual de interpretación de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx para cada tipo de tumor.

14.1 Interpretación de la tinción: cáncer de pulmón de células no pequeñas no escamoso y escamoso (NSCLC)

Debe evaluarse la muestra completa. Todas las células tumorales viables del portaobjetos del paciente con tinción de PD-L1 deben evaluarse e incluirse en la evaluación de la puntuación de PD-L1. Debe haber presente un mínimo de 100 células tumorales viables en el portaobjetos del paciente con tinción de PD-L1 para determinar el porcentaje de células teñidas. Para las muestras de NSCLC, registre el porcentaje de células tumorales viables que muestran tinción lineal parcial o completa para PD-L1 de la membrana plasmática con cualquier intensidad.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matriculada Provincial N° 7.936

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

14.2 Interpretación de la tinción: melanoma


Debe evaluarse la muestra completa. Todas las células tumorales viables del portaobjetos del paciente con tinción de PD-L1 deben evaluarse e incluirse en la evaluación de la puntuación de PD-L1. Debe haber presente un mínimo de 100 células tumorales viables en el portaobjetos del paciente con tinción de PD-L1 para determinar el porcentaje de células teñidas.

NOTA: Cuando se interpretan muestras de paciente con melanoma, puede existir pigmentación de melanina marrón. La melanina debe excluirse al puntuar la tinción de la membrana plasmática; puede resultar útil la comparación con un portaobjetos secuencial teñido con NCR para identificar y excluir el contenido de melanina. Si una melanina muy elevada descarta la puntuación de la tinción de la membrana plasmática de células tumorales, puede excluirse la muestra de interpretación y considerarse indeterminada.

Para cada sesión de tinción, deben examinarse los portaobjetos del modo presentado en la Tabla 2 para determinar la validez de la sesión de tinción y permitir una evaluación de la tinción del tejido muestra.

15. Evaluación de los portaobjetos

Muestras	Exposición de motivos	Requisitos
1. H&E (Proporcionado por un laboratorio)	Se evalúa primero una tinción de hematoxilina y eosina (H&E) de la muestra de tejido para valorar la histología del tejido y la calidad de conservación.	PD-L1 IHC 22C3 / 28-8 pharmDx y la tinción H&E deben realizarse en secciones en serie del mismo bloque de parafina de la muestra. Las muestras tisulares deben estar intactas, bien conservadas y deben confirmar el tipo de tumor.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

<p>2. Portaobjetos con línea celular de control (Suministrado con el kit)</p>	<p>El portaobjetos con línea celular de control teñido con el anticuerpo primario de PD-L1 de PD-L1 IHC 22C3 / 28-8 pharmDx debe examinarse para asegurarse de que todos los reactivos funcionan correctamente.</p> <p>El portaobjetos con línea celular de control contiene el sedimento de la línea celular positiva para PD-L1 y el sedimento de la línea celular negativa para PD-L1.</p>	<p>Debe teñirse un portaobjetos con línea celular de control con PD-L1 Primary Antibody en cada sesión de tinción.</p> <p><i>Criterios de aceptación para NCI-H226 (línea celular de control positiva para PD-L1):</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Tinción de la membrana celular de ≥ 70 % de las células. • Intensidad de tinción media $\geq 2+$. • Tinción inespecífica con intensidad $< 1+$. <p><i>Criterios de aceptación para MCF-7 (línea celular de control negativa para PD-L1):</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Tinción no específica. • Tinción inespecífica con intensidad $< 1+$. Tenga en cuenta que en ocasiones puede observarse la tinción de unas pocas células en el sedimento celular MCF-7. Se aplican los siguientes criterios de aceptación: Es aceptable la presencia de ≤ 10 células totales con tinción de la membrana plasmática definida o con tinción citoplasmática
---	---	---



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		<p>con $\geq 1+$ de intensidad dentro de los límites del sedimento celular MCF-7.</p> <p>Si alguna de las líneas celulares de control no cumple estos criterios, todos los resultados de las muestras del paciente deberán considerarse no válidos.</p>
<p>3. Portaobjetos con tejido de control positivo (Proporcionado por un laboratorio)</p>	<p>A continuación deben examinarse los portaobjetos con tejido de control positivo teñidos con anticuerpo primario de PD-L1 y Negative Control Reagent. Estos portaobjetos verifican que el método de fijación y el proceso de recuperación del epítipo son efectivos. Los controles de tejido positivos conocidos solo deben utilizarse para la monitorización del rendimiento adecuado de los tejidos procesados y los reactivos del ensayo, NO como ayuda para realizar un diagnóstico específico de las muestras del paciente.</p>	<p>Los controles deben ser muestras procedentes de biopsia o quirúrgicas del mismo tipo de tumor que la muestra del paciente, fijadas, procesadas e incluidas tan rápido como sea posible de la misma forma que las muestras del paciente.</p> <p>Utilice muestras bien conservadas para la interpretación de los resultados de tinción, puesto que las células necróticas o degeneradas a menudo muestran tinción inespecífica. Los tejidos seleccionados para uso como controles de tejido positivos deben dar una tinción positiva de débil a moderada cuando se tiñen con PD-L1 de</p>



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		<p>forma que puedan detectarse cambios sutiles en la sensibilidad del ensayo. Deben incluirse dos portaobjetos de control de tejido positivo en cada sesión de tinción.</p> <p>Portaobjetos teñido con PD-L1: Se debe observar la presencia de tinción marrón de la membrana plasmática. La tinción no específica debe ser $\leq 1+$.</p> <p>Portaobjetos teñido con Negative Control Reagent: Sin tinción de membrana. La tinción inespecífica debe ser $\leq 1+$.</p> <p>Si los controles de tejido positivos no pueden demostrar una tinción positiva apropiada, los resultados de las muestras de la prueba deben considerarse no válidos.</p> <p>Consulte la sección 13.2.3 para obtener instrucciones adicionales acerca del tejido de control relacionado con cáncer cervical.</p>
--	--	---




Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

<p>4. Portaobjetos con tejido de control negativo (Proporcionado por un laboratorio)</p>	<p>A continuación deben examinarse los portaobjetos con tejido de control negativo (conocidos por ser negativos para PD-L1) teñidos con anticuerpo primario de PD-L1 y Negative Control Reagent para verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario. De forma alternativa, las porciones negativas de Positive Control Tissue pueden funcionar igual que Negative Control Tissue, aunque debe verificarlo el usuario.</p>	<p>Los controles deben ser muestras procedentes de biopsia o quirúrgicas del mismo tipo de tumor que la muestra del paciente, fijadas, procesadas e incluidas tan rápido como sea posible de la misma forma que las muestras del paciente.</p> <p>Deben incluirse dos portaobjetos de control de tejido negativo en cada sesión de tinción.</p> <p>Portaobjetos teñido con PD-L1: Sin tinción de membrana en las células tumorales. La tinción inespecífica debe ser $\leq 1+$.</p> <p>Portaobjetos teñido con Negative Control Reagent: Sin tinción de membrana. La tinción inespecífica debe ser $\leq 1+$.</p> <p>Si se produce tinción específica de la membrana celular en los portaobjetos con tejido de control negativo, los resultados de la muestra del paciente deben considerarse no válidos.</p>
--	---	---



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		Consulte la sección 13.2.3 para obtener instrucciones adicionales acerca del tejido de control relacionado con cáncer cervical.
5. Tejido de control de amígdala (opcional) (Proporcionado por un laboratorio)	Utilice tejido de amígdala humana fijado, procesado e incluido de forma similar a la muestra o muestras del paciente como material de control adicional para verificar la sensibilidad, especificidad y la tinción de fondo inespecífica del ensayo.	Debe detectarse una tinción positiva intensa en porciones del epitelio de la cripta y una tinción de débil a moderada de los macrófagos foliculares en los centros germinales. Debe observarse una tinción negativa en el endotelio, los fibroblastos y el epitelio superficial.
6. Portaobjetos con tejido del paciente teñido con Negative Control Reagent	Examine las muestras del paciente teñidas con Negative Control Reagent de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Se utiliza Negative Control Reagent en lugar del anticuerpo primario y sirve de ayuda en la interpretación de la tinción específica en la zona del antígeno.	La ausencia de tinción de la membrana celular verifica el marcado específico del antígeno diana por parte del anticuerpo primario. La tinción inespecífica debe ser $\leq 1+$.
7. Portaobjetos con tejido del paciente teñido con el anticuerpo primario anti-PDL1	Examine por último todo el portaobjetos de las muestras del paciente teñidas con el anticuerpo primario de PD-L1 IHC 22C3 / 28-8 pharmDx. Consulte las secciones Resumen y explicación, Limitaciones y Características de resultados para obtener información específica respecto a la inmunorreactividad de PD-L1 IHC 22C3 /28-8 pharmDx.	Debe evaluarse la intensidad de tinción positiva dentro del contexto de una tinción de fondo inespecífica observada en el portaobjetos del Negative Control Reagent del paciente en la misma sesión. Igual que con cualquier prueba inmunohistoquímica, un


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.936


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

		<p>resultado negativo significa que el antígeno no se ha detectado, y no necesariamente que esté ausente de las células o el tejido sometido a ensayo. Todas las células tumorales viables del portaobjetos del paciente con tinción de PD-L1 deben evaluarse e incluirse en la evaluación de la puntuación de PD-L1. Debe haber presente un mínimo de 100 células tumorales viables para que la muestra se considere adecuada para la evaluación de PD-L1.</p> <p>Consulte la sección 13 para conocer las pautas de interpretación de la puntuación en la expresión de PD-L1.</p>
--	--	--



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

15. Limitaciones

15.1 Limitaciones generales

1. Únicamente para uso con prescripción médica.
2. La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico de varias etapas que requiere formación especializada en la selección de los reactivos apropiados; la selección, la fijación y el procesamiento de tejidos; la preparación del portaobjetos de inmunohistoquímica, y la interpretación de los resultados de la tinción.
3. El resultado de la tinción de tejidos depende de la manipulación y el procesamiento que se haga del tejido antes de su tinción. Los procedimientos incorrectos de fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento, corte o contaminación con otros tejidos o fluidos, pueden producir artefactos, el atrapamiento de anticuerpos o resultados falsos negativos. Los resultados incoherentes pueden deberse a variaciones en los métodos de fijación e inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.
4. Una contratinción excesiva o incompleta puede invalidar la interpretación correcta de los resultados.
5. La interpretación clínica de cualquier tinción para PD-L1 debe ser evaluada en el contexto de la presentación clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de toda tinción, o de su ausencia, debe complementarse con estudios morfológicos y controles adecuados, así como con otras pruebas diagnósticas. Un anatomopatólogo certificado y familiarizado con los anticuerpos, reactivos y métodos utilizados, debe responsabilizarse de interpretar la preparación teñida. La tinción debe realizarse en un laboratorio certificado y con licencia, bajo la supervisión de un anatomopatólogo responsable de la revisión de los portaobjetos teñidos y de garantizar la corrección de los controles positivos y negativos.
6. Es posible que los tejidos de las personas infectadas con el virus de la hepatitis B y con antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg) muestren una tinción inespecífica con peroxidasa.²⁰
7. Los reactivos pueden mostrar reacciones imprevistas en tipos de tejidos no probados previamente. La posibilidad de reacciones imprevistas incluso en tipos de tejido probados



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

no puede eliminarse por completo, debido a la variabilidad de la expresión del antígeno en las neoplasias u otros tejidos patológicos. En caso de obtener resultados inesperados, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Agilent.

8. Pueden observarse resultados falsos positivos debidos a un ligamiento no inmunológico de las proteínas o de los productos de reacción del sustrato. También pueden producirse por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos) y la actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C).20

9. Los reactivos y las instrucciones suministradas con este sistema se han diseñado para obtener resultados óptimos. Una mayor dilución de los reactivos o la modificación de los tiempos de incubación o de las temperaturas pueden producir resultados erróneos o incoherentes.

15.2 Limitaciones específicas del producto PD-L1 IHC 22C3 pharmDx

1. Es posible que la degradación del antígeno en los tejidos provoque con el tiempo resultados falsos negativos. Las muestras se deben teñir según las recomendaciones de almacenamiento de cortes de tejido (consulte la sección 8.2).

2. Para obtener resultados óptimos y reproducibles, la proteína PD-L1 requiere pretratamiento para recuperación antigénica cuando los tejidos se fijan de manera estándar (formol tamponado neutro) y se incluyen en parafina.

3. No reemplace reactivos de números de lote distintos de este producto, o de kits de otros fabricantes. La única excepción es EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x), que está disponible, si es necesario, con el n.º de catálogo K8005.

4. Las líneas celulares de control de tinción deben usarse solo para la validación de la sesión de tinción. No deben usarse para puntuar la reacción a la tinción en cortes de tejido.

5. El empleo de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en tejidos con fijadores diferentes al formol no ha sido validado.

6. El empleo de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en aspiraciones con aguja fina no ha sido validado.

7. El empleo de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en tejidos descalcificados no ha sido validado.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

8. El estudio clínico sobre el adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica fue realizado con indicaciones de obtener entre 3 y 5 biopsias tisulares con aguja gruesa por paciente. Se desconoce la fiabilidad de la determinación del nivel de expresión de PD-L1 de los pacientes si se analizan menos biopsias de las indicadas. Consulte la sección 13.2 para obtener información sobre la interpretación de la puntuación.

9. El estudio clínico sobre el carcinoma urotelial fue realizado con indicaciones de obtener entre 3 y 5 biopsias tisulares con aguja gruesa por paciente. Se desconoce la fiabilidad de la determinación del nivel de expresión de PD-L1 de los pacientes si se analizan menos biopsias de las indicadas. Consulte la sección 13.2 para obtener información sobre la interpretación de la puntuación.

10. Si no se detecta expresión de PD-L1 en una muestra de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica archivada*, evalúe las posibilidades de obtener una biopsia tumoral adicional para las pruebas de PD-L1. (consulte la Tabla 28 de la sección 16.5, Evaluación del rendimiento clínico).

11. Los médicos deberían tener precaución al interpretar los resultados de las pruebas en el valor de corte de CPS ≥ 20 , ya que PD-L1 IHC 22C3 pharmDx no cumplió los criterios de aceptación especificados previamente para el porcentaje de concordancia positiva en dos estudios de reproducibilidad intercentro independientes y el porcentaje de concordancia general en un estudio de reproducibilidad intercentro llevado a cabo en muestras de HNSCC en el valor de corte de CPS ≥ 20 . Todos los criterios de aceptación especificados previamente se cumplieron en el estudio de reproducibilidad intercentro independiente llevado a cabo en muestras de HNSCC en el valor de corte de CPS ≥ 1 .

12. Los laboratorios deben prestar especial atención al pH de Target Retrieval Solution para el pretratamiento de las muestras de ESCC, ya que un pH de 5.9 puede afectar al rendimiento de la tinción para PD-L1.

13. En los estudios realizados para evaluar el uso de TRS hasta 3 veces en el cáncer esofágico no se cumplieron los criterios de aceptación para la evaluación cualitativa del estado de expresión de PD-L1, por tanto, no se recomienda la reutilización de TRS en muestras de ESCC.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

*En el contexto del ensayo clínico KN059, el término "biopsia reciente" se definió como una muestra obtenida hasta 6 semanas (42 días) antes del comienzo del tratamiento el día 1 (ciclo 1) con KEYTRUDA y sin haber administrado ningún otro tratamiento contra el cáncer después de obtener la muestra. Las muestras con una antigüedad >42 días se clasificaron como archivadas.



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

15.3 Limitaciones específicas del producto PD-L1 IHC 28-8 pharmDx

1. Es posible que la degradación del antígeno en los tejidos provocase con el tiempo resultados falsos negativos. Los cortes de tejido, una vez montados en portaobjetos, deben estar protegidos de la luz a 2-8 °C, o a temperatura ambiente hasta 25 °C, y deben teñirse en un periodo de 4 meses tras ser cortados. Las condiciones de almacenamiento y manipulación de portaobjetos no deben superar los 25 °C en ningún momento tras el montaje para garantizar la integridad y antigenicidad del tejido.
2. Para obtener resultados óptimos y reproducibles, la proteína PD-L1 requiere pretratamiento para recuperación antigénica cuando los tejidos se fijan en formol tamponado neutro y se incluyen en parafina.
3. No reemplace reactivos de números de lote distintos de este producto, o de kits de otros fabricantes. La única excepción es EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x), que está disponible, si es necesario, con el n.º de catálogo K8005.
4. Los portaobjetos de control de tinción deben utilizarse exclusivamente para validar la secuencia de tinción y no como guía para puntuar la reacción de tinción en secciones de tejidos de pacientes.
5. El empleo de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx en tejidos con fijadores diferentes al formol tamponado neutro al 10% no ha sido validado.
6. Las biopsias con aguja por escisión, incisión, en sacabocados o con aguja gruesa se consideraron tipos de muestras aceptables para los ensayos clínicos con PD-L1 IHC 28-8 pharmDx. Los aspirados con aguja fina u otras muestras citológicas eran insuficientes para análisis de biomarcadores y se excluyeron de los ensayos clínicos que utilizaban PD-L1 IHC 28-8 pharmDx.

16. Método de evaluación del producto empleado por el establecimiento elaborador y resultados que expresen las características específicas de desempeño para PDL1 IHC 22C3 pharmDX

16.1. Evaluación del rendimiento no clínico: Tejidos normales y neoplásicos



Two signatures are shown side-by-side. The signature on the left is in blue ink and is followed by the text: "Bióq. Alida Lucía Álvarez", "Directora Técnica", and "Matrícula Provincial N° 7.938". The signature on the right is also in blue ink and is followed by the text: "ALEJANDRO BOGNOVICH", "ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.", and "APODERADO".

Tejidos normales: En la Tabla 15 se resume la inmunorreactividad de Monoclonal Mouse Anti-PD-L1, Clon 22C3 en el panel recomendado de tejidos normales. Se observó tinción de la membrana plasmática en inmunocitos y células de origen epitelial. Se observó tinción citoplasmática en algunos tipos de células pero no se registró como tinción positiva. Todos los tejidos fueron FFPE y se tiñeron con PDL1 IHC 22C3 pharmDx, según estas instrucciones de uso. No se observaron resultados inesperados en los tipos de células o los tipos de tejidos analizados. La tinción observada coincidió con la encontrada en las publicaciones mencionadas para la expresión IHC de PD-L1 en tejidos normales

Tabla 15. Resumen de la reactividad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en tejido normal.

Tissue Type (Tipo de tejido) (n.º analizado)	Tinción de membrana plasmática positiva: Elementos tisulares	Tinción citoplasmática positiva: Elementos tisulares	Tinción inespecífica
Amígdala (3)	3/3 epitelio de la cripta 2/3 centro germinal (macrófagos)	0/3	0/3
Bazo (3)	2/3 macrófagos	0/3	0/3
Células mesoteliales (3)	0/3	0/3	0/3
Cerebelo (3)	0/3	0/3	0/3
Cerebro (3)	0/3	0/3	0/3
Colon (3)	2/3 macrófagos	0/3	0/3
Cuello uterino (3)	1/3 epitelio	0/3	0/3
Esófago (3)	0/3	0/3	0/3
Estómago (3)	2/3 linfocitos 1/3 glándulas gástricas	1/3 glándulas gástricas 1/3 glándulas gástricas	0/3
Glándula salivar (3)	0/3	0/3	0/3



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Hígado (3)	1/3 macrófagos 1/3 hepatocitos	0/3	0/3
Hipófisis (3)	1/3 hipófisis anterior 1/3 hipófisis posterior	1/3 hipófisis anterior 1/3 hipófisis posterior	0/3
Intestino delgado (3)	0/3	0/3	0/3
Mama (3)	0/3	0/3	0/3
Médula ósea (3)	3/3 megacariocitos	3/3 megacariocitos	0/3
Músculo, cardíaco (3)	0/3	0/3	0/3
Músculo, esquelético (3)	0/3	0/3	0/3
Nervio, periférico (3)	0/3	1/3 tejido conectivo/vasos	0/3
Ovario (3)	0/3	0/3	0/3
Páncreas (3)	0/3	0/3	0/3
Paratiroides (3)	1/3 epitelio glandular	0/3	0/3
Piel (3)	0/3	0/3	0/3
Próstata (3)	3/3 epitelio	0/3	0/3
Pulmón (3)	3/3 macrófagos alveolares	0/3	0/3
Riñón (3)	1/3 epitelio tubular	0/3	0/3
Suprarrenal (3)	0/3	1/3 células medulares	0/3
Testículo (3)	0/3	0/3	0/3
Timo (3)	3/3 epitelio medular	0/3	0/3
Tiroides (3)	0/3	0/3	0/3
Útero (3)	0/3	0/3	0/3
Vejiga (3)	0/3	0/3	0/3

Tejidos neoplásicos: En la Tabla 16 se resume la inmunorreactividad de Monoclonal Mouse Anti-PD-L1, Clon 22C3 en un panel de tejidos neoplásicos. Se observó tinción de la membrana plasmática en inmunocitos y células de origen epitelial. Se observó tinción citoplasmática en algunos tipos de células pero no se registró como tinción positiva. Todos


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.936


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

los tejidos fueron FFPE y se tiñeron con PDL1 IHC 22C3 pharmDx, según estas instrucciones de uso. No se observaron resultados inesperados en las muestras de tumores analizadas. La tinción observada coincidió con la encontrada en las publicaciones mencionadas para la expresión IHC de PD-L1 en tejidos neoplásicos.

Tabla 16. Resumen de la reactividad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en tejido neoplásico

Tipo de tumor	Location (Ubicación)	Positivo para PD-L1/total N=159
Adenocarcinoma	Apéndice	0/1
	Cabeza y cuello, bóveda del paladar	0/1
	Colon	0/5
	Colon, con metástasis en el hígado	0/1
	Colon, mucinoso	0/1
	Cuello uterino, tipo endocervical	0/1
	Esófago	0/1
	Estómago	0/6
	Estómago, mucinoso	0/1
	Gastrointestinal, con metástasis en el pulmón	0/1
	Glándula parótida/salival	0/2
	Intestino delgado	0/2
	Mama, DCIS	0/2
	Mama, ductal invasivo	0/7
	Mama, ductal invasivo con metástasis en el ganglio linfático	0/1
	Ovario, endometriode	0/1
	Ovario, mucinoso	0/1



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	Ovario, seroso	0/1
	Ovarios	0/1
	Páncreas	0/2
	Páncreas, ductal	0/3
	Próstata	0/5
	Pulmón	1/4
	Recto	0/4
Adenocarcinoma	Tiroides, folicular	0/1
	Tiroides, folicular papilar	0/1
	Tiroides, papilar	0/3
	Útero, célula clara	0/1
	Útero, endometrio	0/3
	Vesícula biliar	1/5
Astrocitoma	Cerebro	0/3
Carcinoma	Nasofaríngeo, NPC	0/1
Carcinoma corticosuprarrenal	Suprarrenal	0/1
Carcinoma de células basales	Piel	0/1
Carcinoma de células en anillo de sello	Carcinoma de células en anillo de sello de colon con metástasis en el ovario	0/1
	Colon	0/1
Carcinoma de células escamosas	Cabeza y cuello	0/2
	Carcinoma de células escamosas de esófago con metástasis en el ganglio linfático	0/1
	Cuello uterino	2/5
	Esófago	0/7
	Piel	0/2
	Pulmón	1/2
	Útero	0/1



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Carcinoma de células pequeñas	Pulmón	0/1
Carcinoma de células renales		
Célula clara	Riñón	0/6
Papilar	Riñón	0/1
Carcinoma de células transicionales	Riñón	0/1
	Vejiga	0/6
Carcinoma embrionario	Testículo	0/1
Carcinoma hepatocelular	Hígado	0/5
Carcinoma medular	Tiroides	0/1
Condrosarcoma	Hueso	0/1
Cordoma	Cavidad pélvica	0/1
Ependimoma	Cerebro	0/1
Espermatocitoma	Testículo	0/2
Feocromocitoma	Suprarrenal	0/1
Glioblastoma	Cerebro	0/1
Hepatoblastoma	Hígado	0/1
Insulinoma	Páncreas	0/1
Leiomiomasarcoma	Tejido blando, pared torácica	0/1
	Vejiga	0/1
Linfoma		
Anaplásico de células grandes	Ganglio linfático	0/1
Difuso de células B	Ganglio linfático	0/4
Hodgkin	Ganglio linfático	2/2
No Hodgkin	Ganglio linfático	1/1
Meduloblastoma	Cerebro	0/1
Melanoma	Cavidad nasal	0/1
Recto		0/1
Meningioma	Cerebro	0/2
Mesotelioma	Peritoneo	0/1



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Neuroblastoma	Retroperitoneo	0/1
Neurofibroma	Tejido blando, región lumbar	0/1
Osteosarcoma	Hueso	0/2
Rabdomiosarcoma	Próstata	0/1
	Retroperitoneo	0/1
	Tejido blando, embrionario	0/1
Sarcoma sinovial	Cavidad pélvica	0/1
Seminoma	Testículo	0/2
Timoma	Mediastino	1/1
Tumor intersticial	Colon	0/1
	Intestino delgado	0/1
	Recto	0/1
Tumor neuroectodérmico primitivo (PNET)	Retroperitoneo	0/1

16.2 Evaluación del rendimiento no clínico: NSCLC

16.2.1 Sensibilidad/especificidad analítica

La sensibilidad analítica de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se analizó en 127 casos únicos de muestras FFPE de NSCLC en los estadios del I a IV con un lote de producción fabricado. La evaluación de la expresión de PD-L1 mostró tinción en un rango de 0-100,0 % de células tumorales positivas y de 0-3 de intensidad de la tinción.

16.2.2 Precisión: NSCLC

La precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se evaluó en Agilent. El porcentaje de concordancia negativa media (ANA), el porcentaje de concordancia positiva media (APA) y la concordancia general (OA) se calcularon con intervalos de confianza bilaterales del 95 % con el método bootstrap de percentiles para un valor de corte de TPS ≥ 1 % y ≥ 50 %. Para los estudios que dieron como resultado un 100,0 % de concordancia, el porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el porcentaje de concordancia general (OA) se calcularon con los correspondientes intervalos de



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

confianza bilaterales del 95 %, con el método de puntuación Wilson Score para valores de corte de TPS ≥ 1 % y ≥ 50 %.

