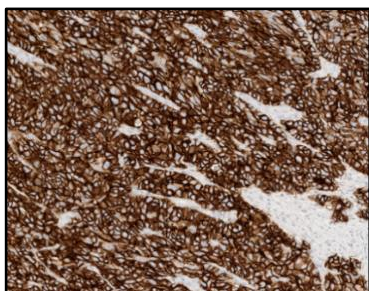


VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay

REF 741-5076

07763620001

IVD  50



Obr. 1. Tkáň karcinomu vaječnicku obarvená pomocí testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay.

URČENÉ POUŽITÍ

VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay je kvalitativní imunohistochemický test s použitím myši monoklonální protilátky anti-FOLR1, klonu FOLR1-2.1; je určen k laboratornímu použití při hodnocení proteinu folátového receptoru alfa (FOLR1) ve formalínem fixovaných, parafínem zalitých (FFPE) vzorcích tkáně epiteliálního ovariálního karcinomu, karcinomu vejcovodu nebo primárního peritoneálního karcinomu pomocí světelné mikroskopie. Tento test je určen k použití s detekční

soupravou OptiView DAB IHC Detection Kit pro barvení na přístroji BenchMark IHC/ISH. Klinická mezní hodnota exprese FOLR1 je $\geq 75\%$ životaschopných nádorových buněk (TC) s barvením membrány ve střední a/nebo silné intenzitě.

Test je indikován jako doprovodná diagnostika, která slouží jako pomůcka při identifikaci pacientek s epiteliálním ovariálním karcinomem, karcinomem vejcovodu nebo primárním peritoneálním karcinomem, které mohou být způsobily pro léčbu přípravkem ELAHERE (mirvetuximab soravtansine).

Výsledky u testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay musejí být interpretovány kvalifikovaným patologem v kombinaci s histologickým vyšetřením, relevantními klinickými informacemi a správnými kontrolami.

Tento produkt je určen pro diagnostické použití in vitro (IVD).

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Test VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay využívá myši monoklonální hybridomovou protilátku produkovanou proti rekombinantnímu proteinu jako supernatant buněčné kultury a purifikovanou pomocí proteinu G.

Test VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay je imunohistochemický (IHC) test, který detekuje protein folátového receptoru α^* (FR α) kódovaný genem pro folátový receptor 1 (FOLR1). FR α je součástí rodiny vysoce afinitních folátových receptorů, včetně FR β , FR γ a FR δ , které jsou kódovány FOLR2, FOLR3 a FOLR4.^{1, 2} FR α , FR β a FR δ jsou proteiny buněčné membrány kotvené v glykosylfosfatidylinositolu (GPI), zatímco FR γ oblast kotvy v GPI postrádá a jde o rozpustný protein detekovaný v hematopoetických buňkách.^{1, 2} FR δ je detekován v plazmatických membránách gamet a podílí se na oplodnění.^{1, 2} Mezi folátovými receptory je FR α nejčastěji studovanou izoformou.¹⁻⁵

FR α má vysokou afinitu k redukovaným folátům (např. 5-metyltetrahydrofolátu, tetrahydrofolátu) a kyseliny listové.¹⁻³ Folát (známý také jako vitamin B9) je nezbytný kofaktor pro reakce přenosu jednoho uhlíku, který je nutný při syntéze nukleových kyselin, buněčném metabolismu, metylaci a buněčné proliferaci.¹⁻⁴ Vzhledem k hydrofilní povaze folátu při fyziologickém pH musí být aktivně transportován do buňky.^{4, 5} Na buněčném vychytávání se podílejí tři různé přenašeče: redukovaný folátový přenašeč (RFC), protonově vázaný folátový přenašeč (PCFT) a folátové receptory.^{1, 3-6} Hlavní cestou příjmu folátů je RFC, který je všudypřítomně exprimován v normálních buňkách a napomáhá příjmu folátů potravou.^{4, 5} PCFT využívá transmembránový protonový gradient ke zprostředkování vychytávání folátů.^{4, 5} Folátové receptory, včetně FR α , transportují folát do buňky prostřednictvím endocytózy závislé na lipidových raftech.^{4, 5} Za zmínku stojí, že FR α je omezen na luminální stranu polarizovaných epiteliálních buněk, a není tedy v kontaktu s cirkulujícími foláty v krvi.¹⁻⁵

