



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
2019 - Año de la Exportación

**Disposición**

**Número:** DI-2019-4502-APN-ANMAT#MSYDS

CIUDAD DE BUENOS AIRES  
Martes 28 de Mayo de 2019

**Referencia:** 1-47-3110-6085/18-9

---

VISTO el expediente N° 1-47-3110-6085/18-9 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

**CONSIDERANDO:**

Que por los presentes actuados la firma ROCHEM BIOCARE ARGENTINA S.A. solicita la nueva indicación de uso del Producto para diagnóstico de uso "in vitro" denominados **PD-L1 IHC 22C3 pharmDx**.

Que lo solicitado se encuadra dentro de los alcances de la Disposición ANMAT N° 2674/99 y la documentación aportada ha satisfecho los requisitos de la normativa aplicable.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que se autoriza la modificación solicitada.

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

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

Por ello;

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

**DISPONE:**

ARTÍCULO 1°.- Autorízase la nueva indicación de uso para el producto: **PD-L1 IHC 22C3 pharmDx**, que en lo sucesivo será Ensayo inmunohistoquímico (IHC) cualitativo que utiliza Monoclonal Mouse Anti-PD-L1 Clon 2203, Indicado PD-L1 la detección de la proteína PD-L1 en tejido de adenocarcinoma

gástrico o de la unión gastroesofágica, de cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCL) y de tejido de cáncer cervical y carcinoma urotelial fijados con formol e (FFPE) mediante el sistema de visualización EnVision FLEX en Autostainer Link 48; como ayuda para la identificación de pacientes con posibilidad para recibir tratamiento con KEYTRUDA® (pembrolizumab).

ARTÍCULO 2º.- Practíquese la atestación correspondiente en el Certificado de Inscripción N° 8495 cuando el mismo se presente acompañado de la presente Disposición.

ARTÍCULO 3º.- Autorízanse los nuevos textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2019-41730710-APN-DNPM#ANMAT.

ARTÍCULO 4º.- Regístrese; gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a sus efectos, por el Departamento de Mesa de Entradas notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición. Cumplido, archívese.-

Expediente N° 1-47-3110-6085/18-9

fd

Digitally signed by BELLOSO Waldo Horacio  
Date: 2019.05.28 09:35:20 ART  
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Waldo HORACIO BELLOSO  
SubAdministrador  
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología  
Médica

Digitally signed by GESTIÓN DOCUMENTAL ELECTRONICA -  
GDE  
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR,  
o=SECRETARIA DE GOBIERNO DE MODERNIZACION,  
ou=SECRETARIA DE MODERNIZACION ADMINISTRATIVA,  
serialNumber=CUIT 30715117564  
Date: 2019.05.28 09:35:27 -03'00'



## PD-L1 IHC 22C3 pharmDx

SK006

50 pruebas para uso con Autostainer Link 48

### 1. Uso previsto

Para uso en diagnóstico in vitro.

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 tejido de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica, de cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) y de tejido de cáncer cervical y carcinoma urotelial fijados con formol e incluidos en parafina (FFPE) mediante el sistema de visualización EnVision FLEX en Autostainer Link 48.

#### Cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)

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. Debe considerarse que la muestra tiene expresión de la PD-L1 si TPS  $\geq 1\%$  y que tiene una expresión alta de la PD-L1 si TPS  $\geq 50\%$ .

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx está indicado como ayuda para la identificación de pacientes con NSCLC para recibir tratamiento con KEYTRUDA® (pembrolizumab). Consulte la etiqueta del producto KEYTRUDA® para ver los valores de corte de expresión que guían el tratamiento en circunstancias clínicas específicas.

#### Adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica

La expresión de la proteína PD-L1 en el adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica 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. Debe considerarse que la muestra tiene expresión de la PD-L1 si 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).

#### Cáncer cervical

La expresión de la proteína PD-L1 en el cáncer cervical se determina mediante la puntuación Combined Positive Score (CPS), que es el número de células teñidas para PD-L1 (células tumorales, linfocitos, macrófagos) dividido entre el número total de células tumorales viables, multiplicado por 100. Debe considerarse que la muestra tiene expresión de la PD-L1 si 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

La expresión de la proteína PD-L1 en carcinoma urotelial 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. Debe considerarse que la muestra tiene expresión de la PD-L1 si 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). Consulte la etiqueta de producto de KEYTRUDA® para ver las circunstancias clínicas específicas que conllevan el análisis de PD-L1.

### 2. Resumen y explicación

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. En modelos singénicos de tumores en ratones, el bloqueo de la actividad de PD-1 ocasionó una disminución del crecimiento tumoral (1).

#### 2.1 NSCLC

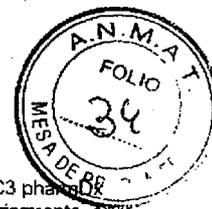
En el estudio clínico patrocinado por Merck Sharp & Dohme, KEYNOTE-024 (KN024), se investigó la validez clínica de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx para identificar pacientes con NSCLC no tratados previamente que expresan PD-L1 (TPS  $\geq 50\%$ ) y puedan responder al tratamiento con KEYTRUDA. Consulte la sección "Evaluación del rendimiento clínico (NSCLC)" más adelante para ver los detalles del estudio KN024.

En el estudio clínico patrocinado por Merck Sharp & Dohme, KEYNOTE-010 (KN010), se investigó la validez clínica de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx para identificar pacientes con NSCLC tratados previamente que expresan PD-L1 (TPS  $\geq 1\%$ ) y puedan responder al tratamiento con KEYTRUDA. Consulte la sección "Evaluación del rendimiento clínico (NSCLC)" más adelante para ver los detalles del estudio KN010.

ROCHEM ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.I. 23.097.811  
Apoderado

P03951ES\_10/SK00621-5/2018.06 p. 3/33  
IF 2019-41730710-APN-DNPM#ANMAT  
CARLOS E.G. BOBBETT  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.I. 11153





## 2.2 Adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica

En el estudio clínico patrocinado por Merck Sharp & Dohme, KEYNOTE-059 (KN059), se investigó la validez clínica de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx para identificar pacientes con adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica que se han sometido como mínimo anteriormente a 2 tratamientos sistémicos para enfermedad avanzada con expresión de la PD-L1 (CPS  $\geq 1$ ) y que podrían responder al tratamiento con KEYTRUDA. Consulte la sección "Evaluación del rendimiento clínico (adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica)" más adelante para ver los detalles del estudio KN059.

## 2.3 Cáncer cervical

En el estudio clínico patrocinado por Merck Sharp & Dohme, KEYNOTE-158 (KN158), se investigó la validez clínica de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx para identificar pacientes con cáncer cervical con expresión de la PD-L1 (CPS  $\geq 1$ ) con progresión de la enfermedad durante o después de la administración de quimioterapia para metástasis o recidiva y que podrían responder al tratamiento con KEYTRUDA. Consulte la sección "Evaluación del rendimiento clínico (cáncer cervical)" más adelante para ver los detalles de la Cohorte E del estudio KN158.

## 2.4 Carcinoma urotelial

En el estudio clínico patrocinado por Merck Sharp & Dohme, KEYNOTE-052 (KN052), se estudió la validez clínica de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx para identificar pacientes con expresión de PD-L1 (CPS  $\geq 10$ ) y cáncer urotelial avanzado/inoperable o metastásico que no hubieran recibido quimioterapia sistémica previa, no fueran aptos para recibir cisplatino y que podrían responder al tratamiento con KEYTRUDA. Consulte la sección "Evaluación del rendimiento clínico (UC)" más adelante para ver los detalles del estudio KN052.

## 3. Principio del procedimiento

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx contiene el protocolo y los reactivos optimizados necesarios para finalizar un procedimiento de tinción IHC de muestras FFPE con Autostainer Link 48. Tras la incubación con el anticuerpo monoclonal primario de PD-L1 o Negative Control Reagent (NCR), las muestras se incuban con un anticuerpo Linker específico para la especie anfitriona del anticuerpo primario y, a continuación, se incuban con un reactivo de visualización listo para su uso que consta de moléculas de anticuerpo secundario y moléculas de peroxidasa de rábano picante ligadas a una cadena principal de polímero de dextrano. La conversión enzimática del cromógeno añadido posteriormente provoca la precipitación de un producto de reacción visible en el lugar del antígeno. El color de la reacción cromogénica está modificado por un reactivo de realce del cromógeno. Entonces, la muestra puede someterse a contratinción y se puede colocar el cubreobjetos. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico.

## 4. Materiales suministrados

Cada kit incluye 19,5 ml de anticuerpo primario de PD-L1 (aproximadamente 3  $\mu\text{g/ml}$  de concentración de proteína) y contiene los reactivos necesarios para realizar 50 pruebas en hasta 15 sesiones individuales. Los materiales enumerados a continuación son suficientes para 50 pruebas (50 portaobjetos incubados con Primary Antibody de PD-L1 y 50 portaobjetos incubados con el correspondiente Negative Control Reagent, 100 portaobjetos en total). Para cortes de tejido más grandes, se puede aceptar el uso de tres zonas de goteo (3 x 150  $\mu\text{l}$ ) por portaobjetos. Tenga en cuenta que así se reducirá el número total de pruebas por kit.

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

Cantidad	Descripción
1 x 34,5 ml	<b>Peroxidase-Blocking Reagent</b> <b>PEROXIDASE-BLOCKING REAGENT</b> Solución tamponada que contiene peróxido de hidrógeno, detergente y 0,015 mol/l de azida sódica.
1 x 19,5 ml	<b>Primary Antibody: Monoclonal Mouse Anti-PD-L1, Clone 22C3</b> <b>MONOCLONAL MOUSE ANTI-PD-L1 CLONE 22C3</b> Anti-PD-L1 (IgG <sub>1</sub> ) monoclonal de ratón en una solución tamponada que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/l de azida sódica.
1 x 15 ml	<b>Negative Control Reagent</b> <b>NEGATIVE CONTROL REAGENT</b> Anticuerpo IgG 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	<b>Mouse LINKER</b> <b>LINKER, ANTI-MOUSE</b> 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.