Tabla 17. Precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx analizado en un centro (TPS ≥ 1 %)

Estudio de precisión	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Interinstrumento	TPS ≥ 1 %	Se analizaron las 24 muestras de NSCLC (12 negativas para PD-L1 y 12 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con 6 instrumentos Autostainer Link 48.	NPA 100,0 % (94,0-100,0 %) PPA 100,0 % (94,0-100,0 %) OA 100,0 % (96,9-100,0 %)
Interoperador	TPS ≥ 1 %	Se analizaron las 24 muestras de NSCLC (12 negativas para PD-L1 y 12 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 por 6 analistas con 1 instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100,0 % (93,9-100,0 %) PPA 100,0 % (94,0-100,0 %) OA 100,0 % (96,9-100,0 %)
Interdía	TPS ≥ 1 %	Se analizaron las 24 muestras de NSCLC (12 negativas para PD-L1 y 12 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 se analizó en 6 días no consecutivos utilizando el instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100,0 % (94,0-100,0 %) PPA 100,0 % (94,0-100,0 %) OA 100,0 % (96,9-100,0 %)
Interlote	TPS ≥ 1 %	Se analizaron las 24 muestras de NSCLC (13	ANA 98,3 % (95,9-100,0 %)


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		negativas para PD-L1 y 11 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con 3 repeticiones y 3 lotes de reactivos con el instrumento Autostainer Link 48.	APA 97,9 % (94,6-100,0 %) OA 98,1 % (95,3-100,0 %)
(Repetibilidad) intraensayo	TPS \geq 1 %	Se analizaron las 24 muestras de NSCLC (12 negativas para PD-L1 y 12 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con 6 repeticiones en la misma sesión en un instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100,0 % (94,0-100,0 %) PPA 100,0 % (93,8-100,0 %) OA 100,0 % (96,8-100,0 %)

NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva; OA = porcentaje de concordancia general

ANA = porcentaje de concordancia negativa media; APA = porcentaje de concordancia positiva media; TPS = Tumor Proportion Score



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tabla 18. Precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx analizado en un centro (TPS \geq 50 %)

Estudio de precisión	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Interinstrumento	TPS \geq 50 %	Se analizaron las 16 muestras de NSCLC (10 negativas para PD-L1 y 6 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con 6 instrumentos Autostainer Link 48.	NPA 100,0 % (92,9-100,0 %) PPA 100,0 % (88,6-100,0 %) OA 100,0 % (95,4-100,0 %)
Interoperador	TPS \geq 50 %	Se analizaron las 16 muestras de NSCLC (10 negativas para PD-L1 y 6 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 por 6 analistas con 1 instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100,0 % (92,7-100,0 %) PPA 100,0 % (88,6-100,0 %) OA 100,0 % (95,4-100,0 %)
Interdía	TPS \geq 50 %	Se analizaron las 16 muestras de NSCLC (10 negativas para PD-L1 y 6 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 se analizó en 6 días no consecutivos utilizando el instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100,0 % (92,9-100,0 %) PPA 100,0 % (88,6-100,0 %) OA 100,0 % (95,4-100,0 %)
Interlote	TPS \geq 50 %	Se analizaron las 16 muestras de NSCLC (8	NPA 100,0 % (92,6-100,0 %) PPA 100,0 % (92,6-100,0 %)


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		negativas para PD-L1 y 8 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con 3 repeticiones y 3 lotes de reactivos con el instrumento Autostainer Link 48.	OA 100,0 % (96,2-100,0 %)
(Repetibilidad) intraensayo	TPS \geq 50 %	Se analizaron las 16 muestras de NSCLC (10 negativas para PD-L1 y 6 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con 6 repeticiones en la misma sesión en un instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100,0 % (92,9-100,0 %) PPA 100,0 % (88,6-100,0 %) OA 100,0 % (95,4-100,0 %)
Intradía	TPS \geq 50 %	Se analizaron las 16 muestras de NSCLC (10 negativas para PD-L1 y 6 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 se analizó en 2 sesiones en el mismo día, repetidas durante 3 días, usando el instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100,0 % (88,3-100,0 %) PPA 100,0 % (82,4-100,0 %) OA 100,0 % (92,4-100,0 %)

NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva; OA = porcentaje de concordancia general; TPS = Tumor Proportion Score



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

16.2.3 Reproducibilidad externa: NSCLC

La reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se evaluó en tres centros de análisis externos. Se calcularon las concordancias medias ya que no existen referencias naturales en los parámetros de reproducibilidad como centro y observador. El porcentaje de concordancia negativa media (ANA), el porcentaje de concordancia positiva media (APA) y la concordancia general (OA) se calcularon con intervalos de confianza bilaterales del 95 % con el método bootstrap de percentiles para un valor de corte de TPS $\geq 1\%$ y $\geq 50\%$.

Tabla 19. Reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx analizado en tres centros externos (TPS $\geq 1\%$)

Estudio de reproducibilidad	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Intercentro	TPS $\geq 1\%$	Se analizaron las 36 muestras de NSCLC (16 negativas para PD-L1 y 20 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en 5 días no consecutivos. Se realizaron análisis intercentro entre 3 centros en un total de 2700 comparaciones por pares.	ANA 94,8 % (90,3-98,4 %) APA 95,5 % (91,2-98,7 %) OA 95,2 % (90,8-98,6 %)
Intracentro	TPS $\geq 1\%$	Se analizaron las 36 muestras de NSCLC (16 negativas para PD-L1 y 20 positivas para PD-L1) con un intervalo de	ANA 96,2 % (94,1-97,5 %) APA 96,7 % (95,0-97,9 %) OA 96,5 % (95,2-97,4 %)



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		expresión IHC de PD-L1 en 5 días no consecutivos en cada uno de los 3 centros de estudio. Se realizaron análisis intracentro en 3 centros en un total de 1080 comparaciones por pares.	
Interobservador	TPS \geq 1 %	La puntuación de 62 muestras de NSCLC (28 negativas para PD-L1 y 34 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, 1 en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 días no consecutivos. Se realizaron análisis interobservador entre 3 centros en un total de 1674 comparaciones por pares.	ANA 85,8 % (79,3-91,8 %) APA 88,2 % (82,2-93,3 %) OA 87,1 % (81,0-92,6 %)
Intraobservador	TPS \geq 1 %	La puntuación de 62 muestras de NSCLC (28 negativas para PD-L1 y 34 positivas para PD-L1) con un intervalo de	ANA 93,7 % (90,0-96,1 %) APA 94,8 % (91,6-96,7 %) OA 94,3 % (92,0-95,9 %)



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		<p>expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, 1 en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 días no consecutivos. Se realizaron análisis intraobservador en 3 centros en un total de 558 comparaciones por pares.</p>	
--	--	--	--

ANA = porcentaje de concordancia negativa media; APA = porcentaje de concordancia positiva media; OA = porcentaje de concordancia general; TPS = Tumor Proportion Score

Tabla 20. Reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx analizado en tres centros externos (TPS \geq 50 %)

Estudio de reproducibilidad	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Intercentro	TPS \geq 50 %	Se analizaron las 36 muestras de NSCLC (21 negativas para PD-L1 y 15 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en 5 días no consecutivos. Se	ANA 90,3 % (84,4-95,2 %) APA 85,2% (75,6-92,9%) OA 88,3 % (81,4-94,3 %)



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		realizaron análisis intercentro entre 3 centros en un total de 2700 comparaciones por pares.	
Intracentro	TPS ≥50 %	Se analizaron las 36 muestras de NSCLC (21 negativas para PD-L1 y 15 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en 5 días no consecutivos en cada uno de los 3 centros de estudio. Se realizaron análisis intracentro en 3 centros en un total de 1080 comparaciones por pares.	ANA 91,9 % (88,8-94,8 %) APA 87,6 % (82,5-92,2 %) OA 90,2 % (86,3-93,7 %)
Interobservador	TPS ≥50 %	La puntuación de 62 muestras de NSCLC (30 negativas para PD-L1 y 32 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, 1 en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 días no consecutivos. Se realizaron análisis	ANA 92,6 % (87,8-96,7 %) APA 92,8 % (88,1-96,8 %) OA 92,7 % (88,1-96,8 %)



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		interobservador entre 3 centros en un total de 1674 comparaciones por pares.	
Intraobservador	TPS \geq 50 %	La puntuación de 62 muestras de NSCLC (30 negativas para PD-L1 y 32 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, 1 en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 días no consecutivos. Se realizaron análisis intraobservador en 3 centros en un total de 558 comparaciones por pares.	ANA 96,4 % (94,0-98,5 %) APA 96,5 % (94,3-98,6 %) OA 96,4 % (94,3-98,6 %)

ANA = porcentaje de concordancia negativa media; APA = porcentaje de concordancia positiva media; OA = porcentaje de concordancia general; TPS = Tumor Proportion Score.

16.3 Evaluación del rendimiento clínico: NSCLC

KN042: Tratamiento de primera línea para NSCLC metastásico como agente único

Se investigó la eficacia de KEYTRUDA en KEYNOTE-042 (NCT02220894), un ensayo comparativo con tratamiento activo, aleatorizado, abierto y multicéntrico realizado en 1274 pacientes con NSCLC en estadio III que no eran candidatos para resección quirúrgica o quimiorradioterapia definitiva, o NSCLC metastásico cuyos tumores expresaban PD-L1 (TPS \geq 1 %) en un ensayo inmunohistoquímico con el kit PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, y que



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matriculada Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

no habían recibido tratamiento sistémico para NSCLC metastásico.³ Los pacientes con anomalías genómicas tumorales del EGFR o de ALK, con enfermedad autoinmunitaria que requería terapia sistémica a los 2 años de tratamiento, con una afección médica que requería inmunodepresión, o los pacientes que habían recibido más de 30 Gy de radiación torácica en las 26 semanas anteriores no pudieron participar en el estudio. La aleatorización se estratificó según el estado de rendimiento ECOG (0 frente a 1), la histología (escamoso frente a no escamoso), la región geográfica (sureste asiático frente a fuera del sureste asiático) y la expresión de PD-L1 (TPS \geq 50 % frente a TPS de 1 a 49 %). Se aleatorizó a los pacientes (1:1) para recibir KEYTRUDA 200 mg por vía intravenosa cada 3 semanas o la selección del investigador de uno de los siguientes tratamientos con quimioterapia a base de platino:

- Pemetrexed 500 mg/m² cada 3 semanas y ABC de carboplatino de 5 a 6 mg/ml/min cada 3 semanas en el día 1 para un máximo de 6 ciclos seguidos de pemetrexed opcional 500 mg/m² cada 3 semanas en pacientes con histologías no escamosas;
- Paclitaxel 200 mg/m² cada 3 semanas y ABC de carboplatino de 5 a 6 mg/ml/min cada 3 semanas en el día 1 para un máximo de 6 ciclos seguidos de pemetrexed opcional 500 mg/m² cada 3 semanas en pacientes con histologías no escamosas.

El tratamiento con KEYTRUDA continuó hasta llegar a una progresión de la enfermedad de acuerdo con RECIST v1.1 (modificado para seguir un máximo de 10 lesiones objetivo y un máximo de 5 lesiones objetivo por órgano), una toxicidad no aceptable o un máximo de 24 meses. Se permitió la administración de KEYTRUDA después de la progresión de la enfermedad de acuerdo con RECIST, si el paciente estaba estable clínicamente y si podía obtener beneficios clínicos según lo determinado por el investigador. El tratamiento con KEYTRUDA se pudo volver a iniciar en el momento de la progresión de la enfermedad y a administrar durante hasta 12 meses. La evaluación del estado del tumor se realizó cada 9 semanas. El criterio de valoración de eficacia principal fue la SG. Los criterios de valoración de eficacia adicionales fueron la SSP y la TRO evaluadas mediante una revisión BICR según los criterios RECIST v1.1, modificados para seguir un máximo de 10 lesiones objetivo y un máximo de 5 lesiones objetivo por órgano.



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Las características de la población del estudio fueron: Mediana de edad de 63 años (intervalo: de 25 a 90), 45 % de mayores de 65 años; 71 % de varones; 64 % de raza blanca, 30 % de origen asiático y 2 % de raza negra. El 19 % fueron hispanos o latinos. El 69 % tenía un estado de rendimiento ECOG de 1; el 39 % tenía histología escamosa y el 61 % no escamosa; el 87 % presentaba enfermedad de tipo M1 y el 13 % presentaba estadio IIIA (2 %) o estadio IIIB (11 %) que no eran candidatos a resecciones quirúrgicas o quimiorradioterapia definitiva según la evaluación del investigador; y el 5 % tenía metástasis cerebral al inicio del estudio. El 47 % de los pacientes presentaba NSCLC con TPS ≥ 50 % y el 53 % presentaba NSCLC con TPS del 1 al 49 %.

Con el ensayo se demostró una mejora estadísticamente significativa en la SG en el caso de pacientes aleatorizados con KEYTRUDA en comparación con quimioterapia. En la Tabla 21 y la Figura 1 se resumen los resultados de eficacia en el subgrupo de pacientes con TPS ≥ 50 % y en todos los pacientes aleatorizados con TPS ≥ 1 %.

Tabla 21. Resultados de eficacia de todos los pacientes aleatorizados (TPS ≥ 1 % y TPS ≥ 50 %) en KEYNOTE 042

Criterio de valoración	TPS ≥ 1 %		TPS ≥ 50 %	
	KEYTRUDA 200 mg/kg, cada 3 semanas n=637	Quimioterapia n=637	KEYTRUDA 200 mg/kg, cada 3 semanas n=299	Quimioterapia n=300
SG				
Número de eventos (%)	371 (58 %)	438 (69 %)	157 (53 %)	199 (66 %)
Mediana en meses (IC del 95 %)	16,7 (13,9; 19,7)	12,1 (11,3; 13,3)	20,0 (15,4; 24,9)	12,2 (10,4; 14,2)
Cociente de riesgos instantáneos* (IC del 95 %)	0,81 (0,71; 0,93)		0,69 (0,56; 0,85)	
Valor p†	0,0036		0,0006	
SSP				


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Número de eventos (%)	507 (80 %)	506 (79 %)	221 (74 %)	233 (78 %)
Mediana en meses (IC del 95 %)	5,4 (4,3; 6,2)	6,5 (6,3; 7,0)	7,1 (5,9; 9,0)	6,4 (6,1; 6,9)
Cociente de riesgos instantáneos*, ‡ (IC del 95 %)	1,07 (0,94; 1,21)		0,81 (0,67; 0,99)	
Valor p†	- ‡		NS§	
Tasa de respuesta objetiva				
TRO‡ (IC del 95 %)	27 % (24, 31)	27 % (23, 30)	39 % (33,9, 45,3)	32 % (26,8, 37,6)
Tasa de respuesta completa	0,5 %	0,5 %	0,7 %	0,3 %
Tasa de respuesta parcial	27 %	26 %	39 %	32 %
Duración de la respuesta				
% con una duración ≥12 meses¶	47 %	16 %	42 %	17 %
% con una duración ≥18 meses¶	26 %	6 %	25 %	5 %

* Basado en el modelo de Cox de riesgo proporcional estratificado

† Basado en la prueba del orden logarítmico estratificada; en comparación con la frontera del valor p de 0,0291

‡ Importancia estadística no evaluada como resultado del procedimiento de análisis secuencial para los criterios de valoración secu

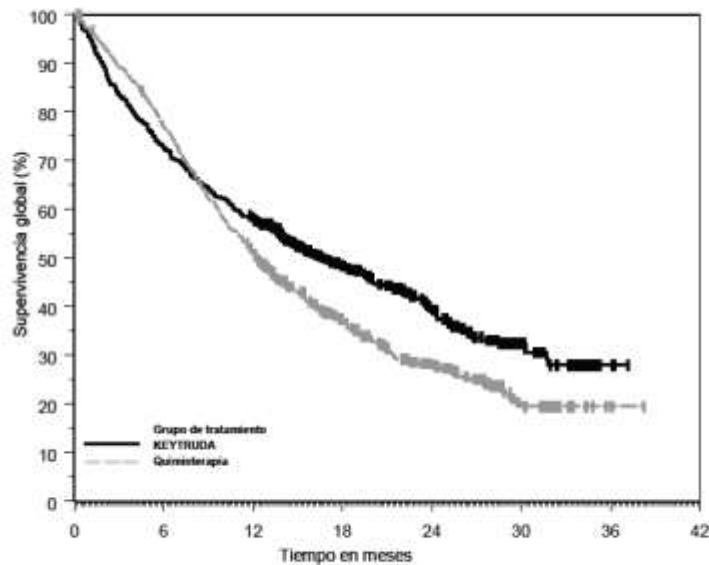
§ No significativo en comparación con una frontera del valor p de 0,0291

¶ Basado en la duración observada de la respuesta

En los análisis de subgrupos exploratorios predeterminados para los pacientes con NSCLC con TPS 1-49 %, la SG mediana fue de 13,4 meses (IC del 95 %: 10,7; 18,2) para el grupo de pembrolizumab y de 12,1 meses (IC del 95 %: 11,0; 14,0) para el grupo de quimioterapia, con un CRI de 0,92 (IC del 95 %: 0,77; 1,11).


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO



Número en riesgo:
 KEYTRUDA: 637 463 365 214 112 35 2 0
 Quimioterapia: 637 485 316 166 88 24 1 0
 Figura 1. Curva de Kaplan-Meier para la supervivencia global en todos los pacientes aleatorizados en KEYNOTE 042 (TPS ≥ 1 %)

KEYNOTE 024: Ensayo comparativo de tratamiento de primera línea de pacientes con NSCLC

La eficacia de KEYTRUDA se investigó en Trial 24, un ensayo controlado, aleatorizado (1:1), abierto y multicéntrico.⁴ Los criterios de elegibilidad clave fueron: NSCLC metastásico, expresión de la PD-L1 con una puntuación Tumor Proportion Score (TPS) de 50 % o superior en un ensayo inmunohistoquímico con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx y sin tratamiento sistémico previo para NSCLC metastásico. Los pacientes con anomalías genómicas tumorales del EGFR o de ALK, con enfermedad autoinmunitaria que requería terapia sistémica a los 2 años de tratamiento, con una afección médica que requería inmunodepresión, o los pacientes que habían recibido más de 30 Gy de radiación torácica en las 26 semanas anteriores no pudieron participar en el estudio. Se aleatorizó a los pacientes para recibir KEYTRUDA 200 mg cada 3 semanas (n=154) o quimioterapia con platino seleccionada por el investigador (n=151, lo que incluye pemetrexed + carboplatino, pemetrexed + cisplatino, gemcitabine + cisplatino, gemcitabine + carboplatino o paclitaxel


 Biot. Alida Lucia Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.938


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

+ carboplatino. Los pacientes con carcinoma no escamoso podían recibir pemetrexed de mantenimiento). Se trató a los pacientes con KEYTRUDA hasta que la toxicidad fue inaceptable, hasta que hubo progresión de la enfermedad o hasta 35 administraciones. La progresión de la enfermedad subsiguiente podría volver a tratarse durante 1 año más como máximo. El tratamiento pudo continuarse tras la progresión de la enfermedad si el paciente estaba clínicamente estable y si el investigador consideraba que existía un beneficio clínico. La evaluación del estado del tumor se realizó cada 9 semanas. A los pacientes que recibían quimioterapia que experimentaron progresión de la enfermedad se les ofreció KEYTRUDA. Los 305 pacientes de Trial 24 presentaban las siguientes características al inicio del estudio: Mediana de edad de 65 años (el 54 % tenía 65 o más años de edad); el 61 % eran varones; el 82 % eran de raza blanca y el 15 % eran asiáticos; y el 35 % y el 65 % tenía un estado de rendimiento ECOG de 0 y 1, respectivamente. Entre las características de la enfermedad, se encontraban los casos de carcinoma escamoso (18 %) y no escamoso (82 %); los casos de M1 (99 %); y los casos de metástasis cerebral (9 %).

El criterio principal de valoración fue la supervivencia sin progresión (SSP) evaluado por una revisión central independiente con enmascaramiento (BICR) de acuerdo con la versión 1.1 de los criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos (RECIST 1.1). Los criterios de valoración de eficacia adicionales fueron la supervivencia global (SG) y la tasa de respuesta objetiva (TRO) evaluados por una BICR de acuerdo con RECIST 1.1. En la Tabla 22 se resumen las medidas de eficacia fundamentales para la población por intención de tratar (ITT) completa.

Tabla 22. Resultados de eficacia de Trial 24

Criterio de valoración	KEYTRUDA 200 mg/kg, cada 3 semanas n=154	Quimioterapia n=151
SSP*		



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Número (%) de pacientes con suceso	73 (47 %)	116 (77 %)
Cociente de riesgos instantáneos† (IC del 95 %)	0,50 (0,37, 0,68)	---
Valor p‡	<0,001	---
Mediana en meses (IC del 95 %)	10,3 (6,7; N/D)	6,0 (4,2, 6,2)
SG		
Número (%) de pacientes con suceso	44 (29 %)	64 (42 %)
Cociente de riesgos instantáneos† (IC del 95 %)	0,60 (0,41, 0,89)	---
Valor p‡	0,005	---
Mediana en meses (IC del 95 %)	No alcanzada (N/D, N/D)	No alcanzada (9,4, N/D)
Tasa de respuesta objetiva*		
% de TRO (IC del 95 %)	45 % (37, 53)	28 % (21, 36)
% de respuesta completa	4 %	1 %
% de respuesta parcial	41 %	27 %

* Evaluación por una BICR de acuerdo con RECIST 1.1

† Cociente de riesgos instantáneos (comparación de KEYTRUDA con quimioterapia) basado en el modelo de Cox de riesgo proporcional estratificado

‡ Según la prueba del orden logarítmico estratificada

N/D = no disponible


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.938


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

Entre los 69 pacientes aleatorizados para recibir KEYTRUDA 200 mg con una respuesta objetiva, las duraciones de la respuesta se encontraban entre 1,9+ y 14,5+ meses. El 88 % de los que respondieron tuvieron una duración de la respuesta de 6 meses o más (basándose en la estimación de Kaplan-Meier; Figura 2).

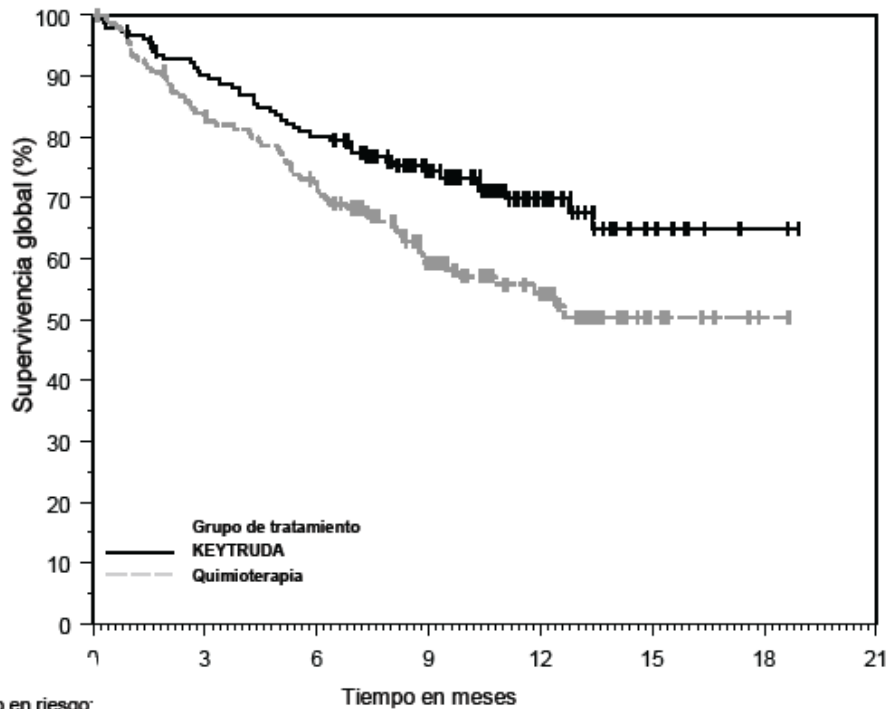


Figura 2. Curva de Kaplan-Meier para supervivencia global en Trial 24

KEYNOTE010: Ensayo clínico controlado de pacientes con NSCLC tratados previamente con quimioterapia

La eficacia de KEYTRUDA se investigó en Trial 10, un ensayo controlado, aleatorizado (1:1), abierto y multicéntrico.⁵ Los criterios de elegibilidad clave fueron: NSCLC avanzado que había evolucionado tras recibir quimioterapia con platino y, si es aplicable, terapia dirigida para ALK o mutaciones del EGFR, y expresión de la PD-L1 con una puntuación Tumor Proportion Score (TPS) de 1 % o mayor en una versión de un ensayo clínico (CTA)


 Biot. Alida Lucia Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.938


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. El 44 y el 56 % de los pacientes fueron incluidos en el estudio basándose en las pruebas de una muestra tumoral archivada o una muestra tumoral nueva, respectivamente. Los pacientes con enfermedad autoinmunitaria, con una afección médica que requería inmunodepresión, o los pacientes que habían recibido más de 30 Gy de radiación torácica en las 26 semanas anteriores no pudieron participar en el estudio. Los pacientes se aleatorizaron (1:1:1) de forma que recibieron 2 mg/kg (n=344) o 10 mg/kg (n=346) de KEYTRUDA cada 3 semanas o 75 mg/m² de docetaxel cada 3 semanas (n=343). Los pacientes fueron tratados con KEYTRUDA hasta que la toxicidad fue inaceptable o hasta que hubo progresión de la enfermedad que fuera sintomática, evolucionase rápidamente, requiriese intervención urgente, se produjese con un declive en el estado del rendimiento, o se confirmase en las semanas 4 a 6 con repetición de la adquisición de imágenes. Los pacientes sin progresión de la enfermedad fueron tratados durante un máximo de 24 meses o 35 administraciones, lo que tenga una mayor duración. La progresión de la enfermedad subsiguiente podría volver a tratarse durante 1 año más como máximo. La evaluación del estado del tumor se realizó cada 9 semanas. Las medidas del criterio principal de valoración de la eficacia fueron la SG y la SSP evaluadas por una BICR de acuerdo con RECIST 1.1.

Basándose en el análisis para el ensayo clínico, se aleatorizó en el estudio a un total de 1033 pacientes con NSCLC. Para evaluar la utilidad clínica de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, se analizaron retrospectivamente en un laboratorio de referencia con sede en EE. UU. muestras de estudios clínicos archivadas usando PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. De los 1033 pacientes, se analizó retrospectivamente tejido tumoral de 529 pacientes con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Las muestras de 413 pacientes presentaron expresión de PD-L1 (≥ 1 % de las células tumorales viables mostraban tinción de la membrana de cualquier intensidad), mientras que las muestras de 94 pacientes dieron negativo para expresión de PD-L1 (< 1 % de las células tumorales viables mostraban tinción de la membrana de cualquier intensidad). De estos 413 pacientes con expresión de PD-L1, las muestras de 163 pacientes presentaron expresión alta de PD-L1 (≥ 50 % de las células tumorales viables mostraban tinción de la membrana de cualquier intensidad).