V normální tkáni je exprese FR α omezena na epitelové buňky v cévním plexu, proximálních tubulech ledvin, vejcovodu, děloze, nadvarleti a slinných žlázách

a průduškových uzlinách.¹⁻³ Je také exprimován v acinárních buňkách prsu, v plicích pneumocytech typu I a II a v trofoblastech placenty.^{1, 3}

Rakovina vaječnicku a klinický význam

Rakovina vaječnicku je jedním z nejčastějších nádorových onemocnění a je hlavní příčinou úmrtí žen s gynekologickým nádorovým onemocněním.^{7, 8} Převládajícím patologickým podtypem je epiteliální ovariální karcinom (EOC), jenž tvoří přibližně 90–95 % karcinomů vaječnicků.^{9, 10} Za zmínku stojí, že primární karcinom vejcovodu a peritoneální karcinom jsou často zahrnuty do klasifikace karcinomu vaječnicku a jsou považovány za součást EOC se stejnou léčbou a výsledky.⁹ V léčbě pacientek s EOC hraje hlavní roli chemoterapie, přičemž základem léčby první linie je léčba na bázi platiny.^{7, 10} Přibližně u 70–80 % pacientek s pokročilým EOC se však během léčby nebo po léčbě v režimech obsahujících platinu očekává relaps.^{7, 10, 11} Pacientky, u nichž dojde k recidivě onemocnění do 6 měsíců po léčbě na bázi platiny, se označují jako platina rezistentní a tyto pacientky mají zpravidla velmi špatné výsledky a potřebují novou možnost léčby.^{8, 10} Jako nový cíl pro nové léčebné postupy se jeví detekce FR α u pacientek s EOC, zejména u pacientek s rezistencí na platinu.

PRINCIP POSTUPU

Test VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay využívá myši monoklonální primární protilátku, která se váže na protein FOLR1 v řezech tkání fixovaných formalínem, zalitých parafínem. Specifickou protilátku je možné zobrazit pomocí detekční soupravy OptiView DAB IHC Detection Kit (kat. č. 760-700 / 06396500001). Další informace naleznete v příbalové informaci k detekční soupravě OptiView DAB IHC Detection Kit. Výsledky jsou interpretovány pomocí světelného mikroskopu.

Klinické případy musejí být hodnoceny s vhodnými kontrolními tkáněmi. Kromě barvení pomocí protilátky testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay by mělo být provedeno obarvení druhého sklíčka s kontrolou VENTANA Negative Control (Monoclonal) (kat. č. 760-2014 / 05266670001). Aby bylo toto sklíčko považováno za přijatelné, musí být negativní na specifické barvení.

DODÁVANÝ MATERIÁL

Test VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay obsahuje dostatečné množství reagentie pro 50 testů.

Jeden 5mL dávkovač testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay obsahuje přibližně 28 μ g myši monoklonální protilátky (FOLR1-2.1).

Protílátka je naředěna v 0.05M Tris-HCl s obsahem nosičového proteinu a 0.10 % konzervačního prostředku ProClin 300.

Konzentrace specifické protilátky je přibližně 5.6 μ g/mL.

Pro tento produkt není známa žádná nespecifická reaktivita protilátky.

Test VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay je myši monoklonální protilátka produkovaná jako supernatant buněčné kultury.

Podrobné popisy následujících položek naleznete v příslušném metodickém listu v detekční soupravě VENTANA (příbalová informace): Princip postupu, Materiál a metody, Odběr vzorků a příprava pro analýzu, Postupy kontroly kvality, Řešení problémů, Interpretace výsledků a Omezení.

POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY

Barvicí reagentie, například detekční soupravy VENTANA a pomocné materiály, včetně sklíček pro negativní a pozitivní kontrolu tkáně, nejsou součástí dodávky.