Merck Sharp & Dohme ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.I. 251097.811  
Apoderado

P08951ES 10/SK00621-5/2018.08 p. 4/33  
E-2019-41730/10-APN-DNPM#ANMAT  
CARLOS E.G. BOBBETT  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.I. 11153

1 x 34,5 ml **Visualization Reagent-HRP**

**VISUALIZATION  
REAGENT-HRP**

Dextrano unido a moléculas de peroxidasa y moléculas de anticuerpo secundario de cabra contra inmunoglobulinas de conejo y ratón en una solución tamponada que contiene proteína estabilizadora y un agente antimicrobiano.

15 x 7,2 ml **DAB+ Substrate Buffer**

**DAB+  
SUBSTRATE BUFFER**

Solución tamponada que contiene peróxido de hidrógeno y un agente antimicrobiano.

1 x 5 ml **DAB+ Chromogen**

**DAB+ CHROMOGEN**

Tetrahidrocloruro de 3,3'-diaminobencidina en disolvente orgánico.

1 x 34,5 ml **DAB Enhancer**

**DAB ENHANCER**

Sulfato de cobre en agua.

6 x 30 ml **EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x)**

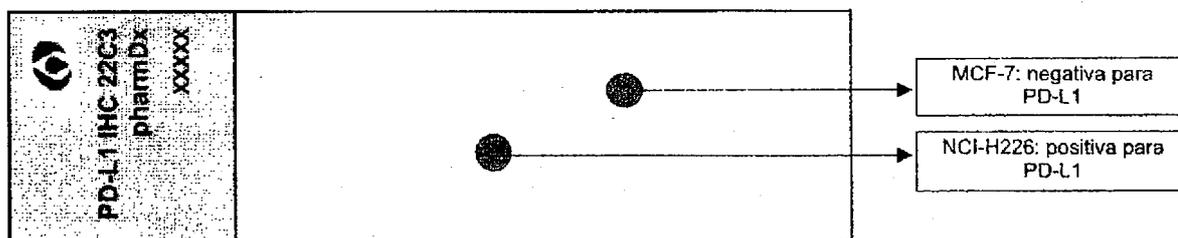
**EnVision™ FLEX  
TARGET RETRIEVAL SOLUTION  
LOW pH (50X)**

Solución tamponada, pH 6,1, que contiene un detergente y un agente antimicrobiano.

15 portaobjetos **PD-L1 IHC 22C3 pharmDx Control Slides**

**CONTROL SLIDES**

Cada portaobjetos contiene cortes de dos líneas celulares 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™) (2).

**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.

#### 5. 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 cargados Fisherbrand Superfrost Plus

Cubreobjetos

Medio de montaje permanente y reactivos complementarios necesarios para montar los cubreobjetos

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

ROCHEM BIOCARE ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.I. 25.097.811  
Apostado

CARLOS E.G. BOBBETT  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.I. 11493  
P03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 5/33  
41730710-APN-DNPM#ANMAT

## 6. Precauciones

1. Para uso en diagnóstico in vitro.
2. Para usuarios profesionales.
3. Este producto contiene azida sódica (NaN<sub>3</sub>), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. Aunque a las concentraciones presentes en el producto no está clasificada como peligrosa, la NaN<sub>3</sub> 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 (3).
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 expuestos a ellas deben manipularse como si fuesen potencialmente infecciosas y deben eliminarse de acuerdo con las precauciones adecuadas (4).
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.
10. El uso de volúmenes de reactivos distintos a los recomendados puede provocar una pérdida de inmunoreactividad 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. Puede solicitar la hoja de datos de seguridad que se encuentra disponible para usuarios profesionales.
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.



### Peligro

**DAB+ Chromogen:** 1-5% de tetracioruro de bifeníl-3,3',4,4'-tetraaitetramonio

- H350 Puede provocar cáncer.
- H341 Susceptible de provocar defectos genéticos.
- P201 Procurarse las instrucciones antes del uso.
- P202 No manipular antes de haber leído y comprendido todas las precauciones de seguridad.
- P280 Usar guantes de protección. Usar protección para los ojos o la cara. Usar ropa de protección.
- P308 + P313 EN CASO DE exposición o sospecha de exposición: Consultar a un médico.
- P405 Guardar bajo llave.
- P501 Eliminar el contenido/recipiente conforme a la reglamentación local, regional, nacional e internacional.



### Advertencia

**EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x):** 1-5% de ácido cítrico

- H319 Provoca irritación ocular grave.
- H411 Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.
- P280 Usar protección para los ojos o la cara.
- P273 No dispersar en el medio ambiente.
- P264 Lavarse cuidadosamente después de la manipulación.
- P305 + P351 + P338 SI HA ENTRADO EN CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con cuidado con agua durante varios minutos. Retirar lentes de contacto, si las hubiera y fuera una tarea sencilla. Continuar con el enjuagado.
- P337 + P313 Si la irritación ocular persiste: Consultar a un médico.
- P501 Eliminar el contenido/recipiente conforme a la reglamentación local, regional, nacional e internacional.

## 7. Almacenamiento

Almacene todos los componentes de PD-L1 IHC 22C3 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.

**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.

COHEM BIOMED ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N. 25.097.811  
Apoderado

Carlos E. G. Abbott  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.I. 1153  
P03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 6/33  
IE-2019-41730710-APN-DNPM#ANMAT



## 8. Preparación de las muestras

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.

### 8.1 Muestras incluidas en parafina

Está indicado el uso de muestras tisulares fijadas con formol e incluidas en parafina. 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  $\leq 3$  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  $\mu$ m. Después de realizar el corte, los tejidos deben montarse en portaobjetos para microscopio Dako FLEX IHC (n.º de catálogo K8020) o portaobjetos Fisherbrand Superfrost Plus y seguidamente colocarse en un horno a  $58 \pm 2$  °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 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 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 cuando se almacenan a 25 °C.

#### 8.2.4 Recomendación para el almacenamiento de cortes de tejido de carcinoma urotelial

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

## 9. Preparación de los reactivos

Los siguientes reactivos deben prepararse antes de la tinción:

### EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (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 (agua de grado reactivo); el pH de Target Retrieval Solution 1x debe ser de  $6,1 \pm 0,2$ . Un pH de Target Retrieval Solution 1x inferior a 5,9 puede ofrecer resultados erróneos. 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.

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

### EnVision FLEX Wash Buffer (20x)

Prepare una cantidad suficiente de Wash Buffer diluyendo Wash Buffer (20x) en una proporción de 1:20 con agua destilada o desionizada (agua de grado reactivo) 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 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 la DAB+ Substrate-Chromogen Solution, añada 1 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 9 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.

ROCHEM BIOMATE ARGENTINA S.A.  
Fernando Matías Mendonça  
D.N.I. 29.097.811  
Apoderado

CARLOS E.G. BOBBETT  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.I. 11123

P03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 7/33

IF-2019-41730710-APN-DNPM#ANMAT



- 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.

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 pharmDx 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 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.
- ▶ 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).

## 11. Control de calidad

La calidad de los reactivos de PD-L1 IHC 22C3 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 5 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 (5). En los Estados Unidos deben consultarse las pautas de control de calidad del College of American Pathologists (CAP) Accreditation Program for Immunohistochemistry, además del CLSI Quality Assurance for Immunocytochemistry, Approved Guideline (5, 6, 7) para obtener información adicional.

ROCHEM BIO-CARE ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.I. 25.047.811  
Aprobado

P03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 8/33  
CARLOS E. G. BOBBITI  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.I. 11123

## 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 27 se indican las opciones de solución de problemas, sus causas y las acciones correctivas recomendadas.

## 13. Interpretación de la tinción y de la puntuación

### 13.1 NSCLC: expresión de PD-L1 determinada con la puntuación Tumor Proportion Score

Todas las células tumorales viables del portaobjetos 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.

La evaluación de los portaobjetos debe ser realizada por un anatomopatólogo, 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 determinó con la puntuación Tumor Proportion Score (TPS) que es el porcentaje de células tumorales viables que muestran una tinción parcial o completa de la membrana de cualquier intensidad.

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 de positividad para PD-L1.

En la siguiente tabla se enumeran los elementos tisulares que se incluyen y/o excluyen en la determinación de la puntuación Tumor Proportion Score.

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

Para cada sesión de tinción, deben examinarse los portaobjetos del modo presentado en la Tabla 5 (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 Negative Control Reagent 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  $\geq 1\%$  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  $\geq 50\%$  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 = 1-49%	TPS $\geq 50\%$
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.

ROCHEM BIOPHARMA ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.I. 25.097.811  
Apoderado

RO3951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 9/33  
IF-2019-41730710-APN-DNPM#ANMAT  
CARLOS E.G. BOBBETT  
DIRECTOR TÉCNICO  
M. 11. 11. 13  
Página 7 de 31



**13.2 Adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica, cáncer cervical y carcinoma urotelial: 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 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. 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:

$$CPS = \frac{N.º \text{ de células teñidas para PD-L1 (células tumorales, linfocitos y macrófagos)}}{N.º \text{ total de células tumorales viables}} \times 100$$

La evaluación de los portaobjetos debe ser realizada por un anatomopatólogo, con un microscopio óptico. Para la evaluación de la tinción 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 5 (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 Negative Control Reagent 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 ≤1+.