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

El nivel de concordancia logrado entre el CTA y PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se muestra en la Tabla 23.

Tabla 23. CTA frente a PD-L1 IHC 22C3 pharmDx

Niveles de concordancia	PD-L1 Valor de corte	Porcentaje de concordancia negativa (intervalo de confianza [IC] del 95 %)	Porcentaje de concordancia positiva (intervalo de confianza [IC] del 95 %)
CTA frente a PD-L1 IHC 22C3 pharmDx	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 %]

Entre los pacientes aleatorizados con expresión de PD-L1 en PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, las características demográficas y otro tipo de características iniciales estaban correctamente equilibradas entre los grupos de tratamiento. La mediana de edad era de 63 años (44 % de los pacientes con una edad igual o superior a 65). La mayoría de pacientes era de piel blanca (77 %) y varones (58 %); el estado inicial de rendimiento ECOG era 0 (29 %) o 1 (71 %). El setenta y ocho por ciento (78 %) de los pacientes eran fumadores o lo habían sido. El veintidós por ciento (22 %) de los pacientes presentaba histología escamosa, mientras que el 69 % presentaba histología no escamosa. Las características



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

iniciales y demográficas estaban equilibradas de forma similar entre los grupos de pembrolizumab y docetaxel del estudio clínico global.

Los resultados de la eficacia se resumen en las Tablas 24 y 25. KEYTRUDA mostró un beneficio clínico duradero en pacientes con NSCLC con expresión de PD-L1 (TPS ≥ 1 %), que mejoró en pacientes con expresión alta de PD-L1 (TPS ≥ 50 %), tal como se determinó con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. El alcance del beneficio era comparable con el del ensayo clínico global. En las tablas 24 y 25 se resumen las medidas de eficacia fundamentales en la población global con expresión de PD-L1 (TPS ≥ 1 %) y el subconjunto con expresión alta de PD-L1 (TPS ≥ 50 %) para el estudio clínico global (TPS ≥ 1 % según el CTA), y en la población con expresión de PD-L1 según PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. En la Figura 3 se muestra la curva de Kaplan-Meier para la SG (TPS ≥ 1 %), según los datos de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Los resultados de eficacia fueron similares en los grupos de 2 mg/kg y de 10 mg/kg de KEYTRUDA.

Tabla 24. Respuesta a KEYTRUDA en pacientes con NSCLC que han recibido tratamiento previo: Ensayo clínico global y pacientes con expresión de PD-L1, TPS ≥ 1 %, determinada mediante PD-L1 IHC 22C3 pharmDx

Criterio de valoración	KEYTRUDA 2 mg/kg cada 3 semanas		KEYTRUDA 10 mg/kg cada 3 semanas		Docetaxel 75 mg/m ² cada 3 semanas	
	Ensayo clínico	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx	Ensayo clínico	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx	Ensayo clínico	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx
Número de pacientes	344	140	346	142	343	131
SG						
Fallecimientos (%)	172 (50 %)	59 (42 %)	156 (45 %)	59 (42 %)	193 (56 %)	67 (51 %)
Cociente de riesgos	0,71	0,54 (0,37, 0,78)	0,61 (0,49, 0,75)	0,57 (0,39, 0,82)	---	---


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.938


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

instantáneos * (IC del 95 %)	(0,58, 0,88)					
Valor p†	<0,001	<0,001	<0,001	0,00115	---	---
Mediana en meses (IC del 95 %)	10,4 (9,4, 11,9)	11,8 (9,6, N/D)	12,7 (10,0, 17,3)	12,0 (8,7, N/D)	8,5 (7,5, 9,8)	7,5 (6,3, 9,9)
SSP‡						
Eventos (%)	266 (77 %)	97 (63 %)	255 (74 %)	103 (73 %)	257 (75 %)	94 (72 %)
Cociente de riesgos instantáneos * (IC del 95 %)	0,88 (0,73; 1,04)	0,68 (0,50; 0,92)	0,79 (0,66; 0,94)	0,79 (0,59; 1,06)	---	---
Valor p†	0,068	0,00578	0,005	0,05767	---	---
Mediana en meses (IC del 95 %)	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)
Tasa de respuesta global‡						
TRO %§ (IC del 95 %)	18 % (14, 23)	24 % (17, 32)	18 % (15, 23)	20 % (14, 28)	9 % (7, 13)	5 % (2, 11)

* Índice de riesgo (comparación de KEYTRUDA con docetaxel) basado en el modelo de Cox de riesgo proporcional estratificado

† Basado en la prueba del orden logarítmico estratificada

‡ Evaluada por BICR mediante RECIST 1.1

§ Todas las respuestas eran respuestas parciales

Tabla 25. Respuesta a KEYTRUDA en pacientes con NSCLC que han recibido tratamiento previo: ensayo clínico global y pacientes con alta expresión de PD-L1, TPS ≥50 %, determinada mediante PD-L1 IHC 22C3 pharmDx



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matriculada Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Criterio de valoración	KEYTRUDA2mg/kg cada 3 semanas		KEYTRUDA10mg/kg cada 3 semanas		Docetaxel75mg/m2ca da 3 semanas	
	Ensayo clínico	PD-L1 IHC22C3 pharmDx	Ensayo clínico	PD-L1 IHC22C3 pharmDx	Ensayo clínico	PD-L1 IHC22C3 pharmD x
Número de pacientes	139	56	151	60	152	47
SG						
Fallecimientos(%)	58 (42%)	18 (32%)	60 (40%)	19 (32%)	86 (57%)	25 (53%)
Cociente de riesgos instantáneos*(IC del95 %)	0,54 (0,38; 0,77)	0,45 (0,24; 0,84)	0,50 (0,36; 0,70)	0,29 (0,15; 0,56)	---	---
Valor p†	<0,001	0,00541	<0,001	<0,001	---	---
Mediana en meses(IC del95 %)	14,9 (10,4; N/D)	No alcanzada (9,3; N/D)	17,3 (11,8; N/D)	No alcanzada (8,3; N/D)	8,2(6,4; 10,7)	7,2(4,4; 8,3)
SSP‡						
Eventos(%)	89 (64%)	33 (59%)	97 (64%)	34 (57%)	118 (78%)	33 (70%)
Cociente de riesgos instantáneos*(IC del95 %)	0,58 (0,43, 0,77)	0,47 (0,28; 0,80)	0,59 (0,45; 0,78)	0,41 (0,24;0,70)	---	---
Valor p†	<0,001	0,00221	<0,001	<0,001	---	---
Mediana en meses(IC del95 %)	5,2(4,0; 6,5)	5,9(4,2; 9,0)	5,2(4,1; 8,1)	4,8(2,8; N/D)	4,1(3,6; 4,3)	3,9(2,0; 4,3)
Tasa de respuesta global‡						

Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

TRO %§(IC del 95 %)	30 % (23, 39)	37% (25, 52)	29% (22, 37)	28% (18, 41)	8% (4, 13)	4% (1, 15)
---------------------	---------------	--------------	--------------	--------------	------------	------------

* Índice de riesgo (comparación de KEYTRUDA con docetaxel) basado en el modelo de Cox de riesgo proporcional estratificado

† En función de la prueba del orden logarítmico estratificada

‡ Evaluación según BICR mediante RECIST 1.1

§ Todas las respuestas eran respuestas parciales

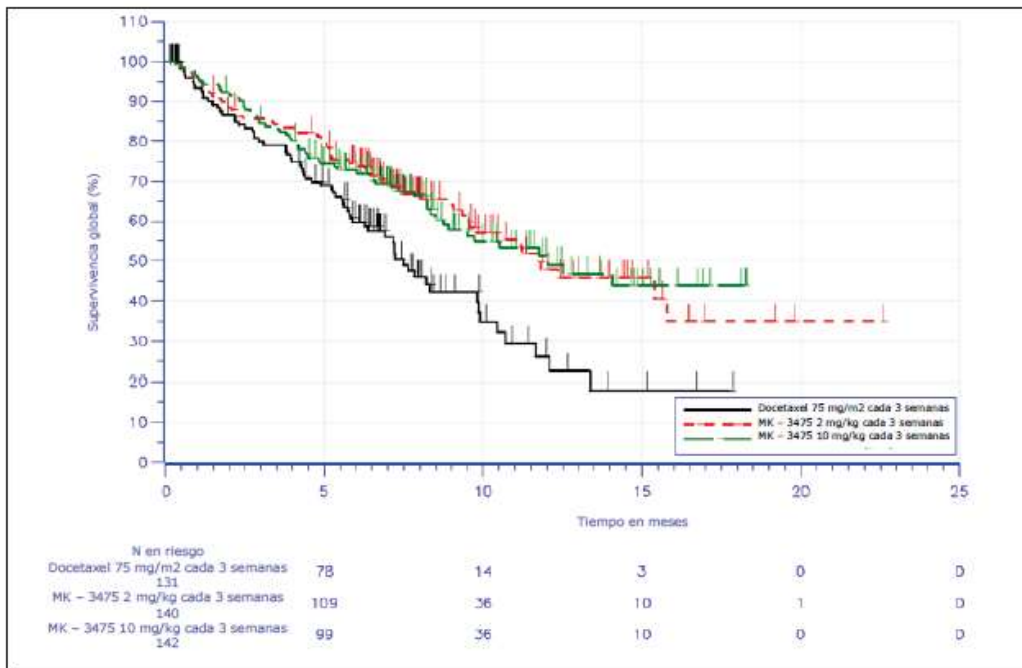


Figura 3. Curva de Kaplan-Meier para la supervivencia global por grupo de tratamiento (TPS ≥ 1 % según PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, población por intención de tratar)

Se realizaron más análisis de consistencia para considerar el posible impacto de la falta de datos de los pacientes con expresión de PD-L1 (TPS ≥ 1 %) según PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, que podrían no tener expresión de PD-L1 (TPS < 1 %) según el CTA. Los pacientes con estos resultados en la prueba forman parte de la población de uso previsto/con intención de diagnóstico (ITD) del ensayo PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Sin embargo, se excluyeron del ensayo clínico debido a que no presentaban expresión de PD-


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.938


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

L1 tras la selección con el CTA. Para compensar la ausencia de esos datos, se realizó un análisis de sensibilidad con el fin de comprender el rango admisible del cociente de riesgos instantáneos (CRI) estimado basado en el ensayo PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en las subpoblaciones de TPS $\geq 1\%$ y TPS $\geq 50\%$ en un entorno de ITD para verificar la coherencia con el CRI observado basado en la inscripción con el CTA. En los resultados del análisis de sensibilidad del HR se mostró que las estimaciones del HR son consistentes con la atenuación presupuesta del efecto del tratamiento en el entorno de intención de diagnóstico.

16.4 Evaluación del rendimiento no clínico: Adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica

Se analizaron las siguientes histologías en la evaluación de rendimiento no clínico del adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica: Intestinal, difusa (que incluye carcinoma de células en anillo de sello) y mucinosa.

16.4.1 Especificidad/sensibilidad analítica: Adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica

La sensibilidad analítica de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se analizó en 100 muestras FFPE de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica (en los estadios del I al IV) con un lote de producción fabricado. En la evaluación de la expresión de PD-L1 se mostró tinción a lo largo de un rango de CPS de 0-100. El 60 % de las muestras presentaba expresión de la PD-L1, con la expresión definida por CPS ≥ 1 .

16.4.2 Precisión: Adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica

La precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en muestras de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica se evaluó en Agilent. Se comprobaron la precisión interinstrumento, interoperador, interdía e interlote como precisión combinada. Se ha probado la repetibilidad en precisión intraanálisis. También se evaluó la precisión



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

intraobservador e interobservador. El porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el porcentaje de concordancia general (OA) se calcularon con intervalos de confianza bilaterales del 95 % en función del método de puntuación Wilson Score para un valor de corte de CPS ≥ 1 .

Tabla 26. Precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en adenocarcinoma gástrico o de la unión gástricoesofágica, analizado en un

Estudio de precisión	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	%de concordancia (ICdel95 %):
Precisión combinada (interinstrumento, interoperador, interlote, interdía)	CPS ≥ 1	Se analizaron las 24 muestras de adenocarcinoma gástrico o de la unión gástricoesofágica (12 negativas para PD-L1 y 12 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión de PD-L1 con 3 instrumentos AutostainerLink 48,4 operadores y 3 lotes del kit en 3 días no consecutivos.	NPA 100,0% (94,9-100,0%) PPA 95,8% (88,5-98,6%) OA 97,9 % (94,1-99,3 %)
Precisión intraensayo (repetibilidad)	CPS ≥ 1	Se analizaron las 24 muestras de adenocarcinoma gástrico o de la unión gástricoesofágica (13 negativas para PD-L1 y 11 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con 5 repeticiones en	NPA 96,9% (89,5-99,2%) PPA 100,0% (93,5-100,0%) OA 100,0%


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.938


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

		la misma sesión en un instrumento Autostainer Link48.	98,3%(94,1-99,5%)
Precisión interobservador	CPS \geq 1	La puntuación de las 60muestras de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica (26negativas para PD-L1 y 34positivaspara PD-L1)con un intervalo de expresión IHCde PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por3anatomopatólogosen 3días no consecutivos.	NPA91,5 %(87,2-94,4%)PPA 96,1%(93,3-97,7%)OA 94,1%(91,8-95,8%)
Precisión intraobservador	CPS \geq 1	La puntuación de las 60muestras de adenocarcinoma gástrico o de la unióngastroesofágica (26negativas para PD-L1y 34positivaspara PD-L1)con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por3anatomopatólogosen 3días no consecutivos.	NPA96,0 %(92,6-97,9%)PPA 96,8%(94,3-98,3%)OA 96,5%(94,6-97,7%)

NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva; OA = porcentaje de concordancia general; CPS = Combined Positive Score

16.4.3 Reproducibilidad externa: Adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica

La reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se evaluó en tres centros externos. El porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el porcentaje de concordancia general (OA) se calcularon con intervalos de confianza bilaterales (IC) del 95 % con el método de bootstrap de percentiles para un valor de corte de CPS \geq 1. En un estudio inicial, no se cumplieron los criterios de aceptación del límite inferior del IC para OA y NPA para la reproducibilidad interobservador ni tampoco del límite inferior del IC para NPA para la reproducibilidad intraobservador. En una evaluación del origen se indicó que uno de los tres observadores del estudio no superó las pruebas de competencia posteriores al estudio. Se llevó a cabo un segundo estudio interobservador e



Biot. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matricula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

intraobservador con tres observadores legos y los resultados cumplieron los criterios de aceptación. Los resultados se muestran en la Tabla 27 a continuación. Se recomienda realizar una evaluación de competencias para garantizar la correcta interpretación de la puntuación por parte del observador.

Tabla 27. Reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica, analizado en tres centros externos (CPS \geq 1)

Estudio de reproducibilidad	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Intercentro	CPS \geq 1	Se analizaron las 36 muestras de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica (16 negativas para PD-L1 y 20 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en 5 días no consecutivos. Se realizaron análisis intercentro entre 3 centros en un total de 540 comparaciones con el consenso.	NPA 92,5 % (86,2-97,5 %) PPA 91,7 % (84,7-97,7 %) OA 92,0 % (87,4-96,3 %)
Intracentro	CPS \geq 1	Se analizaron las 36 muestras de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica (16 negativas para PD-L1 y 20 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en 5 días no consecutivos en cada uno de	NPA 93,1 % (89,2-96,5 %) PPA 98,2 % (96,4-99,6 %) OA 95,7 % (93,7-97,6 %)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938




ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		los 3 centros de estudio. Se realizaron análisis intracentro en 3 centros en un total de 540 comparaciones por pares con el consenso.	
Interobservador	CPS \geq 1	La puntuación de 68 muestras de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica (36 negativas para PD-L1 y 32 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, 1 en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 días no consecutivos. Se realizaron análisis interobservador entre 3 centros en un total de 612 comparaciones con el consenso.	NPA 96,6 % (92,9-99,4 %) PPA 96,5 % (93,1-99,3 %) OA 96,6 % (94,0-98,7 %)
Intraobservador	CPS \geq 1	La puntuación de 68 muestras de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica (36 negativas para PD-L1 y 32 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con	NPA 97,2 % (94,8-99,1 %) PPA 97,2 % (94,8-99,3 %) OA 97,2 % (95,3-98,9 %)



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, 1 en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 días no consecutivos. Se realizaron análisis intraobservador en 3 centros en un total de 612 comparaciones con el consenso.	
--	--	---	--

NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva; OA = porcentaje de concordancia general; CPS = Combined Positive Score



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

16.5. Evaluación del rendimiento clínico: Adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica

Se estudió la eficacia de KEYTRUDA en KEYNOTE 059 (KN059), un ensayo multicéntrico, no aleatorizado, abierto y de varias cohortes en el que participaron 259 pacientes con adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica que mostraron evolución con al menos dos tratamientos sistémicos anteriores para enfermedad avanzada.6 El tratamiento anterior debe haber incluido un derivado del platino y fluoropirimidina. Los pacientes con resultados positivos para HER2/neu deben haber recibido tratamiento previo con terapia dirigida para HER2/neu. No se consideraron aptos los pacientes con enfermedades autoinmunitarias activas o una afección médica que requiriera inmunodepresión o con signos clínicos de ascitis detectados mediante una exploración física.

Los pacientes recibieron 200 mg de KEYTRUDA cada 3 semanas hasta que la toxicidad fue inaceptable o hasta que hubo progresión de la enfermedad que fuera sintomática, evolucionase rápidamente, requiriese intervención urgente, se produjese con un declive en el estado del rendimiento, o se confirmase al menos 4 semanas después con repetición de la adquisición de imágenes. Los pacientes sin progresión de la enfermedad se trataron durante hasta 24 meses. La evaluación del estado del tumor se realizó cada entre 6 y 9 semanas. El criterio de valoración de eficacia principal fue la tasa de respuesta objetiva (TRO) de conformidad con RECIST 1.1 según una revisión central independiente con enmascaramiento y la duración de la respuesta.

El nivel de expresión de PD-L1 para tejidos o biopsias tumorales de 259 pacientes (167 archivadas y 90 recientes [consulte la definición de la Tabla 28]) se determinó con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. No se pudo evaluar el nivel de expresión de PD-L1 de 2 muestras. En general, el 58 % (148/257) de los pacientes presentaba tumores con expresión de PD-L1 con una puntuación Combined Positive Score (CPS) ≥ 1 . Se analizaron las muestras del 73 % (66/90) de los pacientes que correspondían a muestras tumorales recientes para las



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

pruebas de PD-L1 y del 49 % (82/167) de los pacientes que correspondían a muestras tumorales archivadas con una expresión de la PD-L1 a CPS ≥ 1 (Tabla 28).

Tabla 28. Expresión de PD-L1 tumoral por tipo de muestra

Tejido tumoral	Expresión de PD-L1 (CPS ≥ 1) n (%)	Sin expresión de PD-L1 (CPS <1) n (%)
Estudio global n=257 (%)	148 (58)	109 (42)
Tejido archivado* n=167	82 (49)	85 (51)
Tejido reciente* n=90	66 (73)	24 (27)

*En el contexto del ensayo clínico KN059, el término "biopsia reciente" se definió como una muestra obtenida hasta 6 semanas (42 días) antes del comienzo del tratamiento el día 1 (ciclo 1) con KEYTRUDA y sin haber administrado ningún otro tratamiento contra el cáncer después de obtener la muestra. Las muestras con una antigüedad >42 días se clasificaron como archivadas.

De los 148 pacientes con expresión de PD-L1 a CPS ≥ 1 , se determinó que 143 presentaban un tumor con estabilidad de los microsatélites o con inestabilidad de los microsatélites o reparación de errores de emparejamiento sin determinar. Las características al inicio del estudio de estos 143 pacientes fueron: Edad media de 64 años (47 % con edad igual o superior a 65); 77 % de varones; 82 % de raza blanca, 11 % de origen asiático; y estado de rendimiento ECOG de 0 (43 %) y 1 (57 %). El 85 % de los pacientes presentaba enfermedad de tipo M1 y el 7 % enfermedad de tipo M0. El 51 % había recibido dos y el 49 % tres o más líneas de tratamiento en situación de metástasis o recidiva.

En el caso de los 143 pacientes con expresión de PD-L1 (CPS ≥ 1), la TRO fue del 13,3 % (IC del 95 %: 8,2, 20,0); el 1,4 % presentó una respuesta completa, mientras que el 11,9 % presentó una respuesta parcial. Entre los 19 pacientes que responden, la duración de la respuesta osciló entre el +2,8 y +19,4 meses, con 11 pacientes (58 %) con respuestas de 6 meses o más y 5 pacientes (26 %) con respuestas de 12 meses o más.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

16.6 Evaluación del rendimiento no clínico: Cáncer esofágico

Los estudios no clínicos se realizaron con muestras FFPE de cáncer esofágico (los estudios se llevaron a cabo con muestras escamosas y de adenocarcinoma).

16.6.1 Sensibilidad/especificidad analítica: Cáncer esofágico

Se analizó la sensibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en 100 muestras FFPE de cáncer esofágico. En la evaluación de la expresión de PD-L1 se mostró tinción a lo largo de un rango de CPS de 0-100, en el que el 34 % de las muestras presentó una expresión de PD-L1 con una CPS ≥ 10 . No se pudieron evaluar dos muestras debido a que contenían menos de 100 células tumorales viables.

16.6.2 Precisión: Cáncer esofágico

La precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se evaluó en Agilent. Se comprobaron la precisión interinstrumento, interoperador, interdía e interlote como precisión combinada. Para los estudios de precisión, el porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el porcentaje de concordancia general (OA) se calcularon con intervalos de confianza del 95 % bilaterales con el método bootstrap de percentiles para el valor de corte de CPS ≥ 10 , tal como se muestra en la Tabla 29.

Tabla 29. Precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en cáncer esofágico, analizado en un único centro (CPS ≥ 10)

Estudio de precisión	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Precisión combinada (interoperador, interinstrumento, interdía, e interlote como variables combinadas)	CPS ≥ 10	Se analizaron las 32 muestras de cáncer esofágico (15 negativas para PD-L1 y 17 positivas para PD-L1) con un	NPA 97,8 % (93,3-100,0 %) PPA 98,0 % (94,1-100,0 %)


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		intervalo de expresión IHC de PD-L1 por 3 operadores en 3 instrumentos Autostainer Link 48 en 3 días no consecutivos y con 3 lotes de reactivos.	OA 97,9 % (94,8-100,0 %)
Precisión intraanálisis (Repetibilidad)	CPS ≥10	Se analizaron las 32 muestras de cáncer esofágico (21 negativas para PD-L1 y 11 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con 5 repeticiones en la misma sesión en un instrumento Autostainer Link 48.	NPA 98,1% (95,2-100,0 %) PPA 92.7% (83.6-100.0%) OA 96.2% (93.1-98.8%)
Precisión interobservador	CPS ≥10	La puntuación de las 59 muestras de cáncer esofágico (28 negativas para PD-L1 y 31 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos en 3 días no consecutivos.	NPA 95,1 % (90,5-98,8 %) PPA 92,4 % (87,5-96,8 %) OA 93,7 % (90,3-96,8 %)
Precisión intraobservador	CPS ≥10	La puntuación de las 60 muestras de cáncer	NPA 96,2 % (93,4-98,8 %)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		esofágico (29 negativas para PD-L1 y 31 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos en 3 días no consecutivos.	PPA 98,5 % (96,5-100,0 %) OA 97,3 % (95,6-
--	--	---	---

NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva; OA = porcentaje de concordancia general; CPS = Combined Positive Score

16.6.3 Reproducibilidad externa: Cáncer esofágico

La reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se evaluó con muestras de cáncer esofágico en tres centros externos. El porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el porcentaje de concordancia general (OA) se calcularon con los intervalos de confianza bilaterales del 95 % correspondientes con el método bootstrap de percentiles para un valor de corte de CPS ≥ 10 .

Tabla 30. Reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en el cáncer de esófago, analizado en tres centros externos (CPS ≥ 10)

Estudio de reproducibilidad	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Intercentro	CPS ≥ 10	Las 36 muestras de cáncer esofágico (23 negativas para PD-L1 y 13 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC	NPA 99,7 % (99,1-100,0 %) PPA 99,0 % (96,9-100,0 %)



Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		de PD-L1 se analizaron en 5 días no consecutivos. Se realizaron análisis intercentro entre 3 centros en un total de 540 comparaciones con el consenso.	OA 99,4 % (98,5-100,0 %)
Intracentro	CPS ≥10	Las 36 muestras de cáncer esofágico (23 negativas para PD-L1 y 13 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 se analizaron en 5 días no consecutivos. Se realizaron análisis intracentro en 3 centros en un total de 540 comparaciones por pares con el consenso.	NPA 99,7% (99,1-100,0%) PPA 99,0% (96,9-100,0%) OA 99,4% (98,5-100,0%)
Interobservador	CPS ≥10	La puntuación de las 60 muestras de cáncer esofágico (31 negativas para PD-L1 y 29 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, 1 en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 días no	NPA 97,1 % (94,3-99,3 %) PPA 87,4 % (81,6-92,7 %) OA 92,4 % (89,3-95,4 %)



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		consecutivos. Se realizaron análisis interobservador entre 3 centros en un total de 540 comparaciones con el consenso.	
Intraobservador	CPS \geq 10	La puntuación de las 60 muestras de cáncer esofágico (31 negativas para PD-L1 y 29 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, uno en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 días no consecutivos. Se realizaron análisis intraobservador en 3 centros en un total de 540 comparaciones con el consenso.	NPA 97,1 % (95,2-98,7 %) PPA 97,0 % (94,8-98,8 %) OA 97,0 % (95,6-98,3 %)

NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva; OA = porcentaje de concordancia general; CPS = Combined Positive Score



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

16.7 Evaluación del rendimiento clínico: Carcinoma de células escamosas de esófago (ESCC)

Se estudió la eficacia de KEYTRUDA en KEYNOTE 181 (NCT02564263), un ensayo multicéntrico, aleatorizado, abierto y comparativo con tratamiento activo en el que participaron 628 pacientes con cáncer esofágico metastásico o localmente avanzado recidivante que mostraron evolución durante una línea anterior de tratamiento sistémico, o después de ella, para enfermedad avanzada.⁷ Se requería que los pacientes con cáncer esofágico HER2/neu positivo hubieran recibido tratamiento con terapia dirigida para HER2/neu. Todos los pacientes debían tener muestras tumorales para las pruebas de PD-L1 en el laboratorio central; el estado de PD-L1 se determinó con el kit PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Los pacientes con antecedentes de neumonitis no infecciosa tratada con esteroides o con neumonitis en ese momento, enfermedad autoinmunitaria activa u otra afección médica que hubiera necesitado inmunosupresión no fueron aptos.