Všechny produkty uvedené v metodickém listu nemusejí být dostupné ve všech zeměpisných oblastech. Obráťte se na místní servisní zastoupení.

Následující reagentie a materiály mohou být při barvení potřebné, nejsou však součástí dodávky:

1. Doporučená kontrolní tkáň
2. Mikroskopická sklíčka, kladně nabitá
3. Negative Control (Monoclonal) (kat. č. 760-2014 / 05266670001)
4. Sušicí pec schopná udržovat teplotu 60 °C \pm 5 °C
5. Štítky s čárovým kódem
6. Xylen (v histologické kvalitě)
7. Etanol nebo reagenční alkohol (v histologické kvalitě)
 - 100% roztok: Neředěný etanol nebo reagenční alkohol
 - 95% roztok: Smíste 95 dílů etanolu nebo reagenčního alkoholu s 5 díly deionizované vody

- 80% roztok: Smíste 80 dílů etanolu nebo reagenčního alkoholu s 20 díly deionizované vody
- 8. Deionizovaná nebo destilovaná voda
- 9. OptiView DAB IHC Detection Kit (kat. č. 760-700 / 06396500001)
- 10. EZ Prep Concentrate (10X) (kat. č. 950-102 / 05279771001)
- 11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat. č. 950-300 / 05353955001)
- 12. ULTRA LCS (Predilute) (kat. č. 650-210 / 05424534001)
- 13. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (kat. č. 950-224 / 05424569001)
- 14. Kontrastní barvivo Hematoxylin II (kat. č. 790-2208 / 05277965001)
- 15. Bluing Reagent (kat. č. 760-2037 / 05266769001)
- 16. Obecné laboratorní vybavení
- 17. Přístroj BenchMark ULTRA
- 18. Trvalé fixační médium (Permount Fisher, kat. č. SP15-500 nebo ekvivalent)
- 19. Krycí sklo (dostatečně k pokrytí tkáně, například VWR, kat. č. 48393-060)
- 20. Automatizovaný podavač krycích sklíček (například Tissue-Tek SCA Automated Coverslipper)
- 21. Světelný mikroskop
- 22. Savé utěrky

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Po přijetí a mezi použitím uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Nezmrazujte.

Aby byla zajištěna správná funkčnost reagentie a stabilita protilátky, musí se dávkovač po každém použití uzavřít víčkem a okamžitě umístit ve svislé poloze do chladničky.

Každý dávkovač protilátky má stanovenou dobu expirace. Při řádném skladování zůstane reagentie stabilní do data uvedeného na štítku. Po uplynutí data expirace reagentie nepoužívejte.

PŘÍPRAVA VZORKŮ

Pro použití této primární protilátky s detekčními soupravami VENTANA a přístroji BenchMark ULTRA jsou vhodné tkáně zpracované běžným způsobem, fixované formalínem, zalité parafínem (FFPE). Doporučeným fixativem na tkáně je 10% neutrální pufrovaný formalín (NBF) na dobu 6 až 72 hodin.¹²

Alkohol – formalín – kyselina octová (AFA), 95% alkohol a fixativa Prefer vykazovaly ztrátu specifické exprese proteinu FOLR1 při všech testovaných dobách fixace (1 až 72 hodin) a pro použití v tomto testu se nedoporučují. Použití fixativ Zinc Formalin nebo Z-5 se nedoporučuje z důvodu variability v procentuálním barvení nádorových buněk.

Je třeba připravit řezy tenké zhruba 4 µm a fixovat je na kladně nabitá podložní sklíčka. Sklíčka je třeba obarvit neprodleně, neboť antigenost připravených tkáňových řezů se může postupem času snižovat. Pro více informací požádejte místního zástupce společnosti Roche o kopii dokumentu „Recommended Slide Storage and Handling“ (Doporučené postupy pro skladování sklíček a manipulace s nimi).

Vyšetření neznámých vzorků doporučujeme provádět souběžně s pozitivními a negativními kontrolními vzorky.


VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Určeno k diagnostickému použití in vitro (IVD).
2. Pouze k odbornému použití.
3. **UPOZORNĚNÍ:** Federální zákony USA omezují prodej tohoto prostředku pouze lékařům nebo na jejich objednávku. (Rx Only)
4. Nepoužívejte nad rámec specifikovaného počtu testů.
5. Rostok ProClin 300 se používá v této reagentii jako konzervační prostředek. Je klasifikován jako dráždivý a při styku s kůží může způsobit senzibilizaci. Při manipulaci dodržujte příslušná bezpečnostní opatření. Zamezte kontaktu reagentii s očima, kůží a sliznicemi. Používejte ochranný oděv a rukavice.
6. Kladně nabitá sklíčka mohou být citlivá na zátěž prostředí, což má za následek nevhodné zbarvení. Požádejte zástupce společnosti Roche o další informace o tom, jak používat tyto typy sklíček.
7. S materiálem lidského nebo živočišného původu je třeba nakládat jako s biologicky nebezpečným materiálem a likvidovat jej v souladu s platnými bezpečnostními opatřeními. V případě expozice je potřeba se řídit zdravotnickými směnicemi odpovědných orgánů.^{13, 14}
8. Zabraňte kontaktu reagentii s očima a sliznicemi. Jestliže se reagentie dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte zasažené oblasti vydatným množstvím vody.

9. Zabraňte mikrobiální kontaminaci reagentii, mohla by způsobit nepřesnost výsledků.
10. Další informace o používání tohoto prostředku obsahuje uživatelská příručka přístroje BenchMark ULTRA a návody k použití všech nezbytných součástí, které naleznete na internetových stránkách navifyportal.roche.com.
11. Doporučené metody likvidace jsou uvedeny v celostátních a/nebo místních předpisech.
12. Označení produktu bezpečnostními štítky se řídí hlavně pokyny GHS EU. Pro profesionální uživatele je na vyžádání k dispozici bezpečnostní list.
13. Pro nahlášení podezřelých závažných incidentů týkajících se tohoto prostředku se obraťte na místního zástupce společnosti Roche a kompetentní orgány členského státu nebo země, ve které uživatel provozuje činnost.

Tento produkt obsahuje součásti klasifikované následovně podle směrnice (ES) č. 1272/2008:

Tab. 1. Informace o rizicích.

Riziko	Kód	Věta
	H317	Může vyvolat alergickou kožní reakci.
	H412	Škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobými účinky.
	P261	Zamezte vdechování mlhy a par.
	P273	Zabraňte uvolnění do životního prostředí.
	P280	Používejte ochranné rukavice.
	P333 + P313	Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
	P362 + P364	Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte.
	P501	Odstraňte obsah/obal předáním do schváleného zařízení k likvidaci odpadu.

Tento produkt obsahuje látku s č. CAS 55965-84-9, reakční směs: 5-chlor-2-methyl-2H-isothiazolin-3-onu a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu (3 : 1).

POSTUP BARVENÍ

Primární protilátky VENTANA byly vyvinuty pro použití na přístrojích BenchMark ULTRA společně s detekčními soupravami a příslušenstvím VENTANA. Doporučené barvicí protokoly naleznete v Tab. 2.

Tato protilátka byla optimalizována pro specifické inkubační doby, uživatel však musí výsledky získané pomocí této reagentie validovat.

Parametry automatických procesů lze zobrazit, vytisknout a upravovat podle postupů uvedených v uživatelské příručce přístroje. Další podrobné informace o postupech imunohistochemického barvení naleznete v metodickém listu k příslušné detekční soupravě VENTANA.

Další podrobnosti o správném používání tohoto prostředku najdete v metodickém listu ke vkladacímu dávkovači (P/N 741-5076).

Tab. 2. Doporučený barvicí protokol pro test VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) Rx/Dx Assay s detekční soupravou OptiView DAB IHC Detection Kit na přístrojích BenchMark ULTRA.