Consulte las Secciones 13.2.1, 13.2.2 y 13.2.3 para obtener información específica para cada tipo de tumor.

**13.2.1 Adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica**

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 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.

El denominador de la CPS incluye todas las células tumorales invasivas viables (teñidas y no teñidas para PD-L1). Se excluyen la displasia, el carcinoma in situ y las demás células.

En la siguiente tabla se proporciona información acerca de los elementos tisulares que se incluyen y que se excluyen del numerador de la CPS en el adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica.

**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
<b>Células tumorales</b>	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"> <li>• Células tumorales sin tinción</li> <li>• Células tumorales únicamente con tinción citoplasmática</li> <li>• Adenoma, displasia y carcinoma in situ</li> </ul>
<b>Células inmunitarias</b>	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"> <li>○ Linfocitos (incluidos agregados linfocitarios)</li> <li>○ Macrófagos***</li> </ul> Solo se contabilizan las CIM directamente relacionadas con la respuesta ante el tumor.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CIM sin tinción</li> <li>• CIM relacionadas con adenoma, displasia y carcinoma in situ</li> <li>• CIM (incluidos agregados linfocíticos) relacionadas con úlceras, gastritis crónica y otros procesos no asociados con el tumor</li> <li>• CIM relacionadas con estructuras normales</li> <li>• Neutrófilos, eosinófilos y células plasmáticas</li> </ul>
<b>Otras células</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No incluido</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Células normales (incluidas las células ganglionares)</li> <li>• Células del estroma (incluidos fibroblastos)</li> <li>• Células necróticas y/o restos celulares</li> </ul>

\*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.

  
 BICHEM BIOLAB ARGENTINA S.A.  
 Fernando Matias Mendonça  
 D.N.I. 25.497.811  
 Apoderado

P0395185\_10/SK00621-5/2018.08 p. 10/33  
 2019-1737/10-ARN-DNPM#ANMAT  
 CARLOS ELGHOBBETTI  
 DIRECTOR TECNICO  
 M.C. 11153



Debe considerarse que la muestra tiene expresión de la PD-L1 si CPS  $\geq 1$ .

Puntuación Combinada Positiva Score		
Nivel de expresión de PD-L1	CPS <1	CPS $\geq 1$
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 Cáncer cervical

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.

El denominador de la CPS incluye todas las células tumorales invasivas viables (teñidas y no teñidas para PD-L1). Se excluyen la displasia, el carcinoma in situ y las demás células.

En la siguiente tabla se proporciona información acerca de los elementos tisulares que se incluyen y que se excluyen del numerador de la CPS en el cáncer cervical.

**Tabla 3. Criterios de inclusión/exclusión del numerador de la CPS para cáncer cervical**

Elementos tisulares	Incluido en el numerador	Excluido del numerador
<b>Células tumorales</b>	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"> <li>Células tumorales sin tinción</li> <li>Células tumorales únicamente con tinción citoplasmática</li> </ul>
<b>Células inmunitarias</b>	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"> <li>Linfocitos (incluidos agregados linfocitarios)</li> <li>Macrófagos***</li> </ul> Solo se contabilizan las CIM directamente relacionadas con la respuesta ante el tumor.	<ul style="list-style-type: none"> <li>CIM sin tinción</li> <li>CIM asociados a neoplasia intraepitelial cervical (NIC de I a III)</li> <li>CIM asociados a células benignas; incluidas de mucosa escamosa o glandular, de pólipos cervicales y de hiperplasia microglandular</li> <li>CIM (incluidos agregados linfocitarios) relacionadas con úlceras y otros procesos no asociados con el tumor, como la cervicitis</li> <li>Neutrófilos, eosinófilos y células plasmáticas</li> </ul>
<b>Otras células</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>No incluido</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>NIC de I a III</li> <li>Células benignas; incluidas de mucosa escamosa o glandular, de pólipos cervicales y de hiperplasia microglandular</li> <li>Células del estroma (incluidos fibroblastos)</li> <li>Células necróticas y/o restos celulares</li> </ul>

\*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 en 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.

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  $\geq 1$ .

Puntuación Combinada Positiva Score		
Nivel de expresión de PD-L1	CPS <1	CPS $\geq 1$
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.

ROCHE BIOPHARMA ARGENTINA S.A.  
 Fernando Matias Mendonça  
 D.N.I. 25.097.811  
 Apoderado

P03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 11/33  
 IF-2019-41730710-APN-DNPM#ANMAT  
 CARLOS E. G. BOBBETT  
 DIRECTOR TÉCNICO  
 M.I. 41153



### 13.2.3 Carcinoma urotelial

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.

El denominador de la CPS incluye todas las células tumorales viables (teñidas y no teñidas para PD-L1). Se excluyen todas las células inmunitarias, células normales, células necróticas, de úlceras, cistitis crónica y carcinoma papilar de bajo grado.

En la siguiente tabla se proporciona información acerca de los elementos tisulares que se incluyen y que se excluyen del numerador de la CPS en el carcinoma urotelial.

**Tabla 4. Criterios de inclusión/exclusión del numerador de la CPS para carcinoma urotelial**

Elementos tisulares	Incluido en el numerador	Excluido del numerador
<b>Células tumorales</b>	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"> <li>• Carcinoma papilar de alto grado</li> <li>• Carcinoma in situ (CIS)</li> <li>• Cualquier invasión serosa, de la capa muscular o de la lámina propia</li> <li>• Carcinoma metastásico</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Células tumorales sin tinción</li> <li>• Células tumorales únicamente con tinción citoplasmática</li> <li>• Carcinoma papilar de bajo grado†</li> </ul>
<b>Células inmunitarias</b>	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"> <li>• Linfocitos (incluidos agregados linfocitarios)</li> <li>• Macrófagos***</li> </ul> <p>Solo se contabilizan las CIM directamente relacionadas con la respuesta ante el tumor.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CIM sin tinción</li> <li>• CIM (incluidos agregados linfocíticos) relacionadas con úlceras, cistitis crónica y otros proceso no asociados con el tumor</li> <li>• CIM relacionadas con estructuras normales</li> <li>• Neutrófilos, eosinófilos y células plasmáticas</li> <li>• Granulomas inducidos por BCG††</li> </ul>
<b>Otras células</b>	No incluido	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Células normales</li> <li>• Células del estroma (incluidos fibroblastos)</li> <li>• Células necróticas y/o restos celulares</li> </ul>

\*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.

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

†† Bacilo de Calmette-Guérin

Debe considerarse que la muestra tiene expresión de la PD-L1 si CPS  $\geq 10$ .

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

### 14. Evaluación de los portaobjetos

**Tabla 5. Orden recomendado para la evaluación de 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 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.
2. Portaobjetos con línea celular de control (Suministrado con el kit)	El portaobjetos con línea celular de control teñido con el anticuerpo primario de PD-L1 de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx debe examinarse para asegurarse de que todos los reactivos funcionan correctamente.	Debe teñirse un portaobjetos con línea celular de control con PD-L1 Primary Antibody en cada sesión de tinción.  Criterios de aceptación para NCI-H226 (línea celular de control positiva para PD-L1): <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tinción de la membrana celular de <math>\geq 70\%</math> de las células.</li> <li>• Intensidad de tinción media <math>\geq 2+</math>.</li> <li>• Tinción inespecífica con intensidad <math>&lt; 1+</math>.</li> </ul>

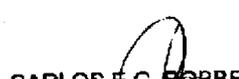
ROCHEM BIOCARE ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.I. 25.097.811  
Apoderado

P03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 12/33  
IF-2019-41730710-APN-DNPM#ANMAT  
CARLOS E.G. BOBBI  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.N.I. 11153  
Página 10 de 31



Muestras	Exposición de motivos	Requisitos
	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><b>Criterios de aceptación para MCF-7 (línea celular de control negativa para PD-L1):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tinción no específica.</li> <li>Tinción inespecífica con intensidad &lt;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 con ≥1+ de intensidad dentro de los límites del sedimento celular MCF-7.</li> </ul> <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</p> <p>(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 epitopo 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 intactas para la interpretación de los resultados de tinción, puesto que las células necróticas o degeneradas a menudo muestran tinción inespecífica.</p> <p>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 forma que puedan detectarse cambios sutiles en la sensibilidad del ensayo.</p> <p>Deben incluirse dos portaobjetos de control de tejido positivo en cada sesión de tinción.</p> <p><b>Portaobjetos teñido con PD-L1:</b> se debe observar la presencia de tinción marrón de la membrana plasmática. La tinción no específica debe ser ≤1+.</p> <p><b>Portaobjetos teñido con Negative Control Reagent:</b> sin tinción de membrana. La tinción inespecífica debe ser ≤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 13.2.2 para obtener instrucciones adicionales acerca del tejido de control relacionado con cáncer cervical.</p>
<p>4. Portaobjetos con tejido de control negativo</p> <p>(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 tejido de control positivo pueden funcionar igual que el tejido de control positivo, 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><b>Portaobjetos teñido con PD-L1:</b> sin tinción de membrana en las células tumorales. La tinción inespecífica debe ser ≤1+.</p> <p><b>Portaobjetos teñido con Negative Control Reagent:</b> sin tinción de membrana. La tinción inespecífica debe ser ≤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> <p>Consulte la sección 13.2.2 para obtener instrucciones adicionales acerca del tejido de control relacionado con cáncer cervical.</p>
<p>5. Tejido de control de amígdala (opcional)</p> <p>(Proporcionado por un laboratorio)</p>	<p>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.</p>	<p>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.</p>

  
 ROCHE DIAGNÓSTICOS ARGENTINA S.A.  
 Fernando Matias Mendonça  
 D.N.I.: 23.097.811  
 Apodado