Los pacientes se aleatorizaron (1:1) para recibir 200 mg de KEYTRUDA cada 3 semanas o la opción elegida por el investigador de los siguientes tratamientos con quimioterapia, todos ellos por vía intravenosa: paclitaxel 80-100 mg/m² los días 1, 8 y 15 de cada ciclo de cuatro semanas; docetaxel 75 mg/m² cada 3 semanas o irinotecán 180 mg/m² cada 2 semanas. La aleatorización se estratificó por histología tumoral (carcinoma de células escamosas de esófago [ESCC] frente a adenocarcinoma esofágico [EAC]/EAC tipo I de la clasificación de Siewert de la unión gastroesofágica [GEJ]) y región geográfica (Asia frente a fuera de Asia). El tratamiento con KEYTRUDA o quimioterapia continuó hasta que se produjo una toxicidad inaceptable o la progresión de la enfermedad. Se permitió a los pacientes aleatorizados a KEYTRUDA continuar más allá de la primera definición de progresión de la enfermedad según RECIST v1.1 (modificado para seguir un máximo de 10 lesiones objetivo y un máximo de 5 lesiones objetivo por órgano) si se encontraban clínicamente estables hasta que se confirmara la primera prueba radiográfica de progresión de la enfermedad al menos 4 semanas después con repetición de la adquisición de imágenes. Los pacientes tratados con KEYTRUDA sin progresión de la enfermedad podían tratarse durante hasta 24 meses. La evaluación del estado del tumor se realizó cada 9 semanas. El criterio de valoración de



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

eficacia principal fue la supervivencia global que se evaluó en las siguientes poblaciones co-principales: pacientes con ESCC, pacientes con tumores con expresión de PD-L1 CPS ≥ 10 y todos los pacientes aleatorizados. Los criterios de valoración de eficacia adicionales fueron la SSP, la TRO y la duración de la respuesta evaluadas mediante una revisión BICR según los criterios RECIST v1.1, modificados para seguir un máximo de 10 lesiones objetivo y un máximo de 5 lesiones objetivo por órgano.

Se inscribieron un total de 628 pacientes que se aleatorizaron para recibir KEYTRUDA (n=314) o el tratamiento de elección del investigador (n=314). De estos 628 pacientes, 167 (27 %) presentaban ESCC con una expresión de PD L1 con una CPS ≥ 10 . De estos 167 pacientes, 85 se aleatorizaron a KEYTRUDA y 82 al tratamiento de elección del investigador [paclitaxel (n=50), docetaxel (n=19) o irinotecán (n=13)]. Las características al inicio del estudio de estos 167 pacientes fueron: edad media de 65 años (intervalo: de 33 a 80); 51 % de 65 años o mayores; 84 % de varones; 32 % de raza blanca y 68 % de origen asiático; 38 % presentaba un estado de rendimiento ECOG de 0 y 62 % de 1. El noventa por ciento presentaba enfermedad de tipo M1 y el 10 % enfermedad de tipo M0. Antes de la inclusión, 99 % de pacientes habían recibido tratamiento con un derivado del platino y 84 % también había recibido tratamiento con fluoropirimidina. El treinta y tres por ciento de los pacientes había recibido tratamiento anterior con un taxano.

El cociente de riesgos instantáneos de SG observado fue 0,77 (IC del 95 %: 0,63; 0,96) en pacientes con ESCC, 0,70 (IC del 95 %: 0,52; 0,94) en pacientes con tumores con expresión de PD-L1 CPS ≥ 10 y 0,89 (IC del 95 %: 0,75; 1,05) en todos los pacientes aleatorizados. En exámenes posteriores, se observó una mejora en la SG en los pacientes con tumores ESCC que expresaban PD-L1 (CPS ≥ 10) aleatorizados a KEYTRUDA en comparación con la quimioterapia (cociente de riesgos de 0,64, IC del 95 %: 0,46; 0,90).

Diez (10) de los 167 participantes con ESCC con tumores con expresión de PD-L1 CPS ≥ 10 presentaban muestras teñidas fuera del intervalo de estabilidad. Se excluyó a estos 10 participantes de los resultados de eficacia resumidos en la Tabla 31 y de la curva de Kaplan-Meier de SG mostrada en la Figura 4. Los resultados de eficacia de esta población,



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

excluidos los 10 participantes con muestras fuera del intervalo de estabilidad, concuerdan con las conclusiones de eficacia detalladas anteriormente.

Tabla 31. Resultados de eficacia en pacientes con ESCC metastásico o recidivante (CPS ≥ 10) en KEYNOTE-181 (excluidos 10 participantes con muestras fuera del intervalo de estabilidad)

Criterio de valoración	KEYTRUDA 200 mg/kg, cada 3 semanas n=79	Quimioterapia n=78
SG		
Número (%) de pacientes con suceso	62 (78,5)	68 (87,2)
Mediana en meses (IC del 95 %)	10,3 (7,8; 13,6)	6,7 (4,8; 9,3)
Cociente de riesgos instantáneos* (IC del 95 %)	0,63 (0,45; 0,90)	
SSP (BCS según RECIST 1.1)		
Número (%) de pacientes con suceso	70 (88,6)	72 (92,3)
Mediana en meses (IC del 95 %)	3,2 (2,1; 4,3)	2,6 (2,1; 3,7)
Mediana de seguimiento (IC del 95 %), meses	3,2 (2,1; 4,4)	2,8 (2,1; 4,0)
Cociente de riesgos instantáneos* (IC del 95 %)	0,67 (0,48; 0,95)	
Tasa de respuesta objetiva		
TRO (IC del 95 %)	21,5 (13,1; 32,2)	7,7 (2,9; 16,0)

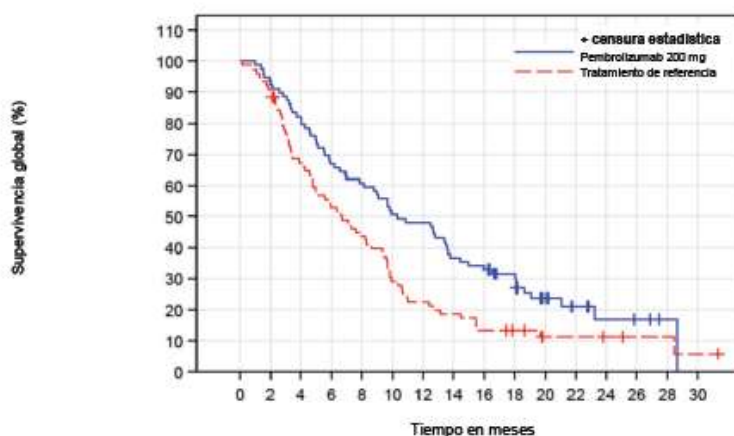

Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Número (%) de respuestas completas	3 (3,8)	1 (1,3)
Número (%) de respuestas parciales	14 (17,7)	5 (6,4)
Mediana de duración de la respuesta en meses (intervalo)	10,3 (2,8; 18,8+)	7.7 (4,3+, 16,8+)

Modelo Cox de riesgo proporcional estratificado por región (Asia frente a fuera de Asia)

"+" indica que no hay progresión de la enfermedad en el momento de la última evaluación de la enfermedad.



Número de sujetos en riesgo

Pembrolizumab 200 mg	79	74	65	53	48	40	38	29	27	21	11	7	4	3	1	0
Tratamiento de referencia	78	70	51	40	33	22	17	14	10	8	4	4	3	2	2	1

Figura 4. Curva de Kaplan-Meier para la supervivencia global en KEYNOTE 181 (ESCC con CPS ≥ 10) (excluidos 10 participantes con muestras fuera del intervalo de estabilidad)

16.8 Evaluación del rendimiento no clínico: Cáncer cervical, incluidos cánceres escamosos combinados

Se llevaron a cabo estudios no clínicos con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en muestras tisulares FFPE de cáncer cervical humano. En estos conjuntos de muestras para el estudio no clínico también se incluyeron cánceres de células escamosas (SQ) vulvares, anales y de glándulas


 Biot: Alida Lucia Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.938


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

salivales para complementar al cáncer cervical de células escamosas (SQ). Estos tipos de cáncer complementarios también se incluyeron en el estudio KEYNOTE 158 de Merck. Los estudios no clínicos consistieron en estudios de validación analítica, estabilidad y reproducibilidad externa.

16.8.1 Sensibilidad/especificidad analítica: Cáncer cervical

Se analizó la sensibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en 100 muestras FFPE de cáncer cervical (en los estadios del I al IV). En la evaluación de la expresión de PD-L1 se mostró tinción a lo largo de un rango de CPS de 0-100. Alrededor del 74 % de las muestras de cáncer cervical presentaba expresión de la PD-L1, con la expresión definida por CPS ≥ 1 .

16.8.2 Precisión: Cáncer cervical, incluidos cánceres de células escamosas

La precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en cánceres cervicales se evaluó en Agilent por medio de cánceres de células escamosas (SQ) cervicales, vulvares, anales y de las glándulas salivales. Se comprobaron la precisión interinstrumento, interoperador, interdía e interlote como precisión combinada. Se ha probado la repetibilidad en precisión intraanálisis. También se evaluó la precisión interobservador e intraobservador. El porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y la concordancia general (OA) se calcularon con intervalos de confianza bilaterales del 95 % en función del método de puntuación Wilson Score para un valor de corte de CPS ≥ 1 .

Tabla 32. Precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en cáncer cervical, incluidos cánceres de células escamosas, analizado en un único centro (CPS ≥ 1)

Estudio de precisión	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Precisión combinada del subgrupo histológico de	CPS ≥ 1	Se analizaron las 36 muestras de cáncer de	NPA 100,0 % (94,9-100,0 %)



células escamosas (interinstrumento, interoperador, interlote, interdía)		células escamosas (17 negativas para PD-L1 y 19 positivas para PD-L1; 24 cánceres cervicales [13 negativas para PD-L1 y 11 positivas para PD-L1]) con un intervalo de expresión de PD-L1 con 3 instrumentos Autostainer Link 48, 4 operadores y 3 lotes del kit en 3 días no consecutivos.	PPA 98,9 % (93,9-99,8 %) OA 99,4 % (96,5-99,9 %)
Precisión intraensayo (repetibilidad) en el subgrupo histológico de células escamosas	CPS \geq 1	Se analizaron las 24 muestras de cáncer de células escamosas (12 negativas para PD-L1 y 12 positivas para PD-L1, 18 cánceres cervicales [12 negativas para PD-L1 y 6 positivas para PD-L1]) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con 5 repeticiones en la misma sesión en el instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100,0 % (93,8-100,0 %) PPA 98,3 % (91,1-99,7 %) OA 99,2 % (95,4-99,9 %)
Precisión interobservador en el subgrupo histológico de células escamosas	CPS \geq 1	La puntuación de 52 muestras de cáncer de células escamosas (22 negativas para PD-L1 y 30 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión	NPA 98,4 % (95,5-99,5 %) PPA 98,9 % (96,8-99,6 %) OA 98,7 % (97,2-99,4 %)


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos en 3 días no consecutivos.	
Precisión intraobservador en el subgrupo histológico de células escamosas	CPS \geq 1	La puntuación de 52 muestras de cáncer de células escamosas (22 negativas para PD-L1 y 30 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos en 3 días no consecutivos.	NPA 97,9 % (94,8-99,2 %) PPA 99,6 % (97,9-99,9 %) OA 98,9 % (97,5-99,5 %)

NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva; OA = porcentaje de concordancia general; CPS = Combined Positive Score

16.8.3 Precisión: Cáncer cervical

La precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en cáncer cervical se evaluó en Agilent. Se comprobaron la precisión interinstrumento, interoperador, interdía e interlote como precisión combinada. Se ha probado la repetibilidad en precisión intraanálisis. También se evaluó la precisión interobservador e intraobservador. El porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y la concordancia general (OA) se calcularon con intervalos de confianza bilaterales del 95 % en función del método de puntuación Wilson Score para un valor de corte de CPS \geq 1.

Tabla 33. Precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en cáncer cervical, analizado en un único centro (CPS \geq 1)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matriculada Provincial N° 7.936

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Estudio de precisión	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Precisión combinada (interinstrumento, interoperador, interlote, interdía) en cáncer cervical	CPS \geq 1	Se analizaron las 24 muestras de cáncer cervical (13 negativas para PD-L1 y 11 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión de PD-L1 con 3 instrumentos Autostainer Link 48, 4 operadores y 3 lotes del kit en 3 días no consecutivos.	NPA 100,0 % (92,4-100,0 %) PPA 97,6 % (87,4-99,6 %) OA 98,9 % (93,8-99,8 %)
Precisión intraensayo en cáncer cervical (repetibilidad)	CPS \geq 1	Se analizaron las 18 muestras de cáncer cervical (12 negativas para PD-L1 y 6 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con 5 repeticiones en la misma sesión con el instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100,0 % (93,8-100,0 %) PPA 100,0 % (88,6-100,0 %) OA 100,0 % (95,8-100,0 %)
Precisión interobservador en cáncer cervical	CPS \geq 1	La puntuación de 21 muestras de cáncer cervical (8 negativas para PD-L1 y 13 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos en 3 días no consecutivos.	NPA 100,0 % (94,9-100,0 %) PPA 99,1 % (95,3-99,8 %) OA 99,5 % (97,1-99,9 %)
Precisión intraobservador en cáncer cervical	CPS \geq 1	La puntuación de 21 muestras de cáncer cervical (8 negativas para PD-L1 y 13 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC	NPA 100,0 % (94,9-100,0 %) PPA 99,1 % (95,3-99,8 %)


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.936


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

		22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos en 3 días no consecutivos.	OA 99,5 % (97,1-99,9 %)
--	--	---	-------------------------


NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva; OA = porcentaje de concordancia general; CPS = Combined Positive Score

16.8.4 Reproducibilidad externa: Cáncer cervical, incluidos cánceres de células escamosas

La reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se evaluó en tres centros externos con cánceres de células escamosas (SQ) cervicales, vulvares, anales o de la glándula salival. El porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el porcentaje de concordancia general (OA) se calcularon con intervalos de confianza bilaterales del 95 % en función del método de puntuación Wilson Score para un valor de corte de CPS ≥ 1 .

Tabla 34. Reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en cáncer cervical, incluidos cánceres de células escamosas, analizado en tres centros externos (CPS ≥ 1)

Estudio de reproducibilidad	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Intercentro	CPS ≥ 1	Se analizaron las 40 muestras de cáncer de células escamosas (20 negativas para PD-L1 y 20 positivas para PD-L1; n=25 cánceres cervicales) con un intervalo de expresión IHC de	NPA 96,7 % (94,0-98,2 %) PPA 98,3 % (96,2-99,3 %) OA 97,5 % (95,9-98,5 %)


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		PD-L1 en 5 días no consecutivos. Se realizaron análisis intercentro entre 3 centros en un total de 600 comparaciones con el consenso.	
Intracentro	CPS ≥1	Se analizaron las 40 muestras de cáncer de células escamosas (20 negativas para PD-L1 y 20 positivas para PD-L1; n=25 cánceres cervicales) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en 5 días no consecutivos. Se realizaron análisis intracentro en 3 centros en un total de 600 comparaciones por pares con el consenso.	NPA 98,3 % (96,1-99,3 %) PPA 98,4 % (96,2-99,3 %) OA 98,3 % (97,0-99,1 %)
Interobservador	CPS ≥1	La puntuación de las 49 muestras de cáncer de células escamosas (23 negativas para PD-L1 y 26 positivas para PD-L1; n=34 cánceres cervicales) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, uno en cada uno de los 3 centros de	NPA 96,1 % (92,6-98,0 %) PPA 99,1 % (96,9-99,8 %) OA 97,7 % (95,9-98,8 %)



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		estudio, en 3 días no consecutivos. Se realizaron análisis interobservador entre 3 centros en un total de 441 comparaciones con el consenso.	
Intraobservador	CPS \geq 1	La puntuación de las 49 muestras de cáncer de células escamosas (23 negativas para PD-L1 y 26 positivas para PD-L1; n=34 cánceres cervicales) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, uno en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 días no consecutivos. Se realizaron análisis intraobservador en 3 centros en un total de 441 comparaciones con el consenso.	NPA 97,5 % (94,4-98,9 %) PPA 99,2 % (97,0-99,8 %) OA 98,4 % (96,8-99,2 %)

NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva; OA = porcentaje de concordancia general; CPS = Combined Positive Score

16.8.5 Reproducibilidad externa: Cáncer cervical

La reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se evaluó en tres centros externos. El porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el porcentaje de concordancia general (OA) se calcularon con intervalos de confianza



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

bilaterales del 95 % en función del método de puntuación Wilson Score para un valor de corte de CPS ≥ 1 .

Tabla 35. Reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en cáncer cervical, analizado en tres centros externos (CPS ≥ 1)

Estudio de reproducibilidad	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Intercentro	CPS ≥ 1	Las 25 muestras de cáncer cervical (13 negativas para PD-L1 y 12 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 se analizaron en 5 días no consecutivos. Se realizaron análisis intercentro entre 3 centros en un total de 375 comparaciones con el consenso.	NPA 98,5 % (95,6-99,5 %) PPA 98,3 % (95,2-99,4 %) OA 98,4 % (96,6-99,3 %)
Intracentro	CPS ≥ 1	Las 25 muestras de cáncer cervical (13 negativas para PD-L1 y 12 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 se analizaron en 5 días no consecutivos. Se realizaron análisis intracentro en 3 centros en un total de 375 comparaciones por pares con el consenso.	NPA 98,5 % (95,6-99,5 %) PPA 98,3 % (95,2-99,4 %) OA 98,4 % (96,6-99,3 %)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Interobservador	CPS \geq 1	La puntuación de las 34 muestras de cáncer cervical (16 negativas para PD-L1 y 18 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, 1 en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 días no consecutivos. Se realizaron análisis interobservador entre 3 centros en un total de 306 comparaciones con el consenso.	NPA 97,2 % (93,1-98,9 %) PPA 98,8 % (95,6-99,7 %) OA 98,0 % (95,8-99,1 %)
Intraobservador	CPS \geq 1	La puntuación de las 34 muestras de cáncer cervical (16 negativas para PD-L1 y 18 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, 1 en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 días no consecutivos. Se realizaron análisis intraobservador en 3 centros en un total de 306	NPA 97,9 % (94,1-99,3 %) PPA 99,4 % (96,6-99,9 %) OA 98,7 % (96,7-99,5 %)


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

		comparaciones con el consenso.	
--	--	-----------------------------------	--

NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva; OA = porcentaje de concordancia general; CPS = Combined Positive Score

16.9 Evaluación del rendimiento clínico: Cáncer cervical

Se investigó la eficacia de KEYTRUDA en 98 pacientes con cáncer cervical recidivante o metastásico incluidos en una única cohorte (cohorte E) del estudio KEYNOTE-158 (NCT02628067). Se trata de un ensayo abierto, multicéntrico, de varias cohortes y no aleatorizado.^{8,9} Se excluyeron del ensayo los pacientes con una enfermedad autoinmunitaria o una afección que precisara inmunodepresión.

Se trató a los pacientes con KEYTRUDA por vía venosa a una dosis de 200 mg cada 3 semanas hasta que hubo una progresión documentada de la enfermedad o la toxicidad fue inaceptable. Los pacientes con una progresión radiográfica inicial de la enfermedad podían recibir dosis adicionales de tratamiento durante la confirmación de la progresión. Esto era posible salvo que la progresión fuera sintomática, evolucionase rápidamente, requiriese intervención urgente o se produjese con un declive en el estado del rendimiento. Los pacientes sin progresión de la enfermedad podían tratarse durante hasta 24 meses. La evaluación del estado del tumor se realizó cada 9 semanas durante los 12 primeros meses y cada 12 semanas posteriormente. El criterio de valoración de eficacia principal fue la tasa de respuesta objetiva (TRO) de conformidad con RECIST 1.1 según una revisión central independiente con enmascaramiento y la duración de la respuesta.

De los 98 pacientes de la Cohorte E, 77 (79 %) presentaron tumores con expresión de PD-L1 con una CPS ≥ 1 y recibieron al menos una línea de quimioterapia en situación de metástasis. El estado de PD-L1 se determinó mediante PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Las características al inicio del estudio de estos 77 pacientes fueron: Mediana de edad de 45 años (intervalo de 27 a 75 años); 81 % de raza blanca, 14 % de origen asiático, 3 % de raza negra; estado de rendimiento ECOG de 0 (32 %) o 1 (68 %); 92 % tenía carcinoma de células escamosas, 6 % adenocarcinoma y 1 % histología adenoescamosa; 95 %



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

presentaba enfermedad de tipo M1 y 5 % recidiva; 35 % recibieron una línea previa de tratamiento y 65 % dos o más en situación de recidiva o metástasis.

No se observaron respuestas en pacientes cuyos tumores no presentaran expresión de PD-L1 (CPS < 1).

Los resultados de la eficacia se resumen en la Tabla 36.

Criterio de valoración	n=77*
Tasa de respuesta objetiva	
TRO (IC del 95 %)	14,3 % (7,4, 24,1)
Tasa de respuesta completa	2,6 %
Tasa de respuesta parcial	11,7 %
Duración de la respuesta	
Mediana en meses (intervalo)	NA (4,1+; 18,6+)†
% con una duración ≥6 meses	91 %

* Mediana de tiempo de seguimiento de 11,7 meses (intervalo de 0,6 a 22,7 meses)

†Basado en pacientes (n=11) con respuesta obtenida según una revisión independiente

+ Indica continuidad

NA= No alcanzada

16.10 Evaluación del rendimiento no clínico: Carcinoma urotelial

Se realizaron estudios no clínicos en muestras FFPE de carcinoma urotelial.

Sensibilidad/Especificidad analítica: Carcinoma urotelial

La sensibilidad analítica de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se analizó en 104 muestras FFPE de carcinoma urotelial (en los estadios del III al IV) con un lote de producción fabricado. En la evaluación de la expresión de PD-L1 se mostró tinción a lo largo de un rango de CPS de 0-100, en el que el 37 % de las muestras presentó una expresión de PD-L1 con una CPS ≥10. No fue posible evaluar una muestra debido a la alta tinción de fondo.

16.10.1 Precisión: Carcinoma urotelial

La precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se evaluó en Agilent. Se comprobaron la precisión interinstrumento, interoperador, interdía e interlote como precisión combinada. Para los estudios de precisión, el porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el porcentaje de concordancia general (OA) se calcularon



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

con intervalos de confianza del 95 % bilaterales con el método bootstrap de percentiles para el valor de corte de CPS ≥ 10 , tal como se muestra en la Tabla 37.

Tabla 37. Precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en carcinoma urotelial, analizado en un único centro (CPS ≥ 10)

Estudio de precisión	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Precisión combinada (interoperador, interinstrumento, interdía, e interlote como variables combinadas)	CPS ≥ 10	Se analizó cada una de las 46 muestras de carcinoma urotelial (26 negativas para PD-L1 y 20 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con 3 operadores en 3 instrumentos Autostainer Link 48 en 3 días no consecutivos y con 3 lotes de reactivos.	NPA 96,2 % (92,3-100,0 %) PPA 98,3 % (95,0-100,0 %) OA 97,1 % (94,2-99,3 %)
Precisión intraanálisis* (Repetibilidad)	CPS ≥ 10	Se analizaron las 32 muestras de carcinoma urotelial (17 negativas para PD-L1 y 15 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con 5 repeticiones en la misma sesión en un instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100,0 % (95,7-100,0 %)* PPA 96,0 % (92,0-100,0 %) OA 98,1 % (96,2-100,0 %)
Precisión interobservador	CPS ≥ 10	La puntuación de las 60 muestras de carcinoma urotelial (28 negativas para PD-L1 y 32 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos en 3 días no consecutivos.	NPA 95,2 % (90,3-99,2 %) PPA 94,1 % (89,9-97,6 %) OA 94,6 % (91,4-97,4 %)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Precisión intraobservador	CPS ≥ 10	La puntuación de las 60 muestras de carcinoma urotelial (28 negativas para PD-L1 y 32 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos en 3 días no consecutivos.	NPA 96,8 % (94,3-99,2 %) PPA 96,5 % (94,1-98,6 %) OA 96,7 % (94,8-98,3 %)
---------------------------	---------------	---	---

NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva; OA = porcentaje de concordancia general; CPS = Combined Positive Score

*El método de bootstrap de percentiles no puede calcular intervalos de confianza si se observa una concordancia del 100,0 %, por lo que se utilizó el método de puntuación de Wilson para calcular los intervalos de confianza de la concordancia NPA de la precisión intraanálisis. Tenga en cuenta que el método de puntuación de Wilson presenta limitaciones, pues se presupone la independencia de los datos. Dado que una muestra supone una contribución mayor que una comparación con el consenso, los datos no son independientes.

16.10.2 Reproducibilidad externa: Carcinoma urotelial

La reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se evaluó en tres centros externos. El porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el porcentaje de concordancia general (OA) se calcularon con los intervalos de confianza bilaterales del 95 % correspondientes con el método bootstrap de percentiles para un valor de corte de CPS ≥ 10 .