  
 P03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 13/33  
 CARLOS E.G. BOBBETO  
 DIRECTOR TÉCNICO  
 M.I. 41153  
 19-41730710-APN-DNPM#ANMAT



Muestras	Exposición de motivos	Requisitos
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-PD-L1	Examine por último todo el portaobjetos de las muestras del paciente teñidas con el anticuerpo primario de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. Consulte las secciones Resumen y explicación, Limitaciones y Características de resultados para obtener información específica respecto a la inmunoreactividad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx.	<p>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.</p> <p>Igual que con cualquier prueba inmunohistoquímica, un 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.</p> <p>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>

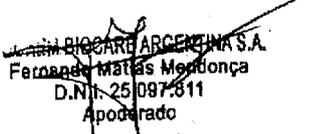
## 15. Limitaciones

### 15.1 Limitaciones generales

- 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.
- 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.
- Una contratinción excesiva o incompleta puede invalidar la interpretación correcta de los resultados.
- La interpretación clínica de toda tinción positiva o de su ausencia debe evaluarse en el contexto de la presentación clínica, la morfología y otros criterios anatomopatológicos. 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.
- 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 tinción no específica con peroxidasa de rábano picante (7).
- Los reactivos pueden mostrar reacciones imprevisibles en tipos de tejidos no probados previamente. La posibilidad de reacciones imprevisibles incluso en tipos de tejido probados 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 Dako.
- Pueden observarse resultados falsos positivos debidos a una unión no inmunológica de las proteínas o de los productos de reacción del sustrato. También pueden estar provocados por la actividad de la pseudoperoxidasa (eritrocitos) y la actividad de la peroxidasa endógena (citocromo C) (7).
- 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

- 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).
- 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.
- 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.
- 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.
- El empleo de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en tejidos con fijadores diferentes al formol no ha sido validado.
- El empleo de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en aspiraciones con aguja fina no ha sido validado.
- El empleo de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en tejidos descalcificados no ha sido validado.
- 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.

  
 CARLOS E.G. BOBBETTI  
 FERNANDA MATIAS MENDONÇA  
 D.N.º 25 097 311  
 Apoderado

P03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 14/33

IF-2019-41730710-APN-DNPM#ANMAT

CARLOS E.G. BOBBETTI  
 DIRECTOR TÉCNICO  
 M. Página 12 de 31



9. El estudio clínico sobre el carcinoma urotelial fue realizado con indicaciones de obtener entre 3 y 5 biopsias tisulares con aguja 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 18 de la sección 16.5, Evaluación del rendimiento clínico).

\*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.

## 16. Evaluación del rendimiento

### 16.1 Evaluación del rendimiento no clínico: tejidos normales y neoplásicos

**Tejidos normales:** En la Tabla 6 se resume la inmunoreactividad 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 se fijaron con formol y se incluyeron en parafina, y se tiñeron con PD-L1 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 (8, 9).

**Tabla 6: Resumen de la reactividad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en tejido normal**

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 (2)	0/2	0/2	0/2
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	0/3
Glándula salivar (3)	0/3	0/3	0/3
Higado (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 (2)	2/2 epitelio	0/2	0/2
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

**Tejidos neoplásicos:** En la Tabla 7 se resume la inmunoreactividad 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 los tejidos se fijaron con formol y se incluyeron en parafina, y se tiñeron con PD-L1 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 (8-11).

ROCHEM BIOCARE ARGENTINA S.A.  
Fernando María Mendonça  
D.N. 17.25.097.811  
Apoderado

P03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 15/33  
CARLOS E. BOBBI  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.I. 11153  
1730710-APN-DNPM#ANMAT

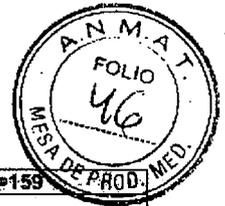
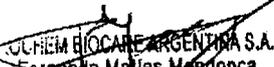
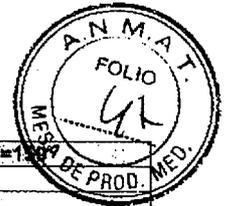


Tabla 7: Resumen de la reactividad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en tejido neoplásico

Tipo de tumor	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	
	Ovario, seroso	0/1	
	Ovarios	0/1	
	Páncreas	0/2	
	Páncreas, ductal	0/3	
	Próstata	0/5	
	Pulmón	1/4	
	Recto	0/4	
	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	
Carcinoma de células pequeñas	Útero	0/1	
	Pulmón	0/1	
Carcinoma de células renales	Riñón	Célula clara	0/6
		Papilar	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	
Leiomiocarcinoma	Tejido blando, pared torácica	0/1	
	Vejiga	0/1	

  
 GENIUM BIOMARKERS ARGENTINA S.A.  
 Fernando Matias Mendonça  
 D.N.I. 24.097.811  
 Apoderado

P03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 16/33  
 2019-41730710-APN-DNPM#ANMAT  
 CARLOS E.G. BOBBETT  
 DIRECTOR TÉCNICO  
 M.I. 11123



Tipo de tumor	Ubicación	Positivo para PD-L1/total N=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	Recto	0/1
	Cavidad nasal	0/1
Meningioma	Cerebro	0/2
Mesotelioma	Peritoneo	0/1
Neuroblastoma	Retroperitoneo	0/1
Neurofibroma	Tejido blando, región lumbar	0/1
Osteosarcoma	Hueso	0/2
	Retroperitoneo	0/1
Rabdomiosarcoma	Próstata	0/1
	Tejido blando, embrionario	0/1
Sarcoma sinovial	Cavidad pélvica	0/1
Seminoma	Testículo	0/2
Timoma	Mediastino	1/1
	Colon	0/1
Tumor intersticial	Intestino delgado	0/1
	Recto	0/1
Tumor neuroectodérmico primitivo (PNET)	Retroperitoneo	0/1

## 16.2 Evaluación del rendimiento no clínico: NSCLC

### Sensibilidad/Especificidad analítica

La sensibilidad analítica de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se analizó en 127 casos únicos de muestras FFPE de carcinomas de pulmón de células no pequeñas (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.

### 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 del 95% dobles con el método bootstrap. Para los estudios que dieron como resultado un 100% de concordancia, el porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y la concordancia general (OA) se calcularon con intervalos de confianza del 95% dobles, con el método de puntuación Wilson Score para valores de corte de TPS  $\geq 1\%$  y  $\geq 50\%$ .

Tabla 8: Precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx analizado en un único centro (TPS  $\geq 1\%$ )

Estudio de precisión	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95%)
Interinstrumento	TPS $\geq 1\%$	Cada una de 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 con cada uno de los seis instrumentos Autostainer Link 48.	NPA 100% (94,0-100%) PPA 100% (94,0-100%) OA 100% (96,9-100%)
Interoperador	TPS $\geq 1\%$	Cada una de 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 con seis analistas distintos en un instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100% (93,9-100%) PPA 100% (94,0-100%) OA 100% (96,9-100%)
Interdía	TPS $\geq 1\%$	Cada una de 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 seis días no consecutivos en un instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100% (94,0-100%) PPA 100% (94,0-100%) OA 100% (96,9-100%)
Interlote	TPS $\geq 1\%$	Cada una de las 24 muestras de NSCLC (13 negativas para PD-L1 y 11 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 se analizó con tres repeticiones y cada uno de los tres lotes de reactivos en un instrumento Autostainer Link 48.	ANA 98,3% (95,9-100%) APA 97,9% (94,6-100%) OA 98,1% (95,3-100%)
(Repetibilidad) intraensayo	TPS $\geq 1\%$	Cada una de 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 con seis repeticiones en la misma sesión en un instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100% (94,0-100%) PPA 100% (93,8-100%) OA 100% (96,8-100%)

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

ROCHEM BIODIAGNÓSTICOS ARGENTINA S.A.  
Fernando Matías Mendonça  
D.N.I. 25.097.611  
Apoderado

903951ES\_10/SK00521-5/2018.08 p. 17/33  
IF 2019-11730710-APN-DNPM#ANMAT  
CARLOS E. G. BOBBI  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.L. 11153



**Tabla 9: Precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx analizado en un único centro (TPS ≥50%)**

Estudio de precisión	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95%)
Interinstrumento	TPS ≥50%	Cada una de 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 con cada uno de los seis instrumentos Autostainer Link 48.	NPA 100% (92,9-100%) PPA 100% (88,6-100%) OA 100% (95,4-100%)
Interoperador	TPS ≥50%	Cada una de 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 con seis analistas distintos en un instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100% (92,7-100%) PPA 100% (88,6-100%) OA 100% (95,4-100%)
Interdía	TPS ≥50%	Cada una de 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 seis días no consecutivos en un instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100% (92,9-100%) PPA 100% (88,6-100%) OA 100% (95,4-100%)
Interlote	TPS ≥50%	Cada una de las 16 muestras de NSCLC (8 negativas para PD-L1 y 8 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 se analizó con tres repeticiones y cada uno de los tres lotes de reactivos en un instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100% (92,6-100%) PPA 100% (92,6-100%) OA 100% (96,2-100%)
(Repetibilidad) intraensayo	TPS ≥50%	Cada una de 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 con seis repeticiones en la misma sesión en un instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100% (92,9-100%) PPA 100% (88,6-100%) OA 100% (95,4-100%)
Intradía	TPS ≥50%	Cada una de 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 dos sesiones en el mismo día, repetidas durante tres días, en un instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100% (88,3-100%) PPA 100% (82,4-100%) OA 100% (92,4-100%)

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

**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 del 95% dobles con el método bootstrap para un valor de corte de TPS ≥1% y ≥50%.