Tabla 38. Reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en carcinoma urotelial, analizado en tres centros externos (CPS ≥ 10)

Estudio de reproducibilidad	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
-----------------------------	----------------------------	--------------------	---------------------------------


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.938


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

Intercentro	CPS \geq 10	Se analizaron las 36 muestras de carcinoma urotelial (20 negativas para PD-L1 y 16 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresi3n IHC de PD-L1 en 5 d3as no consecutivos. Se realizaron an3lisis intercentro entre 3 centros en un total de 539 comparaciones con el consenso.	NPA 94,0 % (87,7-99,3 %) PPA 84,6 % (77,1-91,7 %) OA 89,8 % (85,0-94,1 %)
Intracentro	CPS \geq 10	Se analizaron las 36 muestras de carcinoma urotelial (20 negativas para PD-L1 y 16 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresi3n IHC de PD-L1 en 5 d3as no consecutivos en cada uno de los 3 centros de estudio. Se realizaron an3lisis intracentro en 3 centros en un total de 539 comparaciones por pares con el consenso.	NPA 96,2 % (92,9-98,8 %) PPA 95,0 % (92,4-97,4 %) OA 95,7 % (93,5-97,6 %)
Interobservador	CPS \geq 10	La puntuaci3n de 60 muestras de carcinoma urotelial (29 negativas para PD-L1 y 31 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresi3n IHC de PD-L1, te3nidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopat3logos, 1 en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 d3as no consecutivos. Se realizaron an3lisis interobservador entre 3 centros en un total de 540 comparaciones con el consenso.	NPA 97,3 % (94,3-99,6 %) PPA 90,7 % (86,4-94,6 %) OA 93,9 % (91,3-96,3 %)
Intraobservador	CPS \geq 10	La puntuaci3n de las 60 muestras de carcinoma urotelial (29 negativas para PD-L1 y 31 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresi3n IHC de PD-L1, te3nidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopat3logos, 1 en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 d3as no consecutivos. Se realizaron an3lisis intraobservador en 3 centros en un total de 540 comparaciones con el consenso.	NPA 95,7 % (93,8-97,8 %) PPA 96,1 % (93,6-98,3 %) OA 95,9 % (94,3-97,4 %)

NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva;
OA = porcentaje de concordancia general; CPS = Combined Positive Score



Bioq. Alida Luc3a 3lvarez
Directora T3cnica
Matr3cula Provincial N3 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

16.11 Evaluación del rendimiento clínico: Carcinoma urotelial

Se investigó la eficacia de KEYTRUDA en el estudio KEYNOTE 052 (NCT02335424), un estudio abierto, multicéntrico de un solo grupo realizado con 370 pacientes con carcinoma urotelial localmente avanzado o metastásico que no fueran aptos para la quimioterapia a base de cisplatino. 10 Se excluyeron del ensayo los pacientes con una enfermedad autoinmunitaria o una afección que precisara inmunodepresión.

Los pacientes recibieron KEYTRUDA a una dosis de 200 mg cada 3 semanas hasta que hubo progresión de la enfermedad o la toxicidad fue inaceptable. Los pacientes con una progresión radiográfica inicial de la enfermedad podían recibir dosis adicionales de tratamiento durante la confirmación de la progresión. Esto era posible salvo que la progresión fuera sintomática, evolucionase rápidamente, requiriese intervención urgente o se produjese con un declive en el estado del rendimiento. Los pacientes sin progresión de la enfermedad podían tratarse durante hasta 24 meses. Las evaluaciones de la respuesta tumoral se realizaron 9 semanas después de la primera dosis, después, cada 6 semanas durante el primer año y, desde entonces, cada 12 semanas. El criterio de valoración de eficacia principal fue la tasa de respuesta objetiva (TRO) de conformidad con RECIST 1.1 según una revisión de radiología independiente y la duración de la respuesta.

El estado de PD-L1 se determinó mediante PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Los datos de los primeros 100 pacientes inscritos, el grupo de entrenamiento, se utilizaron para determinar un valor de corte de CPS ≥ 10 . Los datos de los restantes 270 pacientes, el grupo de validación, se utilizaron para validar clínicamente el valor de corte de CPS ≥ 10 .

Entre los 370 pacientes, el 30 % (n= 110) presentaban tumores que expresaron PD-L1 con un valor de CPS ≥ 10 , el estado de PD-L1 fue desconocido para 9 pacientes. Las características al inicio del ensayo de estos pacientes fueron: Mediana de edad de 73 años, 68 % de varones y 88 % de raza blanca. El 82 % de los pacientes presentaba enfermedad de tipo M1 y el 18 % enfermedad de tipo M0. El 81 % de los pacientes presentaba un tumor primario en las vías inferiores y un 18 % presentaba un tumor primario en las vías superiores. El 76 % de los pacientes presentaba metástasis viscerales, incluido un 11 % con metástasis hepáticas. Entre los motivos de la no idoneidad para el tratamiento con



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

cisplatino se incluyeron: 45 % con aclaramiento de la creatinina inicial <60 ml/min, 37 % con estado de rendimiento ECOG de 2, 10 % con ECOG 2 y aclaramiento de la creatinina inicial <60 ml/min, y 8 % con otros motivos (insuficiencia cardiaca de clase III, neuropatía periférica de grado 2 o superior y pérdida auditiva de grado 2 o superior). El 90 % de los pacientes no había recibido tratamiento anteriormente y el 10 % había recibido anteriormente quimioterapia complementaria o antineoplásica con contenido de platino.

Entre los 270 pacientes del grupo de validación, el 30 % (n=80) presentaban tumores que expresaron PD-L1 con un valor de CPS ≥ 10 . Las características al inicio del ensayo de estos pacientes fueron: Mediana de edad de 72 años, 68 % de varones y 86 % de raza blanca. El 71 % de los pacientes presentaba enfermedad de tipo M1 y el 26 % enfermedad de tipo M0. El 79 % de los pacientes presentaba un tumor primario en las vías inferiores y un 20 % presentaba un tumor primario en las vías superiores. El 78 % de los pacientes presentaba metástasis viscerales, incluido un 8 % con metástasis hepáticas. Entre los motivos de la no idoneidad para el tratamiento con cisplatino se incluyeron: 41 % con aclaramiento de la creatinina inicial <60 ml/min, 43 % con estado de rendimiento ECOG de 2, 11 % con ECOG 2 y aclaramiento de la creatinina inicial <60 ml/min, y 5 % con otros motivos (insuficiencia cardiaca de clase III, neuropatía periférica de grado 2 o superior y pérdida auditiva de grado 2 o superior). El 90 % de los pacientes no había recibido tratamiento anteriormente y el 10 % había recibido anteriormente quimioterapia complementaria o antineoplásica con contenido de platino.

Los resultados de la eficacia se resumen en la Tabla 39.

criterio de valoración	CPS <10 en el grupo de validación (N=185)	CPS ≥ 10 en el grupo de validación (N=80)
Tasa de respuesta objetiva*		
TRO (IC del 95 %)	22 % (16, 28)	51 % (40, 63)
Tasa de respuesta completa	2 %	16 %
Tasa de respuesta parcial	20 %	35 %
Duración de la respuesta		
Mediana en meses (intervalo)	9,7 (1,4+-11,0+)	NA (1,4+-11,1+)


 Biot. Alida Lucia Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.938


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

+Indica continuidad

NA = no alcanzado; * excluye a los pacientes con estado de la PD-L1 desconocido

KEYNOTE-361 (NCT02853305) es un estudio multicéntrico y aleatorizado en curso en pacientes con carcinoma urotelial metastásico que no han recibido tratamiento previo y son aptos para la quimioterapia a base de platino. El estudio compara el KEYTRUDA con o sin quimioterapia a base de platino (p. ej., cisplatino o carboplatino con gemcitabina) con la quimioterapia a base de platino por sí sola. En el ensayo también participó un grupo de monoterapia con KEYTRUDA para realizar una comparación con la quimioterapia a base de platino por sí sola. El comité independiente de monitorización de datos (iDMC) del estudio llevó a cabo una revisión de los datos preliminares y advirtió que, en los pacientes clasificados con una expresión de PD-L1 de CPS <10, la supervivencia de aquellos que recibieron un tratamiento de monoterapia con KEYTRUDA había disminuido en comparación con los que recibieron quimioterapia a base de platino. El iDMC recomendó detener la inclusión de más pacientes con expresión de PD-L1 de CPS <10 en el grupo de monoterapia. No obstante, no se recomendaron más modificaciones, entre ellas cambios en el tratamiento de pacientes que ya hubieran sido aleatorizados y estuvieran recibiendo tratamiento en el grupo de monoterapia.

16.12 Evaluación del rendimiento no clínico: HNSCC

Se realizaron estudios no clínicos en muestras FFPE de HNSCC.

16.12.1 Sensibilidad/Especificidad analítica: HNSCC

La sensibilidad analítica de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se analizó en 112 muestras FFPE de HNSCC (en los estadios del I al IV) con un lote de producción fabricado. En la evaluación de la expresión de PD-L1 se mostró tinción a lo largo de un rango de CPS de 0-100, en el que el 72 % de las muestras presentó una expresión de PD-L1 con una CPS ≥ 1 y el 45 % de las muestras presentó una expresión de PD-L1 con una CPS ≥ 20 .



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

16.12.2 Precisión: HNSCC

La precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se evaluó en Agilent. Se comprobaron la precisión interinstrumento, interoperador, interdía e interlote como precisión combinada. Para los estudios de precisión, el porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el porcentaje de concordancia general (OA) se calcularon los con intervalos de confianza del 95 % bilaterales correspondientes con el método bootstrap para los valores de corte de CPS ≥ 1 y CPS ≥ 20 , tal como se muestra en las Tablas 40 y 41 respectivamente.

Tabla 40. Precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en HNSCC, analizado en un único centro (CPS ≥ 1)

Estudio de precisión	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Precisión combinada* (interoperador, interinstrumento, interdía e interlote como variables combinadas)	CPS ≥ 1	Se analizaron las 34 muestras de HNSCC (12 negativas para PD-L1 y 22 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con 5 operadores en 5 instrumentos Autostainer Link 48 en 5 días y con 5 lotes de reactivos.	NPA 100,0 % (94,0-100,0 %)* PPA 99,1 % (97,3-100,0 %) OA 99,4 % (98,2-100,0 %)
Precisión intraanálisis (Repetibilidad)	CPS ≥ 1	Se analizaron las 34 muestras de HNSCC (16 negativas para PD-L1 y 18 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con 5 repeticiones en la misma sesión con el instrumento Autostainer Link 48.	NPA 98,8 % (96,2-100,0 %) PPA 97,8 % (94,4-100,0 %) OA 98,2 % (95,9-100,0 %)
Precisión interobservador	CPS ≥ 1	La puntuación de las 24 muestras de HNSCC (11 negativas para PD-L1 y 13 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos en 3 días no consecutivos con un periodo de reposo de 2 semanas como mínimo entre lecturas.	NPA 88,9 % (78,8-98,0 %) PPA 99,1 % (97,4-100,0 %) OA 94,4 % (89,8-98,6 %)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Precisión intraobservador	CPS \geq 1	La puntuación de las 24 muestras de HNSCC (11 negativas para PD-L1 y 13 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos en 3 días no consecutivos con un periodo de reposo de 2 semanas como mínimo entre lecturas.	NPA 98,8 % (96,0-100,0 %) PPA 95,4 % (92,3-98,4 %)
---------------------------	--------------	--	---

NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva; OA = porcentaje de concordancia general; CPS = Combined Positive Score

*El método de bootstrap de percentiles no puede calcular intervalos de confianza si se observa una concordancia del 100,0 %, por lo que se utilizó el método de puntuación de Wilson para calcular los intervalos de confianza de la concordancia NPA de la precisión combinada. Tenga en cuenta que el método de puntuación de Wilson presenta limitaciones, pues se presupone la independencia de los datos. Dado que una muestra supone una contribución mayor que una comparación con el consenso, los datos no son independientes.

Tabla 41. Precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en HNSCC, analizado en un único centro (CPS \geq 20)

Estudio de precisión	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Precisión combinada* (interoperador, interinstrumento, interdía e interlote como variables combinadas)	CPS \geq 20	Se analizaron las 34 muestras de HNSCC (17 negativas para PD-L1 y 17 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con 5 operadores en 5 instrumentos Autostainer Link 48 en 5 días y con 5 lotes de reactivos.	NPA 100,0 % (95,7-100,0 %)* PPA 96,5 % (90,6-100,0 %) OA 98,2 % (95,3-100,0 %)
Precisión intraanálisis (Repetibilidad)	CPS \geq 20	Se analizaron las 34 muestras de HNSCC (18 negativas para PD-L1 y 16 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con 5 repeticiones en la misma sesión con el instrumento Autostainer Link 48.	NPA 97,7 % (92,9-100,0 %) PPA 98,7 % (96,2-100,0 %) OA 98,2 % (95,2-100,0 %)


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Precisión interobservador	CPS \geq 20	La puntuación de las 48 muestras de HNSCC (27 negativas para PD-L1 y 21 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos en 3 días no consecutivos con un periodo de reposo de 2 semanas como mínimo entre lecturas.	NPA 96,3 % (91,8-100,0 %) PPA 93,1 % (87,3-97,9 %) OA 94,9 % (91,4-97,9 %)
Precisión intraobservador	CPS \geq 20	La puntuación de las 48 muestras de HNSCC (27 negativas para PD-L1 y 21 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos en 3 días no consecutivos con un periodo de reposo de 2 semanas como mínimo entre lecturas.	NPA 98,0 % (95,9-99,6 %) PPA 96,8 % (94,4-98,9 %) OA 97,5 % (95,8-98,8 %)

NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva; OA = porcentaje de concordancia general; CPS = Combined Positive Score

*El método de bootstrap de percentiles no puede calcular intervalos de confianza si se observa una concordancia del 100,0 %, por lo que se utilizó el método de puntuación de Wilson para calcular los intervalos de confianza de la concordancia NPA de la precisión combinada. Tenga en cuenta que el método de puntuación de Wilson presenta limitaciones, pues se presupone la independencia de los datos. Dado que una muestra supone una contribución mayor que una comparación con el consenso, los datos no son independientes.

16.12.3 Reproducibilidad externa: HNSCC

La reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se evaluó en tres centros externos. El porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el porcentaje de concordancia general (OA) se calcularon con intervalos de confianza bilaterales del 95 % con el método bootstrap.

Tabla 42. Reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en HNSCC, analizado en tres centros externos (CPS \geq 1)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matricula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Estudio de reproducibilidad	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Intercentro	CPS \geq 1	Se analizaron las 38 muestras de HNSCC (19 negativas para PD-L1 y 19 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en 5 días no consecutivos. Se realizaron análisis intercentro entre 3 centros en un total de 570 comparaciones con el consenso.	NPA 96,8 % (92,6-100,0 %) PPA 93,3 % (86,7-98,6 %) OA 95,1 % (91,2-98,2 %)
Intracentro	CPS \geq 1	Se analizaron las 38 muestras de HNSCC (19 negativas para PD-L1 y 19 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en 5 días no consecutivos en cada uno de los 3 centros de estudio. Se realizaron análisis intracentro en 3 centros en un total de 570 comparaciones por pares con el consenso.	NPA 95,7 % (91,3-99,0 %) PPA 97,0 % (94,5-98,9 %) OA 96,3 % (93,5-98,6 %)
Interobservador	CPS \geq 1	La puntuación de 62 muestras de HNSCC (30 negativas para PD-L1 y 32 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, 1 en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 días no consecutivos. Se realizaron análisis interobservador entre 3 centros en un total de 556 comparaciones con el consenso.	NPA 94,0 % (89,3-97,8 %) PPA 97,2 % (94,4-99,3 %) OA 95,7 % (93,0-98,0 %)
Intraobservador	CPS \geq 1	La puntuación de 62 muestras de HNSCC (30 negativas para PD-L1 y 32 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, 1 en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 días no consecutivos. Se realizaron análisis intraobservador en 3 centros en un total de 555 comparaciones con el consenso.	NPA 97,3 % (95,4-98,9 %) PPA 98,3 % (96,8-99,7 %) OA 97,8 % (96,8-98,9 %)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938




ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva;
 OA = porcentaje de concordancia general; CPS = Combined Positive Score

Tabla 43. Reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en HNSCC, analizado en tres centros externos (CPS \geq 20)

Estudio de reproducibilidad	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Intercentro	CPS \geq 20	Se analizaron las 38 muestras de HNSCC (25 negativas para PD-L1 y 13 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en 5 días no consecutivos. Se realizaron análisis intercentro entre 3 centros en un total de 570 comparaciones con el consenso.	NPA 95,5 % (92,0-98,4 %) PPA 81,0 % (71,3-90,3 %) OA 90,5 % (86,5-94,4 %)
Intracentro	CPS \geq 20	Se analizaron las 38 muestras de HNSCC (25 negativas para PD-L1 y 13 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en 5 días no consecutivos en cada uno de los 3 centros de estudio. Se realizaron análisis intracentro en 3 centros en un total de 570 comparaciones por pares con el consenso.	NPA 96,9 % (94,6-98,8 %) PPA 90,6 % (86,3-94,9 %) OA 94,9 % (92,8-96,8 %)
Interobservador	CPS \geq 20	La puntuación de 62 muestras de HNSCC (31 negativas para PD-L1 y 31 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, 1 en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 días no consecutivos. Se realizaron análisis interobservador entre 3 centros en un total de 556 comparaciones con el consenso.	NPA 93,1 % (87,2-97,8 %) PPA 91,0 % (85,7-95,7 %) OA 92,1 % (88,2-95,5 %)



Bioq. Alida Lucia Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

Intraobservador	CPS \geq 20	La puntuación de 62 muestras de HNSCC (31 negativas para PD-L1 y 31 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, 1 en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 días no consecutivos. Se realizaron análisis intraobservador en 3 centros en un total de 555 comparaciones con el consenso.	NPA 96,8 % (94,5-98,7 %) PPA 97,8 % (96,0-99,3 %) OA 97,3 % (95,9-98,6 %)
-----------------	---------------	---	---

NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva; OA = porcentaje de concordancia general; CPS = Combined Positive Score

Nota: Los resultados del estudio no cumplieron los criterios de aceptación especificados previamente para el PPA intercentro para CPS \geq 20 en dos estudios independientes y el OA para CPS \geq 20 intercentro en un estudio.

16.13 Evaluación del rendimiento clínico: HNSCC

Se investigó la eficacia de KEYTRUDA en KEYNOTE-048 (NCT02358031), un ensayo comparativo con tratamiento activo, aleatorizado, abierto y multicéntrico realizado en 882 pacientes con HNSCC recidivante o metastásico que no habían recibido terapia sistémica previa para enfermedad metastásica o enfermedad recidivante y que se consideran incurables mediante terapia local.¹¹ Los pacientes con enfermedad autoinmunitaria activa que requiriera terapia sistémica durante los 2 años siguientes al tratamiento o con una afección que requiriera inmunodepresión no pudieron participar en el estudio. La aleatorización se estratificó según la expresión de PD-L1 tumoral (TPS \geq 50 % o <50 %) de acuerdo con el PD-L1 IHC 22C3 pharmDx Kit, el estado del HPV de acuerdo con IHC de p16 (positivo o negativo), y estado de rendimiento ECOG (0 frente a 1). Los pacientes se aleatorizaron 1:1:1 a uno de los siguientes grupos de tratamiento:

- 200 mg de KEYTRUDA por vía intravenosa cada 3 semanas



Bioq Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matriculada Provincial N° 7.936

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

- 200 mg de KEYTRUDA por vía intravenosa cada 3 semanas, 5 mg/ml/min de ABC de carboplatino por vía intravenosa cada 3 semanas o 100 mg/m² de cisplatino por vía intravenosa cada 3 semanas, y 1000 mg/m²/día de FU como infusión intravenosa continua durante 96 horas cada 3 semanas (hasta un máximo de 6 ciclos de platino y FU)
- 400 mg/m² de cetuximab por vía intravenosa como dosis inicial y, a continuación, 250 mg/m² por vía intravenosa una vez a la semana, 5 mg/ml/min de ABC de carboplatino por vía intravenosa cada 3 semanas o 100 mg/m² de cisplatino por vía intravenosa cada 3 semanas, y 1000 mg/m²/día de FU como infusión intravenosa continua durante 96 horas cada 3 semanas (hasta un máximo de 6 ciclos de platino y FU)

El tratamiento con KEYTRUDA continuó hasta llegar a una progresión de la enfermedad de acuerdo con RECIST v1.1 según lo determinado por el investigador, una toxicidad inaceptable o un máximo de 24 meses. Se permitió la administración de KEYTRUDA después de la progresión de la enfermedad de acuerdo con RECIST, si el paciente estaba estable clínicamente y si el investigador consideraba que podía obtener beneficios clínicos. La evaluación del estado del tumor se realizó en la semana 9 y, después, cada 6 semanas durante el primer año y, desde entonces, cada 9 semanas hasta los 24 meses. Se llevó a cabo una reclasificación retrospectiva del estado de PD-L1 de los tumores de los pacientes en función de la CPS de acuerdo con el PD-L1 IHC 22C3 pharmDx Kit con las muestras de tumores que se utilizaron para la aleatorización.

Los criterios de valoración de eficacia principales fueron la SG y la SSP evaluadas mediante BICR según los criterios RECIST v1.1 (modificados para seguir un máximo de 10 lesiones objetivo y un máximo de 5 lesiones objetivo por órgano) analizadas de forma secuencial en el subgrupo de pacientes con CPS ≥ 20 , el subgrupo de pacientes con CPS ≥ 1 y la población general.

Se aleatorizó a un total de 601 pacientes para formar parte de los grupos de KEYTRUDA como agente único y cetuximab en combinación con quimioterapia: 301 pacientes al grupo de KEYTRUDA como agente único brazo y 300 pacientes al grupo de cetuximab en



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

combinación con quimioterapia. Las características de la población del estudio fueron: Mediana de edad de 61 años (intervalo: de 22 a 94), 36 % de mayores de 65 años; 85 % de varones; 74 % de raza blanca, 19 % de origen asiático y 1,7 % de raza negra; 61 % de estado de rendimiento ECOG de 1; y 79 % de fumadores o antiguos fumadores. El 22 % de los tumores de los pacientes fueron positivos para HPV y el 96 % presentaban enfermedad en estadio IV (20 % el estadio IVA, 6 % el estado IVB y 70 % el estadio IVC).

Para el subgrupo de pacientes aleatorizados para KEYTRUDA como agente único o cetuximab en combinación con quimioterapia, el nivel de expresión de PD-L1 para tejidos de resección o biopsias tumorales de 601 pacientes (159 archivadas y 442 recientes; consulte en la definición en la Tabla 44) se determinó mediante PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. En general, el 85 % (512/601) de los pacientes presentaba tumores con expresión de PD-L1 con CPS ≥ 1 . Se analizaron las muestras del 86 % (380/442) de los pacientes que correspondían a muestras tumorales recientes para las pruebas de PD-L1 y del 83 % (132/159) de los pacientes que correspondían a muestras tumorales archivadas con una expresión de la PD-L1 a CPS ≥ 1 . El 43 % (255/597) de los pacientes tenían tumores que expresaban PD-L1 con CPS ≥ 20 ; 4 pacientes tenían una expresión de la PD-L1 desconocida (una muestra era de tejido archivado y tres muestras eran de tejido reciente). Se analizaron las muestras del 42 % (186/439) de los pacientes que correspondían a muestras tumorales recientes para las pruebas de PD-L1 y del 44 % (69/158) de los pacientes que correspondían a muestras tumorales archivadas con una expresión de la PD-L1 a CPS ≥ 20 (Tabla 44).

Tabla 44. Expresión de PD-L1 tumoral por tipo de muestra

Tejido tumoral	Número (%) con CPS <1	Número (%) con CPS ≥ 1	Número (%) con CPS ≥ 20
Estudio global n=601	89 (15)	512 (85)	255 (43)**
Tejido archivado* n=159	27 (17)	132 (83)	69 (44)**
Tejido reciente* n=442	62 (14)	380 (86)	186 (42)**


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.938


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

*En el contexto del ensayo clínico KEYNOTE-048, se definieron las biopsias de tejido recientes como las biopsias obtenidas en los 90 días anteriores al inicio del tratamiento con pembrolizumab. Las muestras con una antigüedad >90 días se clasificaron como archivadas.

**Basándose en pacientes con expresión de PD-L1 conocida; 4 pacientes presentaron expresión de PD-L1 desconocida (una muestra era de tejido archivado y tres muestras eran de tejido reciente).

El ensayo mostró una mejora estadísticamente significativa en la SG para el subgrupo de pacientes con PD-L1 CPS ≥ 1 aleatorizados para recibir KEYTRUDA como agente único en comparación con los pacientes aleatorizados para recibir cetuximab en combinación con quimioterapia. En el momento del análisis intermedio, no se observó ninguna diferencia significativa en la SG entre el grupo con KEYTRUDA como agente único y el grupo de control de la población general.

En la Tabla 45 se resumen los resultados de la eficacia para KEYTRUDA como agente único en el subgrupo de pacientes con HNSCC con CPS ≥ 1 y HNSCC con CPS ≥ 20 . En la Figura 5 se resumen los resultados de SG del subgrupo de pacientes con HNSCC con CPS ≥ 1 .

Tabla 45. Resultados de eficacia para KEYTRUDA como agente único en KEYNOTE-048 (CPS ≥ 1 y CPS ≥ 20)

Criterio de valoración	CPS ≥ 1		CPS ≥ 20	
	KEYTRUDA 200 mg cada 3 semanas n=257	Cetuximab Platino FU n=255	KEYTRUDA 200 mg cada 3 semanas n=133	Cetuximab Platino FU n=122
SG				
Número de eventos (%)	177 (69 %)	206 (81 %)	82 (62 %)	95 (78 %)
Mediana en meses (IC del 95 %)	12,3 (10,8; 14,9)	10,3 (9,0; 11,5)	14,9 (11,6; 21,5)	10,7 (8,8; 12,8)



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Cociente de riesgos instantáneos* (IC del 95 %)	0,78 (0,64; 0,96)		0,61 (0,45; 0,83)	
Valor p†	0,0171		0,0015	
SSP				
Número de eventos (%)	225 (88 %)	231 (91 %)	113 (85 %)	111 (91 %)
Mediana en meses (IC del 95 %)	3,2 (2,2; 3,4)	5,0 (4,8; 5,8)	3,4 (3,2; 3,8)	5,0 (4,8; 6,2)
Cociente de riesgos instantáneos ‡ (IC del 95 %)	1,15 (0,95; 1,38)		0,99 (0,75; 1,29)	
Tasa de respuesta objetiva				
TRO‡ (IC del 95 %)	19 % (14,5, 24,4)	35 % (29,1, 41,1)	23 % (16,4, 31,4)	36 % (27,6, 45,3)
Tasa de respuesta completa	5 %	3 %	8 %	3 %
Tasa de respuesta parcial	14 %	32 %	16 %	33 %
Duración de la respuesta				
Mediana en meses (intervalo)	20,9 (1,5+; 34,8+)	4,5 (1,2+; 28,6+)	20,9 (2,7; 34,8+)	4,2 (1,2+; 22,3+)

* Basado en el modelo de Cox de riesgo proporcional estratificado

† Basado en la prueba del orden logarítmico estratificada

‡ Respuesta: Mejor respuesta objetiva confirmada como respuesta completa o parcial

En un análisis de subgrupos exploratorios para los pacientes con HNSCC con CPS 1-19, la SG mediana fue de 10,8 meses (IC del 95 %: 9,0; 12,6) para KEYTRUDA como agente único y de 10,1 meses (IC del 95 %: 8,7; 12,1) para cetuximab combinado con quimioterapia, con un CRI de 0,90 (IC del 95 %: 0,68; 1,18).