**Tabla 10: Reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx analizado en tres centros externos (TPS ≥1%)**

Estudio de reproducibilidad	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95%)
Intercentro	TPS ≥1%	Cada una de 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 se analizó en cinco días no consecutivos. Se realizaron análisis intercentro entre tres 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 ≥1%	Cada una de 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 se analizó 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 1080 comparaciones por pares.	ANA 96,2% (94,1-97,5%) APA 96,7% (95,0-97,9%) OA 96,5% (95,2-97,4%)
Interobservador	TPS ≥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 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 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%)

ROCHEM DIAGNÓSTICOS ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.I. 25.097.811  
Apoderado

F03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 18/33  
IF-2019-41730710-APN-DNPM#ANMAT  
CARLOS E.G. BOBBETT  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.1.11153  
Página 16 de 31



Estudio de reproducibilidad	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95%)
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 expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 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 558 comparaciones por pares.	ANA 93,7% (90,0-96,1%) APA 94,8% (91,6-96,7%) OA 94,3% (92,0-95,9%)

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

Tabla 11: 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%	Cada una de 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 se analizó en cinco días no consecutivos. Se realizaron análisis intercentro entre tres centros en un total de 2700 comparaciones por pares.	ANA 90,3% (84,4-95,2%) APA 85,2% (75,6-92,9%) OA 88,3% (81,4-94,3%)
Intracentro	TPS $\geq$ 50%	Cada una de 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 se analizó 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 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 $\geq$ 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 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 1674 comparaciones por pares.	ANA 92,6% (87,8-96,7%) APA 92,8% (88,1-96,8%) OA 92,7% (88,1-96,8%)
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 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 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 = concordancia negativa media; APA = concordancia positiva media; OA = concordancia general; TPS = Tumor Proportion Score

### 16.3 Evaluación del rendimiento clínico: NSCLC

#### KEYNOTE 024: Ensayo controlado 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 (9). 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 requiera terapia sistémica a los 2 años de tratamiento, con una afección médica que requiera 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 + 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%).

BIOMEDICARE ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.I. 25.097.811  
Apoderado

PD3951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 19/33  
2019-41730710-APN-DNPM#ANMAT  
CARLOS E. G. ROBBETT  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.T. 1113



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 12 se resumen las medidas de eficacia fundamentales para la población por intención de tratar (ITT) completa.

**Tabla 12: Resultados de eficacia de Trial 24**

Criterio de valoración	KEYTRUDA 200 mg/kg, cada 3 semanas n=154	Quimioterapia n=151
SSP*		
Número (%) de los pacientes con suceso	73 (47%)	116 (77%)
Cociente de riesgos instantáneos <sup>†</sup> (IC del 95%)	0,50 (0,37, 0,68)	---
Valor p <sup>‡</sup>	<0,001	---
Mediana en meses (IC del 95%)	10,3 (6,7; N/D)	6,0 (4,2, 6,2)
SG		
Número (%) de los pacientes con suceso	44 (29%)	64 (42%)
Cociente de riesgos instantáneos <sup>†</sup> (IC del 95%)	0,60 (0,41, 0,89)	---
Valor p <sup>‡</sup>	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

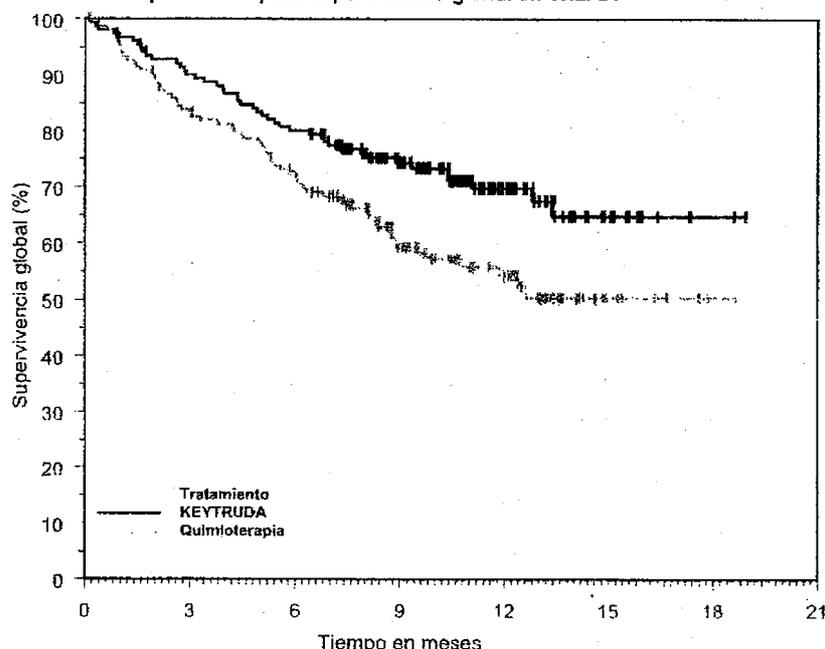
<sup>†</sup> Cociente de riesgos instantáneos (comparación de KEYTRUDA con quimioterapia) basado en el modelo de Cox de riesgo proporcional estratificado

<sup>‡</sup> Según la prueba del orden logarítmico estratificada

N/D = no disponible

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 1).

**Figura 1: Curva de Kaplan-Meier para supervivencia global en Trial 24**



Número en riesgo	0	3	6	9	12	15	18	21
KEYTRUDA	154	136	121	82	39	11	2	0
Quimioterapia	151	123	106	64	34	7	1	0

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

COCHEM BIOPHARMA ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.I. 25.097.811  
Apoderado

PU3951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 20/33  
IF 2019-41730710-APN-DNPM#ANMAT  
CARLOS E.G. ROBBETT  
DIRECTOR TECNICO  
M.I. 4153  
Página 18 de 31



La eficacia de KEYTRUDA se investigó en Trial 10, un ensayo controlado, aleatorizado (1:1), abierto y multicéntrico (10). 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) 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 requiera 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/m<sup>2</sup> 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).

El nivel de concordancia logrado entre el CTA y PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se muestra en la Tabla 13.

Tabla 13: Concordancia de 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 ≥1%	94,5% [91,4%-96,6%]	80,0% [76,9%-82,8%]
	TPS ≥50%	98,3% [97,1%-99,0%]	73,2% [67,9%-77,9%]

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

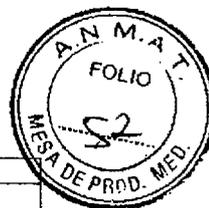
Los resultados de la eficacia se resumen en las Tablas 14 y 15. KEYTRUDA mostró un beneficio clínico duradero en pacientes con NSCLC con expresión de PD-L1 (TPS ≥1%), que mejoró en pacientes con expresión alta de PD-L1 (TPS ≥50%), tal como se determinó con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx. El alcance del beneficio era comparable con el del ensayo clínico global. En las tablas siguientes 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 2 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 14: 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 <sup>2</sup> 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 instantáneos* (IC del 95%)	0,71 (0,58; 0,88)	0,54 (0,37; 0,78)	0,61 (0,49; 0,75)	0,57 (0,39; 0,82)	---	---
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)	---	---

ROCHEM BIOFARMA ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.I. 25.997.811  
Apoderado

CARLOS E. G. BOBBI  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.I.L. 41123  
P03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 21/33  
T730710-APN-DNPM#ANMAT



Valor p <sup>†</sup>	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 <sup>‡</sup>						
TRO % <sup>§</sup> (IC del 95%)	18% (14, 23)	24% (17, 32)	18% (15, 23)	20% (14, 28)	9% (7, 13)	5% (2, 11)

\* Cociente de riesgos instantáneos (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 15: 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

Criterio de valoración	KEYTRUDA 2 mg/kg cada 3 semanas		KEYTRUDA 10 mg/kg cada 3 semanas		Docetaxel 75 mg/m <sup>2</sup> 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	139	56	151	60	152	47
<b>SG</b>						
Fallecimientos (%)	58 (42%)	18 (32%)	60 (40%)	19 (32%)	86 (57%)	25 (53%)
Cociente de riesgos instantáneos* (IC del 95%)	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 <sup>†</sup>	<0,001	0,00541	<0,001	<0,001	---	---
Mediana en meses (IC del 95%)	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)
<b>SSP<sup>‡</sup></b>						
Eventos (%)	89 (64%)	33 (59%)	97 (64%)	34 (57%)	118 (78%)	33 (70%)
Cociente de riesgos instantáneos* (IC del 95%)	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 <sup>†</sup>	<0,001	0,00221	<0,001	<0,001	---	---
Mediana en meses (IC del 95%)	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 <sup>‡</sup>						
TRO % <sup>§</sup> (IC del 95%)	30% (23, 39)	37% (25, 52)	29% (22, 37)	28% (18, 41)	8% (4, 13)	4% (1, 15)

\* Cociente de riesgos instantáneos (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

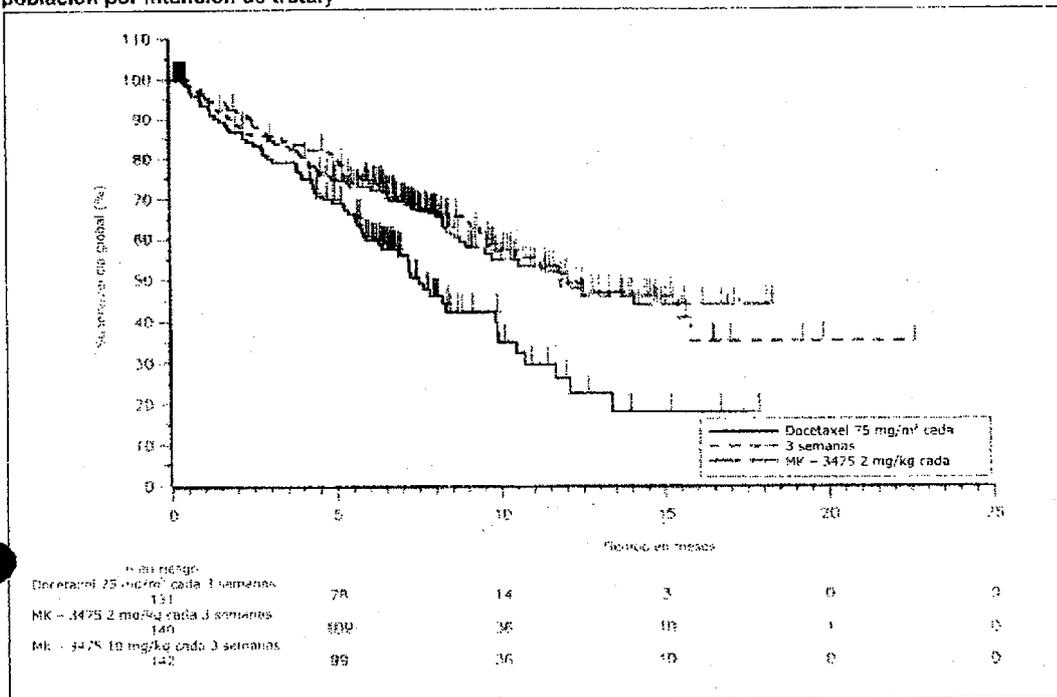
§ Todas las respuestas eran respuestas parciales

ROCHEM BIOFARMA ARGENTINA S.A.  
Fernando Matías Mendonça  
D.N. 25.497.811  
Apostado

CARLOS E. G. BOBBETTI  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.I. 1115-2019-41730710-APN-DNPM#ANMAT  
P03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 22/33



Figura 2: Curva de Kaplan-Meier para la supervivencia global por grupo de tratamiento (TPS  $\geq 1\%$  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  $\geq 1\%$ ) 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-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.

**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  $\geq 1$ .

**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 intraobservador e interobservador. El porcentaje de concordancia negativa (NPA), el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y la concordancia general (OA) se calcularon con intervalos de confianza del 95% dobles con el método de puntuación Wilson Score para un valor de corte de CPS  $\geq 1$ .

Tabla 16: Precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica, analizado en un único centro (CPS  $\geq 1$ )

Estudio de precisión	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95%):
Precisión combinada (interinstrumento, interoperador, interlote, interdía)	CPS $\geq 1$	Cada una de las 24 muestras de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica (12 negativas para PD-L1 y 12 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión de PD-L1 se analizó con tres instrumentos Autostainer Link 48, cuatro operadores y tres lotes del kit en tres días no consecutivos.	NPA 100% (94,9-100%) PPA 95,8% (88,5-98,6%) OA 97,9% (94,1-99,3%)
Precisión intraensayo (repetibilidad)	CPS $\geq 1$	Cada una de las 24 muestras de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica (13 negativas para PD-L1 y 11 positivas para PD-L1) con un	NPA 96,9% (89,5-99,2%) PPA 100% (93,5-100%) OA 98,3% (94,1-99,5%)

ROCHEM BIOCARE ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.I. 25.097.811  
Apoderado

P03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 23/33  
IF-2019/41730710-APN-DNPM#ANMAT  
CARLOS E.G. BOBBETT  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.I. 41153  
Página 21 de 31



Estudio de precisión	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95%)
		Intervalo de expresión IHC de PD-L1 se analizó con cinco repeticiones en la misma sesión en un instrumento Autostainer Link 48.	
Precisión interobservador	CPS $\geq 1$	La puntuación de 60 muestras de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica (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 tres anatomopatólogos en tres días no consecutivos.	NPA 91,5% (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 60 muestras de adenocarcinoma gástrico o de la unión gastroesofágica (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 tres anatomopatólogos en tres días no consecutivos.	NPA 96,0% (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 = concordancia general; CPS = Combined Positive Score

#### 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 la concordancia general (OA) se calcularon con intervalos de confianza bilaterales (IC) del 95% con el método de bootstrap 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 intraobservador con tres observadores legos y los resultados cumplieron los criterios de aceptación. Los resultados se muestran en la Tabla 17 a continuación. Se recomienda realizar una evaluación de competencias para garantizar la correcta interpretación de la puntuación por parte del observador.

**Tabla 17: 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 $\geq 1$	Cada una de 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 se analizó en cinco días no consecutivos. Se realizaron análisis intercentro entre tres centros en un total de 540 comparaciones por pares con la secuencia mayoritaria.	NPA 92,5% (86,2-97,5%) PPA 91,7% (84,7-97,7%) OA 92,0% (87,4-96,3%)
Intracentro	CPS $\geq 1$	Cada una de 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 se analizó 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 con la secuencia mayoritaria.	NPA 93,1% (89,2-96,5%) PPA 98,2% (96,4-99,6%) OA 95,7% (93,7-97,6%)
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 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 612 comparaciones por pares con la secuencia mayoritaria.	NPA 96,6% (92,9-99,4%) PPA 96,5% (93,1-99,3%) OA 96,6% (94,0-98,7%)

OCHEM BIOPHARMA ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.N. 25.097.611  
Apoderado

PO3951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 24/33  
730710-APN-DNPM#ANMAT  
CARLOS E. GILBERTI  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.I. 11153



Estudio de reproducibilidad	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95%)
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 PD-L1 IHC 22C3 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 612 comparaciones por pares con la secuencia mayoritaria.	NPA 97,2% (94,8-99,1%) PPA 97,2% (94,8-99,3%) OA 97,2% (95,3-98,9%)

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

### 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 2 tratamientos sistémicos anteriores para enfermedad avanzada. 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 15]) 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)  $\geq 1$ . Se analizaron las muestras del 73% (66/90) de los pacientes que correspondían a muestras tumorales recientes para las 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  $\geq 1$  (Tabla 18).

Tabla 18: Expresión de PD-L1 tumoral por tipo de muestra

Tejido tumoral	Expresión de PD-L1 (CPS $\geq 1$ ) 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  $\geq 1$ , 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  $\geq 1$ ), 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.

### 16.6 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 de cáncer cervical humano en parafina y fijadas con formol (FFPE). En estos conjuntos de muestras para el estudio no clínico también se incluyeron cánceres de células escamosas (SQ) vulvares, anales y de glándulas 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.

ROCHEM BIOCARE ARGENTINA S.A.  
Fernando Matías Mendonça  
D.N.I. 25.097.811  
Apodado

CARLOS E.G. BOBBI  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.I. 41153  
ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 25/33  
30710-APN-DNPM#ANMAT



**Sensibilidad/especificidad analítica: cáncer cervical**

Se analizó la sensibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en 370 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 85% de las muestras de cáncer cervical presentaba expresión de la PD-L1, con la expresión definida por CPS  $\geq 1$ .

**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  $\geq 1$ .

**Tabla 19: Precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en cáncer cervical, incluidos cánceres de células escamosas, analizado en un único centro (CPS  $\geq 1$ )**

Estudio de precisión	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95%)
Precisión combinada del subgrupo histológico de células escamosas (interinstrumento, interoperador, interlote, interdía)	CPS $\geq 1$	Cada una de las 18 muestras del subgrupo escamoso (7 negativas para PD-L1 y 11 positivas para PD-L1; 6 cánceres cervicales [3 positivos para PD-L1 y 3 negativos para PD-L1]) con un intervalo de expresión de PD-L1 se analizó con tres instrumentos Autostainer Link 48, cuatro operadores y tres lotes del kit en tres días no consecutivos.	NPA 100% (91,4-100%) PPA 100% (94,5-100,0%) OA 100% (96,5-100%)
Precisión intraensayo (repetibilidad) en el subgrupo histológico de células escamosas	CPS $\geq 1$	Cada una de las 8 muestras (0 negativas para PD-L1 y 8 positivas para PD-L1, 2 cánceres cervicales (2 positivos para PD-L1)) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 se analizó con cinco repeticiones en la misma sesión en el instrumento Autostainer Link 48.	NPA N/D PPA 97,5% (87,1-99,6%) OA 97,5% (87,1-99,6%)
Precisión interobservador en el subgrupo histológico de células escamosas	CPS $\geq 1$	La puntuación de 52 muestras escamosas (22 positivas para PD-L1 y 30 negativas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por tres anatomopatólogos en tres días no consecutivos.	NPA 98,4% (95,5-99,5%) PPA 98,9% (96,8-99,6%) OA 98,7% (97,2-99,4%)
Precisión intraobservador en el subgrupo histológico de células escamosas	CPS $\geq 1$	La puntuación de 52 muestras escamosas (22 positivas para PD-L1 y 30 negativas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por tres anatomopatólogos en tres 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 = concordancia general; CPS = Combined Positive Score

**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% con el método de puntuación Wilson Score para un valor de corte de CPS  $\geq 1$ .