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

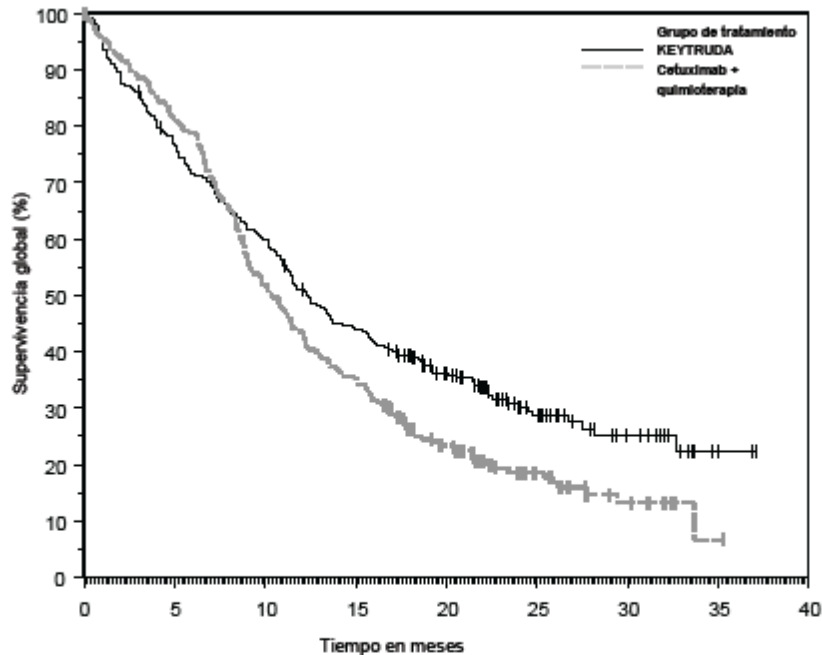


Figura 5. Curva de Kaplan-Meier para la supervivencia global para KEYTRUDA como agente único en KEYNOTE-048 (CPS ≥ 1)

16.14 Evaluación del rendimiento no clínico: TNBC

Se realizaron estudios no clínicos en muestras FFPE de TNBC.

16.14.1 Sensibilidad/Especificidad analítica: TNBC

La sensibilidad analítica de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se analizó en 100 muestras FFPE de TNBC (en los estadios del I al IV) con un lote de producción fabricado. En la evaluación de la expresión de PD-L1 se mostró tinción a lo largo de un rango de CPS de 0-100, en el que el 30 % de las muestras presentó una expresión de PD-L1 con una CPS ≥ 10 .

16.14.2 Precisión: TNBC

La precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se evaluó en Agilent. Se comprobaron la precisión interinstrumento, interoperador, interdía e interlote como precisión combinada.

Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Para los estudios de precisión, el porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el porcentaje de concordancia general (OA) se calcularon con intervalos de confianza del 95 % bilaterales con el método bootstrap para el valor de corte de CPS ≥ 10 , tal como se muestra en la Tabla 46.

Tabla 46. Precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en TNBC, analizado en un único centro (CPS ≥ 10)

Estudio de precisión	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Precisión combinada* (interoperador, interinstrumento, interdía e interlote como variables combinadas)	CPS ≥ 10	Se analizaron las 33 muestras de TNBC (21 negativas para PD-L1 y 12 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 por 3 operadores en 3 instrumentos Autostainer Link 48 en 3 días no consecutivos y con 3 lotes de reactivos.	NPA 100,0 % (94,3-100,0 %)* PPA 100,0 % (90,4-100,0 %)* OA 100,0 % (96,3-100,0 %)*
Precisión intraanálisis* (Repetibilidad)	CPS ≥ 10	Se analizaron las 33 muestras de TNBC (16 negativas para PD-L1 y 17 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con 5 repeticiones en la misma sesión con el instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100,0 % (95,4-100,0 %)* PPA 94,0 % (86,9-100,0 %) OA 96,9 % (93,3-100,0 %)
Precisión interobservador	CPS ≥ 10	La puntuación de 48 muestras de TNBC (31 negativas para PD-L1 y 17 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos en 3 días no consecutivos.	NPA 93,2 % (87,5-97,8 %) PPA 92,2 % (85,6-97,4 %) OA 92,8 % (88,4-96,8 %)
Precisión intraobservador	CPS ≥ 10	La puntuación de 48 muestras de TNBC (31 negativas para PD-L1 y 17 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos en 3 días no consecutivos.	NPA 98,5 % (97,0-99,6 %) PPA 94,5 % (90,9-98,0 %) OA 97,0 % (95,4-98,6 %)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva; OA = porcentaje de concordancia general; CPS = Combined Positive Score

*El método de bootstrap de percentiles no puede calcular intervalos de confianza si se observa una concordancia del 100,0%, por lo que se utilizó el método de puntuación de Wilson para calcular los intervalos de confianza de la precisión combinada y la concordancia de la precisión intraanálisis cuando se observó una concordancia del 100,0%. Tenga en cuenta que el método de puntuación de Wilson presenta limitaciones, pues se presupone la independencia de los datos. Dado que una muestra supone una contribución mayor que una comparación con el consenso, los datos no son independientes.

16.14.3 Reproducibilidad externa: TNBC

La reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se evaluó en tres centros externos. El porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el porcentaje de concordancia general (OA) se calcularon con intervalos de confianza bilaterales del 95 % con el método bootstrap.

Tabla 47. Reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en TNBC, analizado en tres centros externos (CPS \geq 10)

Estudio de reproducibilidad	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95 %)
Intercentro	CPS \geq 10	Se analizaron las 40 muestras de TNBC (19 negativas para PD-L1 y 21 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en 5 días no consecutivos. Se realizaron análisis intercentro entre 3 centros en un total de 600 comparaciones con el consenso.	NPA 93,0 % (85,3-100,0 %) PPA 92,1 % (86,3-97,1 %) OA 92,5 % (87,8-96,7 %)
Intracentro	CPS \geq 10	Se analizaron las 40 muestras de TNBC (19 negativas para	NPA 97,1 % (94,3-99,3 %) PPA 94,4 % (90,0-98,1 %)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

		PD-L1 y 21 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en 5 días no consecutivos en cada uno de los 3 centros de estudio. Se realizaron análisis intracentro en 3 centros en un total de 600 comparaciones por pares con el consenso.	OA 95,7 % (92,7-98,2 %)
Interobservador	CPS \geq 10	La puntuación de 60 muestras de TNBC (26 negativas para PD-L1 y 34 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, 1 en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 días no consecutivos. Se realizaron análisis interobservador entre 3 centros en un total de 540 comparaciones con el consenso.	NPA 97,0 % (93,6-100,0 %) PPA 95,4 % (91,2-98,7 %) OA 96,1 % (93,3-98,5 %)
Intraobservador	CPS \geq 10	La puntuación de 60 muestras de TNBC (26 negativas para PD-L1 y 34 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por 3 anatomopatólogos, 1 en cada uno de los 3 centros de estudio, en 3 días no consecutivos. Se realizaron análisis intraobservador en 3 centros en un total de 540 comparaciones con el consenso.	NPA 98,7 % (96,6-100,0 %) PPA 96,7 % (94,6-98,7 %) OA 97,6 % (96,1-98,9 %)



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

NPA = porcentaje de concordancia negativa; PPA = porcentaje de concordancia positiva; OA = porcentaje de concordancia general; CPS = Combined Positive Score

16.15 Evaluación del rendimiento clínico: TNBC

Se investigó la eficacia de KEYTRUDA en combinación con paclitaxel, paclitaxel unido a proteínas o gemcitabina y carboplatino en el ensayo clínico, controlado por placebo, aleatorizado, de doble enmascaramiento y multicéntrico KEYNOTE-355 (NCT02819518), realizado en 847 pacientes con TNBC metastásico o no resecable localmente recurrente, independientemente de la expresión tumoral de PD-L1, que no habían sido tratados previamente con quimioterapia en situación de metástasis.¹² Los pacientes con enfermedad autoinmunitaria activa que requiriera terapia sistémica durante los 2 años siguientes al tratamiento o con una afección que requiriera inmunodepresión no pudieron participar en el estudio. La aleatorización se estratificó por tratamiento de quimioterapia (paclitaxel o paclitaxel unido a proteínas frente a gemcitabina y carboplatino), expresión tumoral de PD-L1 (CPS ≥ 1 frente a CPS < 1) de acuerdo con el kit PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, y el tratamiento previo con la misma clase de quimioterapia en el tratamiento neoadyuvante (Sí frente a No). De acuerdo con el plan de análisis especificado previamente, la población de análisis del estudio incluyó poblaciones de pacientes con expresión tumoral de PD-L1 CPS ≥ 1 y CPS ≥ 10 .

Los pacientes se aleatorizaron (2:1) en uno de los siguientes grupos de tratamiento; todos los medicamentos del estudio se administraron mediante infusión intravenosa:

- 200 mg de KEYTRUDA el día 1 cada 3 semanas en combinación con 100 mg/m² de paclitaxel unido a proteína los días 1, 8 y 15 cada 28 días, 90 mg/m² de paclitaxel los días 1, 8 y 15 cada 28 días, o 1000 mg/m² de gemcitabina y 2 mg/ml/min de ABC de carboplatino los días 1 y 8 cada 21 días.
- Placebo el día 1 cada 3 semanas en combinación con 100 mg/m² de paclitaxel unido a proteína los días 1, 8 y 15 cada 28 días, 90 mg/m² de paclitaxel los días 1, 8 y 15 cada 28 días, o 1000 mg/m² de gemcitabina y 2 mg/ml/min de ABC de carboplatino los días 1 y 8 cada 21 días.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

La evaluación del estado del tumor se realizó en las semanas 8, 16 y 24 y, después, cada 9 semanas durante el primer año y, desde entonces, cada 12 semanas. Los criterios de valoración de eficacia principales fueron la SG y la SSP evaluadas mediante BICR según los criterios RECIST v1.1 (modificados para seguir un máximo de 10 lesiones objetivo y un máximo de 5 lesiones objetivo por órgano) analizadas en el subgrupo de pacientes con CPS ≥ 10 . Los criterios de valoración adicionales de la eficacia fueron la SG, así como la TRO y la DR, según la evaluación realizada por el BICR.

Las características de los pacientes de la población del estudio fueron: Mediana de edad de 53 años (intervalo: de 22 a 85), 21 % de mayores de 65 años; 100 % de mujeres; 68 % de raza blanca, 21 % de origen asiático y 4 % de raza negra; 60 % de estado de rendimiento ECOG de 0 y 40 % un estado de rendimiento ECOG de 1; 68 % postmenopáusicas. El 75% de los pacientes presentaba una expresión tumoral de PD-L1 CPS ≥ 1 y el 38% presentaba una expresión tumoral de PD-L1 CPS ≥ 10 .

La Tabla 48 y la Figura 6 resumen los resultados de eficacia de KEYNOTE-355.

Tabla 48: Resultados de la eficacia de KEYNOTE-355 (CPS ≥ 10)

Criterio de valoración	KEYTRUDA 200 mg cada 3 semanas con quimioterapia n=220	Placebo cada 3 semanas con quimioterapia n=103
SSP		
Número de pacientes con suceso (%)	136 (62 %)	79 (77 %)
Mediana en meses (IC del 95 %)	9,7 (7,6; 11,3)	5,6 (5,3; 7,5)
Cociente de riesgos instantáneos* (IC del 95 %)	0,65 (0,49, 0,86)	
Valor p†	0,0012	
ORR		
Tasa de respuesta objetiva confirmada (IC del 95 %)	53 % (46, 60)	40 % (30, 50)
Tasa de respuesta completa	17 %	13 %

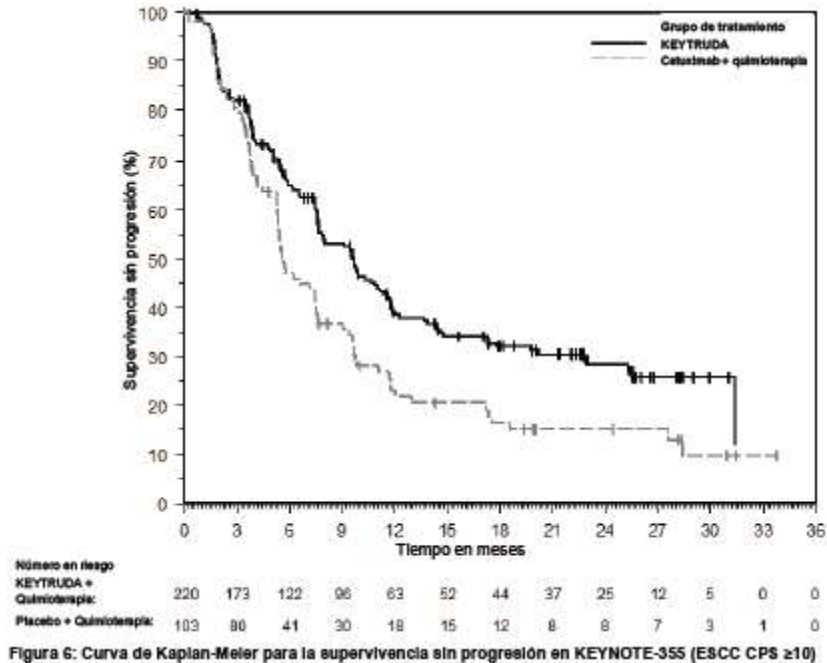

Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tasa de respuesta parcial	36 %	27 %
DR		
Mediana en meses (IC del 95 %)	19,3 (9,9; 29,8)	7,3 (5,3; 15,8)

* Basado en el modelo de regresión de Cox estratificado.

‡ Valor de p unilateral según prueba del orden logarítmico estratificada



16.16 Estabilidad

Tres lotes únicos de SK006 PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se sometieron a pruebas de estabilidad en tiempo real. Uno de los tres lotes de kits también se sometió a ciclos en uso/a bordo de un mínimo de 16 ciclos y simulación de transporte.


 Biot. Alida Lucia Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.938


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

Los tres lotes de kits únicos tienen un conjunto único de bloques de tejido asignados para la prueba. Todos los tejidos utilizados en el estudio se tiñeron en T0 y se montaron permanentemente para referencia futura durante todo el estudio.

Las siguientes muestras de tejido se analizan en cada momento para cada lote del kit:

1% de corte:

Un (1) bloque NSCLC negativo (TPS 0%)

Un (1) bloque de NSCLC positivo (TPS >60%)

Dos (2) bloques de NSCLC cerca del límite del 1 % (TPS 0-10 %)

50% de corte:

Un (1) bloque de NSCLC negativo (TPS <40%)

Un (1) bloque de NSCLC positivo (TPS >60%)

Dos (2) bloques de NSCLC cerca del límite del 50 % (TPS 40-60 %)

Se probaron múltiples bloques para cada categoría de muestras en T0 con cada lote del kit. Se utiliza un conjunto de muestras para cada lote del kit para todos los puntos de tiempo posteriores a lo largo del estudio.

Cada muestra se tiñe usando secciones duplicadas con el anticuerpo positivo dentro de la misma serie. Cada muestra se tiñe usando una sola sección con el reactivo de control negativo dentro de la misma serie que el anticuerpo positivo. Cada serie contiene un portaobjetos de línea celular de control teñido solo con el anticuerpo positivo, que funciona como control de serie.

En T0, se usó un kit de control para teñir todos los especímenes de acuerdo con el arreglo descrito en el párrafo anterior. Las secciones de muestras teñidas con los kits de estabilidad se compararon con las teñidas con el kit de control en T0 para garantizar que la tinción cumpliera con los criterios de aceptación del kit.

Después de T0, no se ejecutó un kit de control en puntos de tiempo posteriores. Las secciones teñidas con los kits de estabilidad en los puntos de tiempo T1 a TEnd se comparan con sus respectivos portaobjetos montados permanentemente desde T0, para evaluar los criterios de aceptación y la desviación.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Conclusiones: Según los resultados en tiempo real hasta la fecha, la vida útil desde la fecha de fabricación es la siguiente:

Buena vida útil terminada: 10 meses a 2-8°C

Margen de Seguridad: 2 meses a 2-8°C

Vida útil total (incluye margen de seguridad): 12 meses a 2-8°

17. Método de evaluación del producto empleado por el establecimiento elaborador y resultados que expresen las características específicas de desempeño para PD-L1 IHC 28-8 pharmDx

17.1 Evaluación del rendimiento no clínico

17.1.1 Especificidad analítica para PD-L1 IHC 28-8 pharmDx

El anticuerpo primario para PD-L1 IHC 28-8 pharmDx es un anticuerpo monoclonal de conejo contra la PD-L1 humana, clon 28-8. El inmunógeno utilizado para generación de anticuerpos es una PD-L1 humana recombinante purificada que contiene el dominio extracelular (Phe19-Thr239) de la PD-L1 humana. La tinción de IHC con PD-L1 Primary Antibody no presentó reactividad cruzada para PD-L2 expresada de forma exógena en células de ovario de hámster chino (CHO).

PD-L1 IHC 28-8 pharmDx detecta específicamente la proteína de la membrana de PD-L1 en células tumorales de tejidos FFPE, que pueden desaparecer totalmente por la adición del antígeno de PD-L1. PD-L1 IHC 28-8 pharmDx no detecta la proteína de la membrana de PD-L1 en células tumorales inactivadas de PD-L1 en el que se elimina genéticamente el gen de PD-L1.

17.2.2 Tejidos neoplásico y normal

La Tabla 3 resume la inmunorreactividad de Monoclonal Rabbit Anti-Human PD-L1 en el panel recomendado para tejidos normales. La Tabla 4 resume la inmunorreactividad de Monoclonal Rabbit Anti-Human PD-L1 en tejidos neoplásicos en micromatrices de tejidos multitumorales. Todos los tejidos se fijaron con formol, se incluyeron en parafina, y se



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

tiñeron con PD-L1 IHC 28-8 pharmDx, según estas instrucciones de uso. PD-L1 IHC 28-8 pharmDx detectó la proteína PD-L1 localizada en la membrana plasmática de tipos de células que se sabe que expresan el antígeno de PD-L1, como inmunocitos y células de origen epitelial, principalmente células tumorales.

Tabla 3: Resumen de la reactividad de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx en tejido normal

Tissue Type (Tipo de tejido) (n.º analizado)	Tinción positiva de la membrana plasmática: Elementos tisulares	Tinción citoplasmática positiva: Elementos tisulares
Amígdala (3)	3/3 epitelio de la cripta 3/3 centro germinal (inmunocitos)	0/3
Bazo (3)	1/3 macrófagos 3/3 células litorales	0/3
Células mesoteliales (3)	0/3	0/3
Cerebelo (3)	0/3	0/3
Cerebro (3)	0/3	0/3
Colon (3)	2/3 macrófagos	0/3
Cuello uterino (3)	1/3 epitelio	1/3 epitelio
Esófago (3)	0/3	0/3
Estómago (3)	0/3	0/3
Glándula salivar (3)	0/3	0/3
Hígado (3)	2/3 inmunocitos	2/3 inmunocitos
Hipófisis (3)	1/3 adenohipófisis anterior	1/3 adenohipófisis anterior 3/3 neurohipófisis posterior
Intestino delgado (3)	0/2*	0/2*
Mama (3)	0/3	0/3
Médula ósea (3)	3/3 megacariocitos	3/3 megacariocitos
Músculo, cardíaco (3)	0/2*	0/2*
Músculo, esquelético (3)	0/2*	0/2*
Nervio, periférico (3)	0/3	0/3



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998




ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Ovario (3)	0/3	0/3
Páncreas (3)	3/3 epitelio (principalmente células de los islotes)	3/3 epitelio (principalmente células de los islotes)
Paratiroides (3)	3/3 epitelio	0/3
Piel (3)	0/3	1/3 epitelio
Próstata (3)	0/2*	0/2*
Pulmón (3)	3/3 macrófagos alveolares	0/3
Riñón (3)	3/3 epitelio tubular	3/3 epitelio tubular
Suprarrenal (3)	3/3 células medulares	3/3 células medulares
Testículo (3)	0/3	1/3 células de Leydig
Timo (3)	3/3 epitelio medular	0/3
Tiroides (3)	0/3	0/3
Útero (3)	0/3	0/3
Vejiga (3)	1/3 urotelio	1/3 músculo liso, urotelio

* Se observó que una de las tres muestras analizadas de este tipo de tejido mostraba artefactos de secado o una fuerte tinción de fondo que descartaron su puntuación, por lo que los resultados de esta muestra no se han descrito.

Tabla 4: Resumen de la reactividad de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx en tejido neoplásico

Tipo de tumor	Ubicación / Órgano	Positivo para PD-L1/total (N=162)
Adenocarcinoma	Apéndice	1/1
Adenocarcinoma	Cabeza y cuello, bóveda del paladar	0/1
	Carcinoma broncoalveolar, pulmón	0/1
	Colon	2/5
	Colon, con metástasis en el hígado	1/1



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	Colon, mucinoso	0/1
	Cuello uterino, tipo endocervical	0/1
	Esófago	1/1
	Estómago	1/6
	Estómago, mucinoso	0/1
	Gastrointestinal, con metástasis en el pulmón	0/1
	Glándula parótida/salival	0/2
	Intestino delgado	0/2
	Mama, DCIS	0/2
	Mama, ductal invasivo	3/7
	Mama, ductal invasivo con metástasis en el ganglio linfático	1/1
	Ovario, endometriode	0/1
	Ovario, mucinoso	0/1
	Ovario, seroso	0/1
	Ovarios	0/1
	Páncreas	1/2
	Páncreas, ductal	0/3
	Próstata	2/4
	Pulmón	2/5
	Recto	2/4
	Tiroides, folicular	0/1
	Tiroides, folicular papilar	0/1
	Tiroides, papilar	0/3
	Útero, célula clara	1/1
	Útero, endometrio	1/3
	Vesícula biliar	2/4
Astrocitoma	Cerebro	0/3
Carcinoma	Nasofaríngeo, NPC	0/1
Carcinoma corticosuprarrenal	Suprarrenal	0/1



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Carcinoma de células basales	Piel	0/1
Carcinoma de células en anillo de sello	Carcinoma de células en anillo de sello de colon con metástasis en el ovario	0/1
Carcinoma de células en anillo de sello	Colon	0/1
Carcinoma de células escamosas	Cabeza y cuello	0/2
Carcinoma de células escamosas	Carcinoma de células escamosas de esófago con metástasis en el ganglio linfático	1/1
	Cuello uterino	2/4
	Esófago	4/7
	Piel	1/2
	Pulmón	1/3
	Útero	1/1
Carcinoma de células grandes	Pulmón	1/1
Carcinoma de células pequeñas	Pulmón	1/2
Carcinoma de células renales		
Célula clara	Riñón	0/6
Papilar	Riñón	0/1
Carcinoma de células transicionales	Riñón	0/1
Vejiga		3/6
Carcinoma embrionario	Testículo	0/1
Carcinoma hepatocelular	Hígado	1/5
Carcinoma medular	Tiroides	0/1
Cordoma	Cavidad pélvica	0/1
Ependimoma	Cerebro	0/1
Espermatocitoma	Testículo	0/2
Glioblastoma	Cerebro	0/1



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Hepatoblastoma	Hígado	0/1
Insulinoma	Páncreas	0/1
Linfoma		
Anaplásico de células grandes	Ganglio linfático	1/1
Difuso de células B	Ganglio linfático	2/4
Hodgkin	Ganglio linfático	2/2
No Hodgkin	Ganglio linfático	1/1
Liposarcoma	Cavidad abdominal, mucinosa	0/1
Meduloblastoma	Cerebro	0/1
Melanoma	Cavidad nasal	0/1
Melanoma	Recto	0/1
Meningioma	Cerebro	0/2
Mesotelioma	Peritoneo	0/1
Neuroblastoma	Retroperitoneo	0/1
Neuroectodérmico primitivo	Retroperitoneo	0/1
Neurofibroma	Tejido blando, región lumbar	0/1
Sarcoma		
Célula clara	Pared abdominal	0/1
Condrosarcoma	Hueso	0/1
Leiomiomasarcoma	Tejido blando, pared torácica	0/1
Vejiga		0/1
Liposarcoma	Cavidad abdominal, mucinosa	0/1
Osteosarcoma	Hueso	0/2
Rabdomiosarcoma	Próstata	0/1
	Retroperitoneo	0/1
	Tejido blando, embrionario	0/1
Sarcoma sinovial	Cavidad pélvica	0/1
Seminoma	Testículo	0/2
Timoma	Mediastino	1/1
Tumor intersticial	Colon	0/1


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.936


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

	Intestino delgado	0/1
	Recto	0/1

17.2 Evaluación del rendimiento

Evaluación del rendimiento: NSCLC con nivel de expresión $\geq 1\%$

17.2.1 Sensibilidad analítica: NSCLC

La sensibilidad analítica de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx se analizó en 186 casos únicos de muestras humanas FFPE de NSCLC en los estadios del I a IV con un lote de producción fabricado. La evaluación de la expresión de PD-L1 mostró tinción en un rango de 0-100% de células tumorales positivas y de 0-3 de intensidad de la tinción.

17.2.2 Repetibilidad/reproducibilidad externa: NSCLC

La repetibilidad y la reproducibilidad externa de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx se evaluó en Agilent y tres centros de análisis externos respectivamente. En las Tablas 5 y 6 se recogen los cálculos del porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA), el porcentaje de concordancia general (OA) y los intervalos de confianza del 95 % bilaterales correspondientes. Las comparaciones se realizaron utilizando como referencia el resultado del diagnóstico mayoritario en todas las observaciones de una muestra determinada.

Tabla 5: Repetibilidad de PD-L1 IHC 288 pharmDx: NSCLC con nivel de expresión $\geq 1\%$

Repetibilidad	Método	% de concordancia (IC del 95%)
Nivel de expresión $\geq 1\%$		
Interinstrumento	Se analizó dos veces cada una de las 90 muestras de NSCLC con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en cada uno de los tres instrumentos	NPA 97,8 (94,9-100) PPA 98,5 (96,2-100) OA 98,1 (96,3-99,6)

Biot. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matriculada Provincial N° 7.936

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	Autostainer Link 48. Se realizaron un total de 539 comparaciones con la secuencia mayoritaria.	
Interoperador/analista	Se analizó dos veces cada una de las 90 muestras de NSCLC con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 por tres operadores distintos en un Autostainer Link 48. Se realizaron un total de 539 comparaciones con la secuencia mayoritaria.	NPA 99,0 (97,6-100) PPA 100 (98,5-100) OA 99,4 (98,7-100)
Interdía	Se analizó cada una de las 90 muestras de NSCLC con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con una repetición durante cinco días no consecutivos en el instrumento Autostainer Link 48. Se realizaron un total de 445 comparaciones con la secuencia mayoritaria.	NPA 98,4 (96,0-100) PPA 99,0 (97,5-100) OA 98,7 (97,1-99,8)
Intrasesión	Se analizó cada una de las 90 muestras de NSCLC con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con cinco repeticiones en una serie en el instrumento Autostainer Link 48. Se realizaron un total de 447 comparaciones con la secuencia mayoritaria.	NPA 98,6 (96,4-100) PPA 98,7 (97,0-100) OA 98,7 (97,3-99,8)
En lotes diferentes	Se analizó cada una de las 36 muestras de NSCLC con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con dos repeticiones con cada uno de los tres lotes de reactivos en el instrumento	NPA 100 (97,3-100) PPA 99,1 (97,3-100) OA 99,4 (98,3-100)



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	Autostainer Link 48. Se realizaron un total de 360 comparaciones con la secuencia mayoritaria.	
--	--	--

Tabla 6: Reproducibilidad de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx: NSCLC con nivel de expresión $\geq 1\%$

Reproducibilidad	Método	% de concordancia (IC del 95%)
Nivel de expresión $\geq 1\%$		
Análisis intercentro (tres centros)	Se analizó cada una de las 80 muestras de NSCLC con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en cinco días no consecutivos. Se realizaron análisis intercentro entre tres centros en un total de 1198 comparaciones con la secuencia mayoritaria.	NPA 98,5 (97,1-99,6) PPA 99,2 (97,6-100) OA 98,9 (97,8-99,7)
Análisis intracentro	Se analizó cada una de las 80 muestras de NSCLC con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en cinco días no consecutivos. Se realizaron análisis intracentro en tres centros en un total de 1198 comparaciones con la secuencia mayoritaria.	NPA 98,1 (96,6-99,4) PPA 99,6 (98,9-100) OA 99,0 (98,1-99,7)
Interobservador (un observador en cada uno de los tres centros)	La puntuación de 130 muestras de NSCLC con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 fue realizada por tres anatomopatólogos, uno en cada uno de los tres centros de estudio, en tres días no consecutivos. Se realizaron análisis interobservador entre tres centros en un total de 1170 comparaciones con la secuencia mayoritaria.	NPA 95,8 (92,9-98,2) PPA 99,2 (97,8-100) OA 97,9 (96,5-99,0)
Intraobservador	La puntuación de 130 muestras de NSCLC con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 fue realizada por tres anatomopatólogos, uno en cada uno de los tres centros de estudio, en tres días no consecutivos. Se realizaron análisis	NPA 97,7 (96,2-99,1) PPA 99,6 (99,0-100) OA 98,9 (98,2-99,5)


Bióq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936


ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	intraobservador en tres centros en un total de 1170 comparaciones con la secuencia mayoritaria.	
--	---	--

17.2.3 Evaluación del rendimiento clínico: NSCLC (tratamiento de primera línea)

Se evaluó el rendimiento clínico de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx en CHECKMATE-227, un estudio abierto, aleatorizado, multicéntrico, multiparte, en fase 3 en sujetos con NSCLC en estadio IV o recidivante sin quimioterapia precedente, que no habían recibido tratamiento previo para enfermedad avanzada. La validación clínica del instrumento en este estudio se centra en la cohorte de sujetos de la Parte 1a, que se limitó a la población de pacientes con expresión de PD-L1 $\geq 1\%$, tratados con nivolumab e ipilimumab frente a quimioterapia y clasificados según la histología (tejido escamoso frente a no escamoso). Dentro de los pacientes aleatorizados en la Parte 1a, 793 pacientes se aleatorizaron 1:1 para recibir 3 mg/kg de nivolumab (OPDIVO®) en combinación con 1 mg/kg de ipilimumab (YERVOY®) (n = 396) o biquimioterapia con derivado de platino en función de la histología de gemcitabine con cisplatino o carboplatino para NSCLS escamoso, y pemetrexed con cisplatino o carboplatino para NSCLS no escamoso (n = 397). Se recogieron muestras de tejido tumoral para el estudio previo (de referencia) antes de la aleatorización para realizar análisis de eficacia planificados previamente de acuerdo con los niveles de expresión de PD-L1 predefinidos. El criterio de valoración de eficacia principal fue la supervivencia global (SG). Entre los criterios de valoración de eficacia adicionales se incluyeron la supervivencia sin progresión (SSP) evaluada por BICR, la tasa de respuesta global (TRG) y la duración de la respuesta (DR).

Las características iniciales demográficas y de la enfermedad se equilibraron en general entre los sujetos aleatorizados en los grupos de nivolumab + ipilimumab y quimioterapia. La mediana de edad era de 64 años (intervalo: 26 a 87) con el 49% de los pacientes ≤ 65 años y el 10% de los pacientes ≤ 75 años, 76% blancos, 65% varones. El estado de rendimiento ECOG inicial era 0 (34%) o 1 (65%), 50% con PD-L1 $\geq 50\%$, 29% con histología escamosa y 71% con histología no escamosa, 10% con metástasis cerebrales y 85% fumadores o exfumadores.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

En el estudio se evidenciaron mejoras estadísticamente significativas en la SG en el caso de los pacientes con PD-L1 $\geq 1\%$ y un beneficio clínicamente significativo en la SSP, la TRO y la DR en comparación con solo el tratamiento de biquimioterapia con derivado de platino (la mediana de SG [IC del 95%] fue de 17,1 [15; 20,1] meses con nivolumab + ipilimumab y de 14,9 [12,7; 16,7] meses con quimioterapia, HR = 0,79 [IC del 97,72%: 0,65; 0,96]; valor p de la prueba de orden logarítmico estratificado = 0,0066). Los resultados de eficacia se recogen en la Tabla 7 y el diagrama de Kaplan-Meier sobre la SG se muestra en la Figura 1.

Tabla 7: Resultados de eficacia (PD-L1 $\geq 1\%$) - CHECKMATE-227

Nivolumab e ipilimumab (n = 396)		Quimioterapia (n = 397)
Supervivencia global		
Eventos (%)	258 (65,2)	298 (75,1)
Mediana (meses) ^a (IC del 95%)	17,1 (15, 20,1)	14,9 (12,7, 16,7)
Cociente de riesgos instantáneos (IC del 97,72%) ^b	0,79 (0,65; 0,96)	
Valor p de orden logarítmico estratificado	0,0066	

^a Estimación de Kaplan-Meier.

^b Basado en un modelo de Cox de riesgo proporcional estratificado.

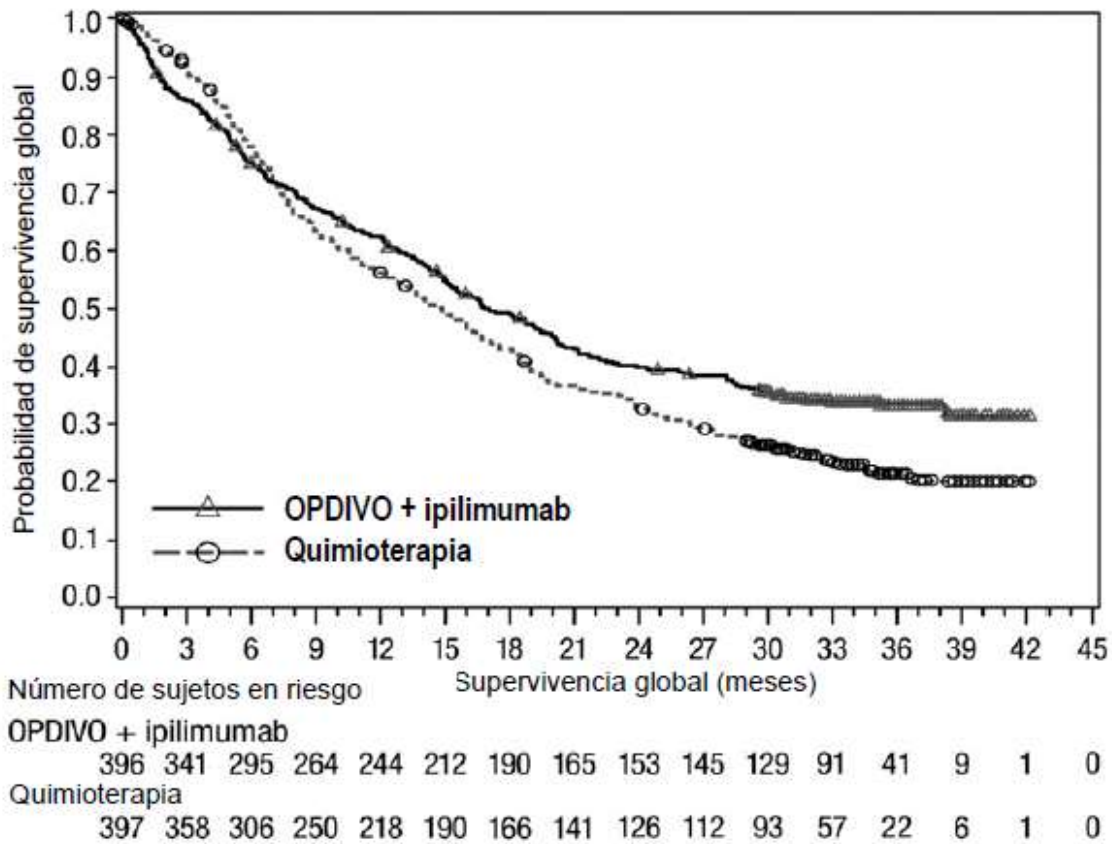


Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Figura 1: Supervivencia global (PD-L1 $\geq 1\%$) - CHECKMATE-227



En la SSP evaluada por BICR se mostró un HR de 0,82 (IC del 95%: 0,69; 0,97), con una mediana de SSP de 5,1 meses (IC del 95%: 4,1; 6,3) en el grupo de nivolumab e ipilimumab y de 5,6 meses (IC del 95%: 4,6; 5,8) en el grupo de biquimioterapia con derivado de platino. La TRO confirmada evaluada por BICR fue del 36% (IC del 95%: 31, 41) en el grupo de nivolumab e ipilimumab y del 30% (IC del 95%: 26, 35) en el grupo de biquimioterapia con derivado de platino. La mediana de la duración de la respuesta observada fue de 23,2 meses en el grupo de nivolumab e ipilimumab y de 6,2 meses en el grupo de biquimioterapia con derivado de platino.


 Biot. Alida Lucia Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.938


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

17.3 Evaluación de rendimiento: NSCLC no escamoso con niveles de expresión de $\geq 1\%$, $\geq 5\%$, $\geq 10\%$

17.3.1 Sensibilidad analítica: nsNSCLC

La sensibilidad analítica de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx se analizó en 112 casos únicos de muestras FFPE de NSCLC no escamoso en los estadios del I a IV con un lote de producción fabricado. La evaluación de la expresión de PD-L1 mostró tinción en un rango de 0-100% de células tumorales positivas y de 0-3 de intensidad de la tinción.

17.3.2 Repetibilidad/reproducibilidad externa: nsNSCLC

La repetibilidad y la reproducibilidad externa de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx se evaluó en Agilent y tres centros de análisis externos respectivamente. Los datos de rendimiento se proporcionan en la Tabla 8 y en la Tabla 9. Se determinó el porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el porcentaje de concordancia general (OA) de una comparación independiente por pares de las pruebas para cada nivel de expresión de PD-L1 evaluado. Se aplicó la observación de mayor frecuencia como referencia para calcular el NPA, PPA, OA y los correspondientes intervalos de confianza al 95%.

Tabla 8: Repetibilidad de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx - nsNSCLC con niveles de expresión de $\geq 1\%$, $\geq 5\%$, $\geq 10\%$



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Repetibilidad	Método	% de concordancia (IC del 95%)		
		Nivel de expresión $\geq 1\%$	Nivel de expresión $\geq 5\%$	Nivel de expresión $\geq 10\%$
Interinstrumento	Se analizó cada una de las 34 muestras de NSCLC no escamoso con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en cada uno de los tres instrumentos Autostainer Link 48 dos veces. Los portaobjetos se enmascararon y aleatorizaron antes de la puntuación. Se realizó un total de 204 comparaciones independientes por pares.	NPA 100 (96,9; 100) PPA 100 (95,6; 100) OA 100 (98,2; 100)	NPA 100 (96,9; 100) PPA 98,8 (93,6; 99,8) OA 99,5 (97,3; 99,9)	NPA 98,1 (93,5; 99,5) PPA 100 (96,2; 100) OA 99,0 (96,5; 99,7)
Interanalista	Se analizó cada una de las 34 muestras de NSCLC no escamoso con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 por tres analistas dos veces	NPA 100 (96,9; 100) PPA 100 (95,6; 100) OA 100 (98,2; 100)	NPA 100 (96,9; 100) PPA 100 (95,6; 100) OA 100 (98,2; 100)	NPA 100 (96,6; 100) PPA 97,9 (92,7; 99,4) OA 99,0 (96,5; 99,7)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	<p>en un instrumento Autostainer Link 48. Los portaobjetos se enmascararon y aleatorizaron antes de la puntuación. Se realizó un total de 204 comparaciones independientes por pares.</p>			
Interdía	<p>Se analizó cada una de las 34 muestras de NSCLC no escamoso con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en cinco días no consecutivos en el instrumento Autostainer Link 48. Los portaobjetos se enmascararon y aleatorizaron antes de la puntuación. Se realizó un total de 170 comparaciones independientes por pares.</p>	<p>NPA 100 (96,3; 100) PPA 100 (94,8; 100) OA 100 (97,8; 100)</p>	<p>NPA 100 (96,3; 100) PPA 100 (94,8; 100) OA 100 (97,8; 100)</p>	<p>NPA 100 (95,9; 100) PPA 98,8 (93,3; 99,8) OA 99,4 (96,7; 99,9)</p>
Interlote	<p>Se analizó cada una de las 20 muestras de NSCLC no</p>	<p>NPA 100 (94,3; 100)</p>	<p>NPA 100 (95,4; 100)</p>	<p>NPA 100 (96,4; 100)</p>



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	<p>escamoso con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con dos repeticiones con cada uno de los cinco lotes de reactivos en el instrumento Autostainer Link 48. Se realizó un total de 160 comparaciones independientes por pares.</p>	<p>PPA 100 (96,2; 100) OA 100 (97,7; 100)</p>	<p>PPA 100 (95,4; 100) OA 100 (97,7; 100)</p>	<p>PPA 100 (93,6; 100) OA 100 (97,7; 100)</p>
Intrasesión	<p>Se analizó cada una de las 34 muestras de NSCLC no escamoso con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con cinco repeticiones en una serie en el instrumento Autostainer Link 48. Los portaobjetos se enmascararon y aleatorizaron antes de la puntuación. En total se realizaron 167 (10%) y 168 (1%</p>	<p>NPA 97,8 (92,3; 99,4) PPA 98,7 (93,1; 99,8) OA 98,2 (94,9; 99,4)</p>	<p>NPA 98,0 (93,0; 99,4) PPA 97,1 (89,9; 99,2) OA 97,6 (94,0; 99,1)</p>	<p>NPA 96,5 (90,1; 98,8) PPA 96,3 (89,8; 98,7) OA 96,4 (92,4; 98,3)</p>



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	y 5%) comparaciones independientes por pares.			
--	--	--	--	--

Tabla 9: Reproducibilidad de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx - nsNSCLC, analizado en tres centros externos con niveles de expresión $\geq 1\%$, $\geq 5\%$, $\geq 10\%$

Reproducibilidad	Método	% de concordancia (IC del 95%)		
		Nivel de expresión $\geq 1\%$	Nivel de expresión $\geq 5\%$	Nivel de expresión $\geq 10\%$
Análisis intercentro (tres centros)	Se analizó cada una de las 24 muestras de NSCLC no escamoso con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en cinco días no consecutivos. Se realizaron análisis intercentro entre tres centros en un total de 360 comparaciones independientes por pares.	NPA 89,6 (83,3; 93,7) PPA 87,1 (82,1; 90,9) OA 88,1 (84,3; 91,0)	NPA 88,0 (83,1; 91,6) PPA 92,6 (86,9; 95,9) OA 89,7 (86,2; 92,5)	NPA 90,8 (86,5; 93,9) PPA 94,2 (88,5; 97,2) OA 91,9 (88,7; 94,3)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Análisis intracentro	Se analizó cada una de las 24 muestras de NSCLC no escamoso con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en cinco días no consecutivos en cada uno de los tres centros de estudio. Se realizaron análisis intracentro en tres centros en un total de 360 comparaciones independientes por pares.	NPA 95,3 (90,7; 97,7) PPA 96,7 (93,3; 98,4) OA 96,1 (93,6; 97,7)	NPA 96,6 (93,1; 98,3) PPA 93,6 (88,5; 96,5) OA 95,3 (92,6; 97,0)	NPA 97,7 (94,8; 99,0) PPA 92,9 (87,4; 96,1) OA 95,8 (93,2; 97,5)
Interobservador (un observador en cada uno de los tres centros)	La puntuación de 30 muestras de NSCLC no escamoso con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 28-8 pharmDx, fue realizada por tres	NPA 84,0 (74,5; 90,4) PPA 92,6 (88,0; 95,5) OA 90,0 (85,8; 93,0)	NPA 94,4 (88,4; 97,4) PPA 94,4 (89,8; 97,1) OA 94,4 (91,0; 96,6)	NPA 93,3 (87,8; 96,5) PPA 88,9 (82,5; 93,2) OA 91,1 (87,1; 94,0)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	<p>histopatólogos, uno en cada uno de los tres centros de estudio, en tres días no consecutivos. Se realizaron análisis interobservador entre tres centros en un total de 270 comparaciones independientes por pares.</p>			
<p>Intraobservador (un observador en cada uno de los tres centros)</p>	<p>La puntuación de 30 muestras de NSCLC no escamoso con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 28-8 pharmDx, fue realizada por tres histopatólogos, uno en cada uno de los tres centros de estudio, en tres días no</p>	<p>NPA 91,4 (83,2; 95,8) PPA 95,8 (91,9; 97,8) OA 94,4 (91,0; 96,6)</p>	<p>NPA 94,7 (89,0; 97,6) PPA 98,1 (94,5; 99,3) OA 96,7 (93,8; 98,2)</p>	<p>NPA 97,8 (93,7; 99,2) PPA 93,3 (87,8; 96,5) OA 95,6 (92,4; 97,4)</p>



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	<p>consecutivos. Se realizaron análisis intraobservador en tres centros en un total de 270 comparaciones independientes por pares.</p>			
--	--	--	--	--

17.3.3 Evaluación del rendimiento clínico: NSCLC no escamoso (tratado previamente)

La utilidad clínica de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx se evaluó en CHECKMATE-057, un estudio abierto, aleatorizado, en fase 3 de nivolumab frente a docetaxel en sujetos adultos (18 años) con NSCLC de células no escamosas metastásico o avanzado tras el fracaso previo de la biquimioterapia antineoplásica con derivado del platino. Se aleatorizaron un total de 582 sujetos en 112 centros de 22 países (Argentina, Australia, Austria, Brasil, Canadá, Chile, República Checa, Francia, Alemania, Hong Kong, Hungría, Italia, México, Noruega, Perú, Polonia, Rumanía, Federación Rusa, Singapur, España, Suiza y Estados Unidos). Los sujetos se aleatorizaron con una proporción 1:1 y se estratificaron según 1) uso anterior de terapia de mantenimiento frente a su no uso y 2) terapia de segunda línea frente a terapia de tercera línea. Se recogieron muestras de tejido tumoral para el estudio previo (de referencia) antes de la aleatorización y antes del primer tratamiento para realizar análisis de eficacia planificados previamente de acuerdo con los niveles de expresión de PD-L1 iniciales (objetivo secundario). El criterio principal de valoración fue la supervivencia global (SG). Otros criterios de valoración secundarios fueron la tasa de respuesta objetiva (ORR), la supervivencia sin progresión (SSP) y la mejora de los síntomas relacionados con la enfermedad en 12 semanas, según la medición de la LCSS (escala de síntomas del cáncer de pulmón).

Las características iniciales demográficas y de la enfermedad se equilibraron en general entre los sujetos aleatorizados en los grupos de nivolumab y docetaxel. La edad media era de 62 años (intervalo: de 21 a 85) con un 34% ≥65 años de edad y un 7% ≥75 años de


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.938


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

edad. La mayoría de pacientes era de piel blanca (92%) y varones (55%); el estado inicial de rendimiento ECOG era 0 (31%) o 1 (69%). El setenta y nueve por ciento de los pacientes eran fumadores o lo habían sido. Las muestras tumorales fueron recogidas a partir de tumores de NSCLC no escamoso, de acuerdo con los criterios de inclusión para el estudio. En la Tabla 10 se presentan las frecuencias de la expresión de PD-L1 en cada uno de los niveles de expresión iniciales predefinidos en todos los sujetos aleatorizados en CHECKMATE-057.

Tabla 10: Frecuencia de la expresión de PD-L1 del estudio previo en todos los sujetos aleatorizados con NSCLC no escamoso - CA209057

Categoría de expresión de PD-L1 en la población	Nivolumab 3 mg/kg (N = 292)	Docetaxel (N = 290)	Total (N = 582)
Global	292	290	582
PD-L1 cuantificable al inicio (N(%))	231 (79,1)	224 (77,2)	455 (78,2)
Expresión de PD-L1 $\geq 1\%$	123/231 (53,2)	123/224 (54,9)	246/455 (54,1)
Expresión de PD-L1 inicial $< 1\%$	108/231 (46,8)	101/224 (45,1)	209/455 (45,9)
Expresión de PD-L1 inicial $\geq 5\%$	95/231 (41,1)	86/224 (38,4)	181/455 (39,8)
Expresión de PD-L1 inicial $< 5\%$	136/231 (58,9)	138/224 (61,6)	274/455 (60,2)
Expresión de PD-L1 inicial $\geq 10\%$	86/231 (37,2)	79/224 (35,3)	165/455 (36,3)
Expresión de PD-L1 inicial $< 10\%$	145/231 (62,8)	145/224 (64,7)	290/455 (63,7)
PD-L1 no cuantificable (N(%))	61 (20,9)	66 (22,8)	127 (21,8)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Se asoció a los pacientes con expresión de PD-L1 en todos los niveles de expresión predefinidos en el grupo con OPDIVO® a una mayor supervivencia en comparación con el de docetaxel, mientras que la supervivencia fue similar a docetaxel en pacientes sin expresión de PD-L1. Se observaron diferencias significativas en la SG mediana en nivolumab con respecto a los subgrupos con docetaxel cuando se analizó el nivel de expresión de PD-L1. La SG mediana fue de 17,1, 18,2 y 19,4 meses para sujetos con nivolumab en comparación con 9,0, 8,1 y 8,0 meses para sujetos con docetaxel con niveles de expresión de PD-L1 del $\leq 1\%$, $\leq 5\%$ y $\leq 10\%$ respectivamente. No hubo diferencias en la SG entre los grupos de tratamiento en sujetos con niveles de expresión $<1\%$, $<5\%$ y $<10\%$, con intervalos de SG mediana de 9,7 a 10,4 meses para nivolumab y de 10,1 a 10,3 meses para docetaxel. Los índices de riesgo (HR) no estratificados y la supervivencia global (SG) se presentan en la Figura 2. En la Figura 3 y en la Figura 4 se muestra el gráfico de Kaplan-Meier para subgrupos por nivel de expresión de PD-L1.

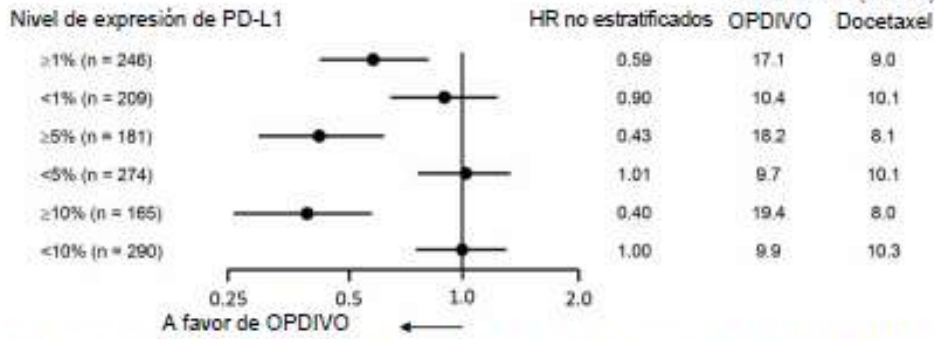


Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



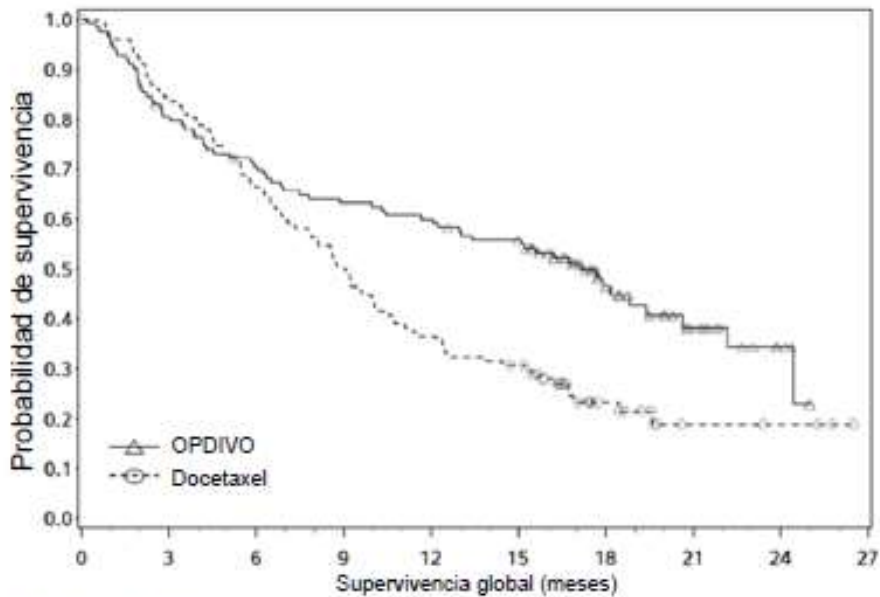
ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Figura 2: Diagrama de bosque - SG basada en la expresión de PD-L1 en pacientes con NSCLC no escamoso




Nota: Se estimó el índice de riesgo no estratificado y el correspondiente IC del 95% en un modelo de Cox de riesgos con el grupo aleatorizado como única covarianza.