**Tabla 20: Precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en cáncer cervical, analizado en un único centro (CPS  $\geq 1$ )**

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 $\geq 1$	6 muestras de cáncer cervical (3 negativas para PD-L1 y 3 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión de PD-L1 se analizaron con tres instrumentos Autostainer Link 48, cuatro operadores y tres lotes del kit en tres días no consecutivos.	NPA 100,0% (81,6-100%) PPA 100,0% (82,4-100%) OA 100,0 (90,1-100%)

RSCHEM BIOCARE ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.I. 251097.811  
Apoderado

CARLOS E.G. BOBBETT  
DIRECTOR TÉCNICO  
MESA DE PROD. MED.  
951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 26/33  
IP-2019-41730710-APN-DNPM#ANMAT



Estudio de precisión	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95%)
Precisión intraensayo en cáncer cervical (repetibilidad)	CPS $\geq$ 1	2 muestras de cáncer cervical (0 negativas para PD-L1 y 2 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 se analizaron con cinco repeticiones en la misma sesión en un instrumento Autostainer Link 48.	NPA N/D PPA 100,0% (72,2-100%) OA 100,0% (72,2-100,0%)
Precisión interobservador en cáncer cervical	CPS $\geq$ 1	La puntuación de 21 muestras de cáncer cervical (8 positivas para PD-L1 y 13 negativas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por tres anatomopatólogos en tres días no consecutivos.	NPA 100% (94,9-100%) 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 positivas para PD-L1 y 13 negativas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, fue realizada por tres anatomopatólogos en tres días no consecutivos.	NPA 100% (94,9-100%) PPA 99,1% (95,3-99,8%) OA 99,5% (97,1-99,9%)

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

**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 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 21: Reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en cáncer cervical, incluidos cánceres de células escamosas, 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	Cada una de las 22 muestras del subgrupo escamoso (9 negativas para PD-L1 y 13 positivas para PD-L1; n=6 cánceres cervicales) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 se analizó en cinco días no consecutivos. Se realizaron análisis intercentro entre tres centros en un total de 330 comparaciones por pares con la secuencia mayoritaria.	NPA 94,8% (89,7-97,5%) PPA 97,4% (94,1-98,9%) OA 96,4% (93,7-97,9%)
Intracentro	CPS $\geq$ 1	Cada una de las 22 muestras del subgrupo escamoso (9 negativas para PD-L1 y 13 positivas para PD-L1; n=6 cánceres cervicales) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 se analizó en cinco días no consecutivos. Se realizaron análisis intracentro en tres centros en un total de 330 comparaciones por pares con la secuencia mayoritaria.	NPA 98,5% (94,6-99,6%) PPA 97,5% (94,3-98,9%) OA 97,9% (95,7-99,0%)
Interobservador	CPS $\geq$ 1	Cada una de las 22 muestras del subgrupo escamoso (9 negativas para PD-L1 y 13 positivas para PD-L1; n=6 cánceres cervicales) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, 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 198 comparaciones por pares con la secuencia mayoritaria.	NPA 95,1% (88,0-98,1%) PPA 99,1% (95,2-99,8%) OA 97,4% (94,1-98,9%)

ROCHEM CROCIARE ARGENTINA S.A.  
Fernando Maffias Mendonça  
D.N.I. 26.097.811  
Apoderado

CARLOS E. G. ROBERTO  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.I. 11133  
P03951ES\_10/SK00621-S/2018.08 p. 27/33  
0710-APN-DNPM#ANMAT



Estudio de reproducibilidad	Valor de corte diagnóstico	Diseño del estudio	% de concordancia (IC del 95%)
Intraobservador	CPS $\geq 1$	Cada una de las 22 muestras del subgrupo escamoso (9 negativas para PD-L1 y 13 positivas para PD-L1; n=6 cánceres cervicales) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 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 198 comparaciones por pares con la secuencia mayoritaria.	NPA 97,4% (91,1-99,3%) PPA 98,3% (93,9-99,5%) OA 97,9% (94,8-99,2%)

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

#### Reproducibilidad externa: cáncer cervical

La reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se evaluó con cáncer cervical en tres centros externos. 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 22: Reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en cáncer cervical, 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 $\geq 1$	6 muestras de cáncer cervical (2 negativas para PD-L1 y 4 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 se analizaron en cinco días no consecutivos. Se realizaron análisis intercentro entre tres centros en un total de 90 comparaciones por pares con la secuencia mayoritaria.	NPA 100% (88,6-100%) PPA 95,0% (86,3-98,3%) OA 96,7% (90,7-98,9%)
Intracentro	CPS $\geq 1$	6 muestras de cáncer cervical (2 negativas para PD-L1 y 4 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 se analizaron en cinco días no consecutivos. Se realizaron análisis intracentro en tres centros en un total de 90 comparaciones con la secuencia mayoritaria.	NPA 100% (88,6-100%) PPA 95,0% (86,3-98,3%) OA 96,7% (90,7-98,9%)
Interobservador	CPS $\geq 1$	La puntuación de 6 muestras de cáncer cervical (2 negativas para PD-L1 y 4 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, 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 54 comparaciones por pares con la secuencia mayoritaria.	NPA 100% (82,4-100%) PPA 100% (90,4-100%) OA 100% (93,4-100%)
Intraobservador	CPS $\geq 1$	La puntuación de 6 muestras de cáncer cervical (2 negativas para PD-L1 y 4 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1, teñidas con PD-L1 IHC 22C3 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 54 comparaciones por pares con la secuencia mayoritaria.	NPA 100% (82,4-100%) PPA 100% (90,4-100%) OA 100% (93,4-100%)

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

SCORER BIOCARE ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.I. 25.097.811  
Apoderado

P03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 28/33  
CARLOS E. G. BOBBI  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.L. 11123



**16.7 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. 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  $\geq 1$  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% 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 23.

**Tabla 23: Resultados de la eficacia en la Cohorte E de KEYNOTE-158 (CPS  $\geq 1$ )**

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+) <sup>†</sup>
% con una duración $\geq 6$ meses	91%

\* Mediana de tiempo de seguimiento de 11,7 meses (intervalo de 0.6 a 22,7 meses)

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

+ Indica continuidad

NA= No alcanzada

**16.8 Evaluación del rendimiento no clínico: carcinoma urotelial**

Se realizaron estudios no clínicos en muestras de carcinoma urotelial fijadas con formol e incluidas en parafina (FFPE).

**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  $\geq 10$ . No fue posible evaluar una muestra debido a la alta tinción de fondo.

**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 la 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  $\geq 10$ , tal como se muestra en la Tabla 24.

**Tabla 24: Precisión de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx en carcinoma urotelial, analizado en un único centro (CPS  $\geq 10$ )**

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 $\geq 10$	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 tres operadores en tres instrumentos Autostainer Link 48 en tres días no consecutivos y con tres lotes de reactivos.	NPA 96,2% (92,3-100%) PPA 98,3% (95,0-100%) OA 97,1% (94,2-99,3%)
Precisión intraanálisis* (Repetibilidad)	CPS $\geq 10$	Se analizó cada una de 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 cinco repeticiones en la misma sesión en un instrumento Autostainer Link 48.	NPA 100% (95,7-100%)* PPA 96,0% (92,0-100,0%) OA 98,1% (96,2-100,0%)
Precisión interobservador	CPS $\geq 10$	La puntuación de 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 tres anatomopatólogos en tres días no consecutivos.	NPA 95,2% (90,3-99,2%) PPA 94,1% (89,9-97,6%) OA 94,6% (91,4-97,4%)

ROCHEM BIO CARE ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.I. 25.097.811  
Aporado

P03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 29/33  
IF-2019-41730710-APN-DNPM#ANMAT  
CARLOS E.G. BOBBFT  
DIRECTOR TECNICO  
M.I. 4112a



Precisión intraobservador	CPS ≥10	La puntuación de 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 tres anatomopatólogos en tres 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%, 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 la secuencia mayoritaria, los datos no son independientes.

**Reproducibilidad externa: carcinoma urotelial**

La reproducibilidad de PD-L1 IHC 22C3 pharmDx se evaluó con carcinoma urotelial en tres centros externos. 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% con el método bootstrap de percentiles.

**Tabla 25: 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%)
Intercentro	CPS ≥10	Cada una de las 36 muestras de carcinoma urotelial (20 negativas para PD-L1 y 16 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 se analizó en cinco días no consecutivos. Se realizaron análisis intercentro entre tres centros en un total de 539 comparaciones con la secuencia mayoritaria.	NPA 94,0% (87,7-99,3%) PPA 84,6% (77,1-91,7%) OA 89,8% (85,0-94,1%)
Intracentro	CPS ≥10	Cada una de las 36 muestras de carcinoma urotelial (20 negativas para PD-L1 y 16 positivas para PD-L1) con un intervalo de expresión IHC de PD-L1 se analizó 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 539 comparaciones por pares con la secuencia mayoritaria.	NPA 96,2% (92,9-98,8%) PPA 95,0% (92,4-97,4%) OA 95,7% (93,5-97,6%)
Interobservador	CPS ≥10	La puntuación de 60 muestras de carcinoma urotelial (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 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 540 comparaciones con la secuencia mayoritaria.	NPA 97,3% (94,3-99,6%) PPA 90,7% (86,4-94,6%) OA 93,9% (91,3-96,3%)
Intraobservador	CPS ≥10	La puntuación de 60 muestras de carcinoma urotelial (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 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 540 comparaciones con la secuencia mayoritaria.	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 = concordancia general; CPS = Combined Positive Score

**16.9 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. 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.

ROCHEM BUENOS AIRES ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.I. 29.097.811  
Apoderado

P03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 30/33  
CARLOS E. GIBONIS  
DIRECTOR TECNICO  
M.31/11153  
1730710-APN-DNPM#ANMAT



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  $\geq 10$ . Los datos de los restantes 270 pacientes, el grupo de validación, se utilizaron para validar clínicamente el valor de corte de CPS  $\geq 10$ .

Entre los 370 pacientes, el 30% (n=110) presentaban tumores que expresaron PD-L1 con un valor de CPS  $\geq 10$ , 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 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 cardíaca 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  $\geq 10$ . 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 cardíaca 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 26.

**Tabla 26: Resultados de eficacia en KN052**

Criterio de valoración	CPS $< 10$ en el grupo de validación (N=185)	CPS $\geq 10$ 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+)

+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.