Figura 3: Supervivencia global - Pacientes con NSCLC no escamoso con expresión de PD-L1 ≥1% - CA20905



Número en riesgo		0	3	6	9	12	15	18	21	24	27
OPDIVO	123	98	86	77	73	65	27	13	5	0	0
Docetaxel	123	102	80	61	44	36	13	4	3	0	0

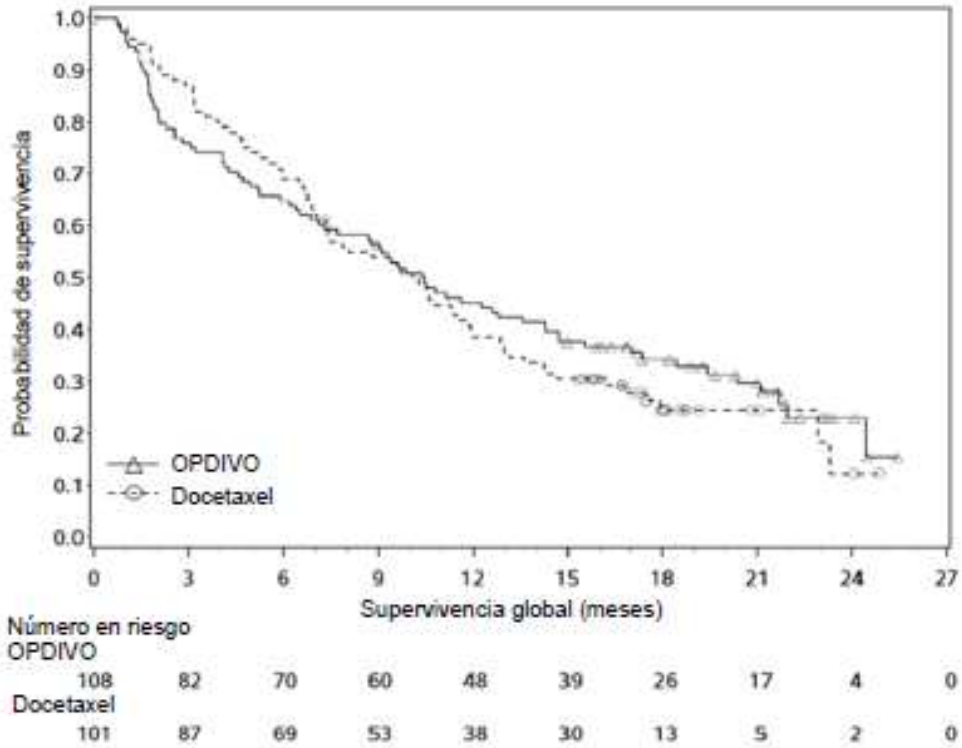


Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Figura 4: Supervivencia global - Pacientes con NSCLC no escamoso con expresión de PD-L1 <1% - CA209057



17.4 Evaluación del rendimiento: Melanoma con nivel de expresión $\geq 1\%$

17.4.1 Sensibilidad analítica: Melanoma

La sensibilidad analítica de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx se analizó en 104 casos únicos de muestras FFPE de melanoma en los estadios del I a IV. La evaluación de la expresión de PD-L1 mostró tinción en un rango de 0-100% de células tumorales positivas y de 0-3 de intensidad de la tinción.

17.4.2 Repetibilidad/Reproducibilidad externa: Melanoma

La repetibilidad/reproducibilidad externa de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx se evaluó en Agilent y tres centros de análisis externos. Los


 Biot. Alida Lucia Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.936


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

datos de rendimiento se proporcionan en la Tabla 11 y en la Tabla 12. Se determinó el porcentaje de concordancia negativa media (ANA), el porcentaje de concordancia positiva media (APA) y el porcentaje de concordancia general (OA) de una comparación no redundante por pares de las pruebas para cada nivel de expresión de PD-L1 evaluado.

Tabla 11: Repetibilidad de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx - Melanoma

Repetibilidad	Método	% de concordancia (IC del 95%)
Nivel de expresión ≥1%		
Interinstrumento	Se analizó cada una de las 16 muestras de melanoma con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con tres repeticiones en cada uno de los tres instrumentos Autostainer Link 48. Se realizó un total de 160 comparaciones por pares.	ANA 89,5% (83,2; 93,6%) APA 90,5% (84,8; 94,2%) OA 90,0% (86,0; 92,9%)
Interanalista	Se analizó cada una de las 16 muestras de melanoma con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con tres repeticiones por tres distintos analistas en un instrumento Autostainer Link 48. Se realizó un total de	ANA 96,4% (92,9; 98,2%) APA 96,8% (93,8; 98,4%) OA 96,6% (94,5; 97,9%)



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

	240 comparaciones por pares.	
Interdía	Se analizó cada una de las 16 muestras de melanoma con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con tres repeticiones en cinco días no consecutivos en el instrumento Autostainer Link 48. Se realizó un total de 160 comparaciones por pares.	ANA 95,5% (90,3; 97,9%) APA 96,8% (93,1; 98,6%) OA 96,3% (93,5; 97,9%)
Interlote	Se analizó cada una de las 16 muestras de melanoma con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con dos repeticiones con cada uno de los tres lotes de reactivos en el instrumento Autostainer Link 48. Se realizó un total de 640 comparaciones por pares.	ANA 98,6% (97,3; 99,3%) APA 98,8% (97,8; 99,4%) OA 98,7% (98,0; 99,2%)
Intrasesión	Se analizó cada una de las 16 muestras de melanoma con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 con ocho repeticiones en una serie en el instrumento Autostainer Link 48. Se realizó un total de 160 comparaciones por pares.	ANA 97,1% (92,6; 98,9%) APA 97,7% (94,1; 99,1%)



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Tabla 12: Reproducibilidad de PD-L1 IHC 28-8 pharmDx - Melanoma, analizado en tres centros externos

Reproducibilidad	Método	% de concordancia (IC del 95%)
Nivel de expresión $\geq 1\%$		
Análisis intercentro (tres centros)	Se analizó cada una de las 18 muestras de melanoma con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en cinco días no consecutivos. Se realizaron análisis intercentro entre tres centros en un total de 1350 comparaciones por pares.	ANA 99,3% (98,8; 99,7%) APA 99,3% (98,8; 99,7%) OA 99,3% (98,7; 99,7%)
Análisis intracentro	Se analizó cada una de las 18 muestras de melanoma con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 en cinco días no consecutivos en cada uno de los tres centros de estudio. Se realizaron análisis intracentro en tres centros en un total de 540 comparaciones por pares.	ANA 99,3% (98,4; 99,8%) APA 99,3% (98,5; 99,8%) OA 99,3% (98,5; 99,8%)
Interobservador (un observador en cada uno de los tres centros)	La puntuación de 30 muestras de melanoma con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 28-8 pharmDx, fue realizada por tres anatomopatólogos, uno en cada uno de los tres centros de estudio, en tres días no consecutivos. Se realizaron	ANA 90,4% (88,1; 92,5%) APA 91,7% (89,7; 93,6%) OA 91,1% (89,1; 93,1 %)


 Biot. Alida Lucía Álvarez
 Directora Técnica
 Matrícula Provincial N° 7.998


 ALEJANDRO BOGUNOVICH
 ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
 APODERADO

	análisis interobservador entre tres centros en un total de 810 comparaciones por pares.	
Intraobservador (un observador en cada uno de los tres centros)	La puntuación de 30 muestras de melanoma con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 28-8 pharmDx, fue realizada por tres anatomopatólogos, uno en cada uno de los tres centros de estudio, en tres días no consecutivos. Se realizaron análisis intraobservador en tres centros en un total de 270 comparaciones por pares.	ANA 99,2% (97,9; 100%) APA 99,3% (98,2; 100%) OA 99,3% (98,1; 100%)

17.4.3 Evaluación del rendimiento no clínico: Melanoma

PD-L1 IHC 28-8 pharmDx se evaluó con muestras de pacientes inscritos en el ensayo clínico CA209067, un estudio con enmascaramiento doble, aleatorizado, en fase 3 de nivolumab en monoterapia o de nivolumab en combinación con ipilimumab frente a ipilimumab en monoterapia en pacientes con melanoma metastásico no tratado previamente. Se inscribieron un total de 1296 pacientes en 137 centros en 21 países (Australia, Austria, Bélgica, Canadá, República Checa, Dinamarca, Finlandia, Francia, Alemania, Irlanda, Israel, Italia, Países Bajos, Nueva Zelanda, Noruega, Polonia, España, Suecia, Suiza, Reino Unido y Estados Unidos). De los 1296 pacientes inscritos, 945 fueron aleatorizados en uno de los tres grupos de tratamiento en una proporción de 1:1:1 y estratificados por estado de PD-L1 ($\geq 5\%$ por ensayo clínico), estado de BRAF y estadio M según el AJCC. Las características iniciales demográficas y de la enfermedad se equilibraron en general entre los pacientes aleatorizados en los grupos de tratamiento. La



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.998

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

mediana de edad era de 60 años (intervalo: 18 a 90) con un 40% ≥ 65 años de edad y un 13% ≥ 75 años de edad. La mayoría de pacientes eran blancos (97%) y varones (65%). Se recogieron muestras tumorales para el estudio previo (de referencia) provenientes de pacientes con melanoma, el 86% de zonas metastásicas. De los 945 pacientes del estudio aleatorizados, se realizó un análisis retrospectivo del tejido tumoral archivado con el ensayo PD-L1 IHC 28-8 pharmDx para 915 (97%) pacientes. Para 55 (6%) pacientes del estudio, la melanina descartaba la evaluación del estado de la expresión de PD-L1 y era desconocido el estado de la expresión de PD-L1 para 47 (5%) pacientes debido a la retirada del consentimiento o a la falta de muestras. Así, se garantizaba el estado de la expresión de PD-L1 para 843 (89%) pacientes del estudio. La proporción de pacientes con expresión de PD-L1 tumoral en niveles $\geq 1\%$ y $< 1\%$ se equilibró entre los grupos de tratamiento. En la Tabla 13 se presenta el estado de la expresión de PD-L1 para pacientes del estudio con resultados de la prueba PD-L1 IHC pharmDx en CA209067.

Tabla 13: Frecuencia de la expresión de PD-L1 en todos los sujetos aleatorizados con melanoma - CA209067

	Número de sujetos, n (%)		
	Nivolumab	Nivolumab + ipilimumab	Ipilimumab
Sujetos cuantificables con PD-L1 ^a	288	278	277
Nivel de expresión de PD-L1:			
$\geq 1\%$	171 (59,4)	155 (55,8)	164 (59,2)
$< 1\%$	117 (40,6)	123 (44,2)	113 (30,8)

^a Solo número de resultados de PD-L1 cuantificables; no incluye el número de resultados de PD-L1 indeterminados

Se realizó un análisis retrospectivo planificado con anterioridad de la eficacia basado en la expresión de PD-L1 (objetivo secundario). Se evaluó el criterio co-principal de valoración de la supervivencia sin progresión (SSP) en los subgrupos de PD-L1 definidos como $< 1\%$ y $\geq 1\%$ en los tres grupos del estudio. En la Tabla 14 se presentan los índices de riesgo (HR)



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

y la media de la SSP por nivel de expresión de PD-L1. En la Figura 5 y en la Figura 6 se muestra el gráfico de Kaplan-Meier para subgrupos por nivel de expresión de PD-L1 en niveles del $\geq 1\%$ y $< 1\%$.

Expresión de PD-L1 Nivel	Nivolumab Mediana de la SSP (IC del 95%)	Ipilimumab Mediana de la SSP (IC del 95%)	Cociente de riesgos instantáneos (IC del 95%) ^a
$\geq 1\%$	12,39 (8,11; NA)	3,91 (2,83, 4,17)	0,46 (0,35, 0,62)
$< 1\%$	2,83 (2,76, 5,13)	2,79 (2,66, 2,96)	0,65 (0,48, 0,89)
	Nivolumab + ipilimumab Mediana de la SSP (IC del 95%)	Ipilimumab Mediana de la SSP (IC del 95%)	Cociente de riesgos instantáneos (IC del 95%)^a
$\geq 1\%$	12,35 (8,51; NA)	3,91 (2,83, 4,17)	0,44 (0,33, 0,60)
$< 1\%$	11,17 (6,93; NA)	2,79 (2,66, 2,96)	0,36 (0,26, 0,51)

^a Índice de riesgo para el efecto del tratamiento según el modelo de Cox de riesgos proporcionales con tratamiento, estado de PD-L1 y tratamiento por interacción con el estado de PD-L1

Abreviaturas: IC = intervalo de confianza, NA = no alcanzado, SSP = supervivencia sin progresión.

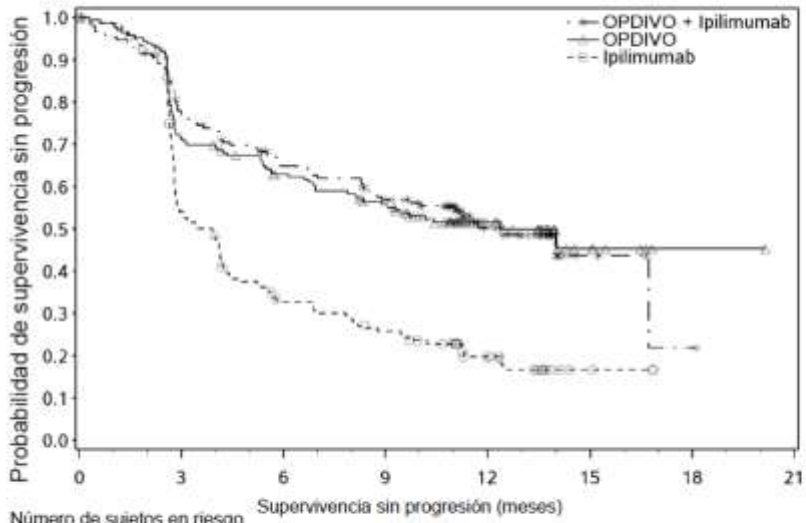


Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Figura 5: Gráfico de Kaplan-Meier de la supervivencia sin progresión de pacientes con melanoma - Todos los sujetos aleatorizados con expresión de PD-L1 <1% al inicio - CA209067

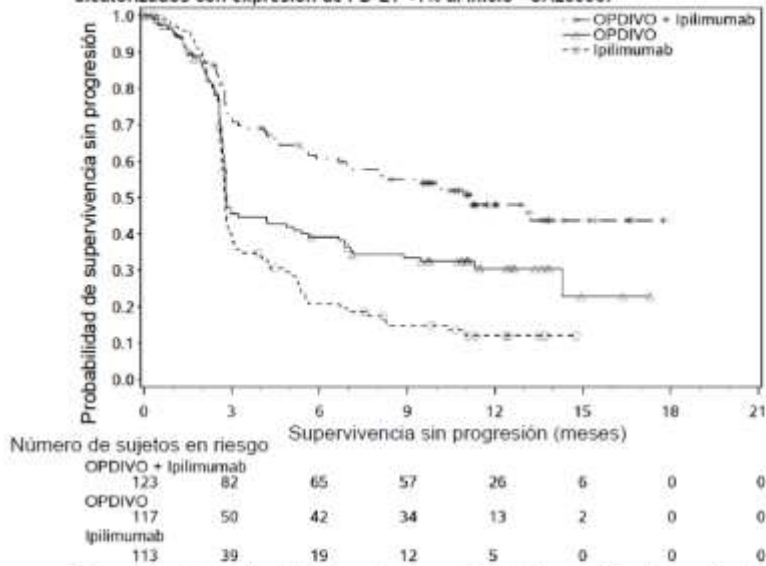


Número de sujetos en riesgo		Supervivencia sin progresión (meses)							
		0	3	6	9	12	15	18	21
OPDIVO + Ipilimumab	155	113	91	78	32	4	1	0	0
OPDIVO	171	115	97	83	34	7	1	0	0
Ipilimumab	164	83	47	36	16	3	0	0	0

Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

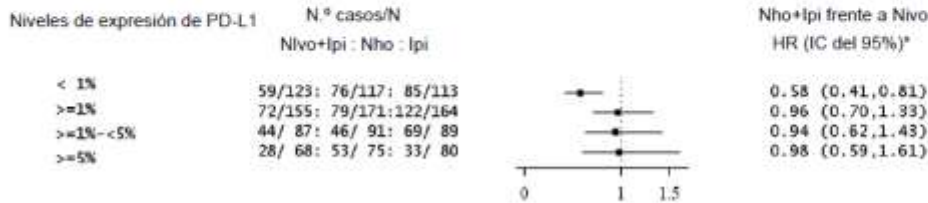
ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

Figura 6: Gráfico de Kaplan-Meier de la supervivencia sin progresión de pacientes con melanoma - Todos los sujetos aleatorizados con expresión de PD-L1 <1% al inicio - CA209067



El uso del valor de corte del 1% tuvo el apoyo adicional de un análisis retrospectivo de los resultados según la expresión de PD-L1 en 2 subgrupos adicionales con niveles de expresión de PD-L1 de 1-5% y >5%. Los resultados en los subgrupos de PD-L1 entre 1-5% y de PD-L1 >5% eran comparables a los del valor de corte de >1%. Consulte la Figura 7 a continuación. PD-L1 IHC 28-8 pharmDx no ha sido validado para discriminar los niveles de expresión de PD-L1 entre 1 y 5%.

Figura 7: Diagramas de bosque de resultados de eficacia para pacientes con melanoma según los niveles de expresión de PD-L1



*Número de sujetos en riesgo

17.5 Estabilidad

Tres lotes exclusivos del ensayo SK005 PD-L1 28-8 pharmDx se han sometido a pruebas de estabilidad en tiempo real. Uno de los tres lotes de kits se sometió a ciclos en uso/a bordo de un mínimo de 16 ciclos y simulación de transporte.

Cada uno de los tres lotes del kit tiene asignado un conjunto único de bloques de tejido. Todos los tejidos utilizados en el estudio se tiñeron en T0 y se montaron permanentemente para referencia futura durante todo el estudio. El tejido utilizado en el estudio es carcinoma

Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

de pulmón de células no pequeñas no escamosas y carcinoma de pulmón de células no pequeñas escamosas, representado por las abreviaturas nsNSCLC y sqNSCLC, respectivamente, para el resto de este informe. Para el límite del 1 %, solo se analizaron muestras de nsNSCLC según lo exige el compromiso posterior a la comercialización con la FDA. Tanto sqNSCLC como nsNSCLC se probaron con el límite del 50 % porque esta prueba se realizó para respaldar futuras presentaciones de PMA, que probablemente se enviarán con NSCLC combinado. Nota: La adición de las muestras de sqNSCLC y el límite del 50 % a este protocolo de prueba no afecta el compromiso posterior a la comercialización del límite del 1 %.

Las siguientes muestras de tejido deben analizarse en cada momento para cada lote del kit:

1% de corte

Un (1) bloque de nsNSCLC negativo (0 % de células tumorales con tinción positiva de PD-L1)

Un (1) bloque de nsNSCLC positivo (>10 % de células tumorales con tinción positiva de PD-L1)

Dos (2) bloques positivos de nsNSCLC cerca del límite del 1 % (>0-10 % de células tumorales con tinción positiva de PD-L1)

50% de corte

Un (1) bloque negativo de sqNSCLC o nsNSCLC (<40 % de células tumorales con tinción positiva de PD-L1)

Un (1) bloque positivo de sqNSCLC o nsNSCLC (60 % de células tumorales con tinción positiva de PD-L1)

Dos (2) bloques de sqNSCLC o nsNSCLC cerca del límite del 50 % (40-60 % de células tumorales con tinción positiva de PD-L1)

Se probaron múltiples bloques para cada categoría de muestras en T0 con cada lote del kit.

Se utilizó un conjunto de muestras para cada lote del kit para todos los puntos de tiempo posteriores a lo largo del estudio. Nota: El mismo espécimen se puede utilizar para cumplir con varias categorías de espécimen cuando corresponda.



Bioq. Alida Lucía Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.938

ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO

En T0, cada muestra se tiñó usando secciones por triplicado con el anticuerpo positivo dentro de la misma serie. En todos los puntos de tiempo subsiguientes (T1-TEnd), cada muestra se tiñó usando secciones duplicadas con el anticuerpo positivo dentro de la misma serie. En todos los puntos de tiempo, cada muestra se tiñó utilizando una sola sección con el reactivo de control negativo dentro de la misma serie que el anticuerpo positivo. Cada serie contiene un portaobjetos de línea celular de control por lote teñido solo con el anticuerpo positivo, que funciona como control de serie.

En T0, se usó un kit de control para teñir portaobjetos individuales de cada muestra con anticuerpos positivos y negativos. Las secciones de muestras teñidas con los kits de estabilidad se compararon con las teñidas con el kit de control en T0 para garantizar que la tinción en cada portaobjetos cumpliera con los criterios de aceptación del kit.

Después de T0, no se ejecutará un kit de control en puntos de tiempo posteriores. Las secciones teñidas con los kits de estabilidad en los puntos de tiempo T1 a TEnd se compararán con los respectivos portaobjetos montados permanentemente desde T0 para evaluar los criterios de aceptación y la desviación. De las secciones por triplicado teñidas en T0 con los lotes del kit de estabilidad, se utilizó el portaobjetos mediano como portaobjetos de referencia para el resto del estudio.

Conclusion: Según los resultados en tiempo real hasta la fecha, la vida útil desde la fecha de fabricación es la siguiente:

Buena vida útil terminada: 12 meses a 2-8°C

Margen de Seguridad: 2 meses a 2-8°C


Vida útil total (incluye margen de seguridad): 14 meses a 2-8 °C

18. Indicación al consumidor

Ante cualquier duda o consulta comunicarse con las siguientes vías de contacto:

Teléfono: 011-4509-9000

E-mail: aalvarez@analytical.com



Bioq. Alida Lucia Álvarez
Directora Técnica
Matrícula Provincial N° 7.936



ALEJANDRO BOGUNOVICH
ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.
APODERADO



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Hoja Adicional de Firmas
Informe gráfico

Número:

Referencia: RTA EX-2022-27721084 (2).

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 167 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2022.06.09 13:08:10 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2022.06.09 13:08:11 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Las Malvinas son argentinas

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: EX-2022-27721084-APN-DGA#ANMAT

CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN

PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

Nº EX-2022-27721084-APN-DGA#ANMAT

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que, de acuerdo con lo solicitado por la firma **ANALYTICAL TECHNOLOGIES S.A.**, se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de los nuevos productos médicos para diagnóstico in vitro con los siguientes datos identificatorios característicos:

NOMBRE COMERCIAL: 1) PD-L1 IHC 22C3 pharmDx; 2) PD-L1 IHC 28-8 pharmDx.

MODELO: 1) SK006; 2) SK005.

INDICACIÓN DE USO: 1) PD-L1 IHC 22C3 pharmDx es un ensayo inmunohistoquímico (IHC) cualitativo que utiliza Monoclonal Mouse Anti-PD-L1, Clon 22C3, indicado para su uso en la detección de la proteína PD-L1 en tejidos de cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica, de carcinoma de células escamosas de esófago (ESCC), de cáncer cervical, de carcinoma urotelial, de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) y de cáncer de mama triple negativo (TNBC) fijados con formol e incluidos en parafina (FFPE) mediante el sistema de visualización EnVision FLEX en Autostainer Link 48; 2) PD-L1 IHC 28-8 pharmDx es un ensayo inmunohistoquímico cualitativo que utiliza Monoclonal Rabbit Anti-PD-L1, Clon 28-8 indicado para el uso en la detección de la proteína PD-L1 en tejidos de melanoma y cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) fijados con formol e incluidos en parafina

(FFPE) mediante el sistema de visualización EnVision FLEX en Autostainer Link 48.

FORMA DE PRESENTACIÓN: 1) Envases por 50 determinaciones conteniendo: Peroxidase-Blocking Reagent (1 vial x 34,5 ml), Monoclonal Mouse Anti-PD-L1 clone 22C3 (1 vial x 19,5 ml), Negative control Reagent (1 vial x 15 ml), LINKER Anti-Mouse (1 vial x 34,5 ml), Visualization Reagent-HRP (1 vial x 34,5 ml), DAB+ Substrate Buffer (15 viales x 7,2 ml), DAB+ Chromogen (1 vial x 5 ml), DAB Enhancer (1 vial x 34,5 ml), EnVision FLEX Target Retrieval Solution Low pH (50x) (6 viales x 30 ml) y 15 Control Slides PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. 2) Envases por 50 determinaciones conteniendo: Peroxidase-Blocking Reagent (1 vial x 34,5 ml), Monoclonal Rabbit Anti-PD-L1 clone 28-8 (1 vial x 19,5 ml), Negative control Reagent (1 vial x 15 ml), LINKER Anti-Rabbit (1 vial x 34,5 ml), Visualization Reagent-HRP (1 vial x 34,5 ml), DAB+ Substrate Buffer (15 viales x 7,2 ml), DAB+ Chromogen (1 vial x 5 ml), DAB Enhancer (1 vial x 34,5 ml), EnVision FLEX Target Retrieval Solution Low pH (50x) y 15 Control Slides PD-L1 IHC 28-8 pharmDx.

PERIODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE CONSERVACIÓN: 1) 12 (DOCE) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8°C; 2) 14 (CATORCE) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8°C.

NOMBRE Y DIRECCIÓN DEL FABRICANTE: 1) y 2): Agilent Technologies, Inc., 5301 Stevens Creek Blvd, Santa Clara, California, 95051 (USA) y Agilent Technologies, Inc., 6392 Via Real, Carpinteria, California, 93013 (USA).

CONDICIÓN DE VENTA/CATEGORÍA: USO PROFESIONAL EXCLUSIVO

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del **PRODUCTO MÉDICO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 2357-19**.

Nº EX-2022-27721084-APN-DGA#ANMAT

AM