## 17. Solución de problemas

**Tabla 27: Solución de problemas**

Problema	Causa probable	Acción recomendada
1. Los portaobjetos no se han teñido.	1a. Error de programación.	1a. Compruebe que se ha seleccionado el programa PD-I.1 IHC 22C3 pharmDx para programar los portaobjetos.
	1b. Falta de reacción con DAB+ Substrate-Chromogen Solution (DAB).	1b. Compruebe que se ha preparado adecuadamente DAB+ Substrate-Chromogen Solution.
	1c. Azida de sodio en el tampón de lavado.	1c. Use solo Dako Wash Buffer (n.º de catálogo K8007)
	1d. Degradación de Control Slide.	1d. Compruebe la fecha de caducidad y las condiciones de almacenamiento del kit impresas en la parte exterior del envase.
2. Los portaobjetos con muestras se han teñido débilmente.	2a. Método de fijación no apropiado.	2a. Asegúrese de que solo se utilizan fijadores de formol tamponado neutro y métodos de fijación aprobados.
	2b. Volumen insuficiente de reactivo aplicado.	2b. Compruebe el tamaño del corte del tejido y el volumen del reactivo aplicado.
	2c. Tampón de lavado no apropiado.	2c. Use solo Dako Wash Buffer, n.º de catálogo K8007.

OCHEM BIOPHARMA ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.I. 24.097.811  
Apoderado

03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 31/33  
CARLOS E. G. BOBBERO  
DIRECTOR TÉCNICO  
M.I. 11153  
070-APN-DNPM#ANMAT



Problema	Causa probable	Acción recomendada
3. Los portaobjetos con muestras o las líneas celulares positivas del portaobjetos de control Control Slide suministrados con el kit se han teñido débilmente.	3a. Recuperación antigénica inadecuada.	3a. Compruebe que el procedimiento de pretratamiento 3 en 1 se ha realizado correctamente.
	3b. Tampón de lavado no apropiado.	3b. Use solo Dako Wash Buffer, n.º de catálogo K8007.
4. Tinción excesiva de fondo de los portaobjetos.	4a. No se ha retirado por completo la parafina.	4a. Compruebe que el procedimiento de pretratamiento 3 en 1 se ha realizado correctamente.
	4b. Los portaobjetos se han secado durante la carga en Autostainer Link 48.	4b. Asegúrese de que los portaobjetos permanezcan húmedos durante la carga y antes de empezar la sesión.
	4c. Unión inespecífica de los reactivos al corte de tejido.	4c. Compruebe que se ha fijado bien la muestra y/o la presencia de necrosis.
	4d. Método de fijación no apropiado.	4d. Asegúrese de que solo se utilizan fijadores de formol tamponado neutro y métodos de fijación recomendados.
5. El tejido se ha desprendido de los portaobjetos.	5a. Se han utilizado los portaobjetos incorrectos.	5a. Utilice Dako FLEX IHC Microscope Slides (n.º de catálogo K8020) o los portaobjetos cargados Fisherbrand Superfrost Plus.
	5b. Preparación inadecuada de muestras.	5b. Los cortes deben colocarse en un horno a 58 ± 2 °C durante 1 hora antes de proceder a la tinción.
6. Tinción específica excesivamente intensa.	6a. Método de fijación no apropiado.	6a. Asegúrese de utilizar solo fijadores y métodos de fijación aprobados.
	6b. Tampón de lavado no apropiado.	6b. Use solo Dako Wash Buffer, n.º de catálogo K8007.
7. Target Retrieval Solution adquiere un aspecto turbio cuando se calienta.	7. Cuando se calienta Target Retrieval Solution adquiere un aspecto turbio.	7. Esto es normal y no influye en la tinción.

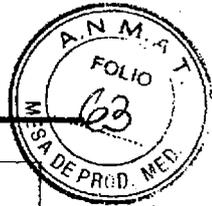
**NOTA:** Si no se puede atribuir el problema a ninguna de las circunstancias anteriores o si la acción correctiva sugerida no lo soluciona, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Agilent para solicitar más ayuda. Puede encontrar información adicional sobre las técnicas de tinción y preparación de muestras en Dako Education Guide: Immunohistochemical Staining Methods (5) (disponible en Dako).

**18. Referencias**

1. Keytruda® package insert.
2. R. Phelps, et al., *Journal of Cellular Biochemistry Supplement* (1996) 24:32-91.
3. Department of Health, Education and Welfare, National Institutes for Occupational Safety and Health, Rockville, MD. "Procedures for the decontamination of plumbing systems containing copper and/or lead azides." DHHS (NIOSH) Publ. No. 78-127, Current 13, August 16, 1976.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. CLSI document M29-A3 [ISBN 1-56238-567-4]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 - 1898 USA, 2000
5. Taylor CR and Rudbeck L. Education Guide: Immunohistochemical Staining Methods. Sixth Edition. Dako, Carpinteria, California; 2013.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCCLS). Quality assurance for Immunocytochemistry; Approved guideline. CLSI document MM4-A (1-56238-396-5) CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA; 1999.
7. Omata M, Liew C-T, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B s surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *Am J Clin Path* 1980; 73:626.
8. Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application. *International Immunol* 2007(19); 7:813.
9. Brown JA, Dorfman DM, Ma F-R, Sullivan EL, Munoz O, Wood CR, et al. Blockade of Programmed Death-1 Ligands on Dendritic Cells Enhances T Cell Activation and Cytokine Production. *J Immunol* 2003;170:1257.
10. Cooper WA, Tran T, Vilain RE, Madore J, Seliger CI, Kohonen-Cornish M. et al. PD-L1 expression is a favorable prognostic factor in early stage non-small cell carcinoma. *Lung Cancer* 2015; 89:181.
11. Chen B, Chapuy B, Ouyang J et al. PD-L1 Expression Is Characteristic of a Subset of Aggressive B-cell Lymphomas and Virus-Associated Malignancies. *Clin Cancer Res* 2013; 19:3462-3473.
12. Reck, M, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer (KEYNOTE-024). *The New England Journal of Medicine* (NJEM.org) 2016 Oct 09; 1-11.
13. Herbst RS, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *The Lancet online*: 2015 Dec 19.
14. Garon EB, Rizvi NA, Hui R, Leigh N, Balmanoukian AS, Eder JP. et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *New Eng J Med* 2015; 372:2018-28.
15. Muro K, Chung HC, Shankaran V, Geva R, Catenacci D, Gupta S, Eder JP, Golan T, Le D, Burtress B, McRee A, Lin C-C, Pathiraja K, Luceford J, Emancipator K, Juco J, Koshiji M, Bang Y. Pembrolizumab for patients with PD-L1-positive advanced gastric cancer (KEYNOTE-012): a multicentre, open-label, phase 1b trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(6):717-726.
16. Schellens JHM, Marabelle A, Zeigenfuss S, et al. Pembrolizumab for previously treated advanced cervical squamous cell cancer: preliminary results from the phase 2 KEYNOTE-158 study. *J Clin Oncol*. 2017;35(Suppl 15):5514.
17. Chung HC, Schellens JHM, Delord J-P. et al. Pembrolizumab treatment of advanced cervical cancer: updated results from the phase 2 KEYNOTE-158 study. *J Clin Oncol*. 2018;36(Suppl 15):5522.
18. Balar AV, Castellano D, O'Donnell PH, et al. First-line pembrolizumab in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and unresectable or metastatic urothelial cancer (KEYNOTE-052): A multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2017;18(11):1483-1492.

ROCHEM BIOPHARMA ARGENTINA S.A.  
 Fernando Marias Mendonça  
 D.N. 23.097.811  
 Apoderado

PT/951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 32/33  
 CARLOS E. G. BOBBEY  
 DIRECTOR TÉCNICO  
 M.171153



**Explicación de símbolos**

REF	Número de catálogo	Limitación de temperatura	IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
Fabricante	LOT	Código de lote	$\Sigma$	Contiene suficiente para <n> ensayos
Fecha de caducidad	Consulte las instrucciones de uso	EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea	



Dako North America, Inc.  
6392 Via Real  
Carpinteria, California 93013 USA

Tel 805 566 6655  
Fax 805 566 6688  
Technical Support 800 424 0921  
Customer Service 800 235 5763



Dako Denmark A/S  
Produktionsvej 42  
DK-2600 Glostrup Denmark

Tel +45 4485 9500  
Fax +45 4485 9595  
www.agilent.com

PT0020/Rev D

Revisión 2018.08

BIOCHEM BIOPARE ARGENTINA S.A.  
Fernando Matias Mendonça  
D.N.I. 25.097.811  
ApoDERado

CARLOS E. GOBETTI  
DIRECTOR TECNICO  
M.I. 11123  
P03951ES\_10/SK00621-5/2018.08 p. 33/33  
11730710-APN-DNPM#ANMAT

tt



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
2019 - Año de la Exportación

**Hoja Adicional de Firmas**  
**Anexo**

**Número:** IF-2019-41730710-APN-DNPM#ANMAT

CIUDAD DE BUENOS AIRES  
Lunes 6 de Mayo de 2019

**Referencia:** 1-47-3110-6085-18-9

---

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 31 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE  
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR, o=SECRETARIA DE GOBIERNO DE MODERNIZACION,  
ou=SECRETARIA DE MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT 30715117564  
Date: 2019.05.06 15:38:25 -03'00'

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

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA -  
GDE  
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR,  
o=SECRETARIA DE GOBIERNO DE MODERNIZACION,  
ou=SECRETARIA DE MODERNIZACION ADMINISTRATIVA,  
serialNumber=CUIT 30715117564  
Date: 2019.05.06 15:39:27 -03'00'