Typ postupu	Metoda
	ULTRA FOLR1(FOLR1-2.1)Rx/Dx Assay
Sušení*	Volitelné**
Odparafinování	4 minuty (standardně), 72 °C
Cell Conditioning (odmaskování antigenů)	ULTRA CC1, 64 minut, 100 °C
Preprimární inhibitor peroxidázy	4 minuty, 36 °C
Protilátka (primární)*	FOLR1-2.1 Rx/Dx Assay Ab (32 minut, 36 °C)

Typ postupu	Metoda
	ULTRA FOLR1(FOLR1-2.1)Rx Dx Assay
	nebo Negative Control Ab (32 minut, 36 °C)
OptiView HQ Linker	8 minut (standardně), 36 °C
OptiView HRP Multimer	8 minut (standardně), 36 °C
Kontrastní barvivo*	Hematoxylin II, 4 minuty, 36 °C
Po kontrastním barvení*	Bluing, 4 minuty, 36 °C

* Možnost volby podle zákazníka

** Sušení je volitelné. Může být provedeno v přístroji nebo offline.

NEGATIVNÍ REAGENČNÍ KONTROLA

Kromě barvení testem VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) Rx Dx Assay by mělo být provedeno barvení druhého sklíčka s odpovídající reagentii negativní kontroly.

POZITIVNÍ KONTROLNÍ TKÁŇ

Kontrolní tkáň musí být začleněna s každým cyklem na přístroji. To pomáhá identifikovat případná selhání při nanášení reagentii na sklíčka v barvicím cyklu. Kontrolní tkáň může obsahovat pozitivně i negativně zbarvené prvky a sloužit pro pozitivní i negativní kontrolu. Viz obrázek 2. Kontrolní tkáni by měl být čerstvý vzorek z pitvy, biopsie nebo operace, připravený a fixovaný stejným způsobem jako testované fezy.

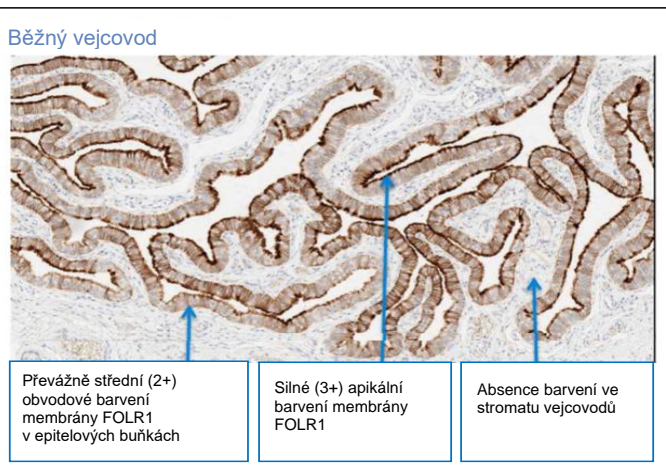
Známé pozitivní kontroly tkání je nutno používat pouze ke sledování správné funkce reagentii a přístrojů, nikoli jako pomůcku ke stanovení konkrétní diagnózy testovaných vzorků. Pokud pozitivní kontroly tkání pozitivní zbarvení nevykazují, je třeba považovat výsledky testovaných vzorků za neplatné.

Příkladem tkáně pro pozitivní a negativní kontrolu je u této protilátky běžný vejcovod. Expres FOLR1 je z velké části omezena na lumenální povrch epitelových buněk běžného vejcovodu. Barvení FOLR1 v běžné tkáni vejcovodu vykazuje obvodové barvení membrány a absenci barvení ve stromatu. Test VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) Rx Dx Assay vyžaduje použití případu středního obvodového barvení, který se použije jako pozitivní kontrola cyklu.

Tab. 3. Hodnocení pozitivní a negativní kontrolní tkáně pro běžný vejcovod.

Stav	Vzor barvení
Přijatelné	Převážně střední obvodové* barvení membrány FOLR1 v epitelu běžného vejcovodu a absence specifického barvení ve stromatu běžného vejcovodu.
Nepřijatelné	Absence barvení nebo převážně slabé či silné obvodové* barvení membrány FOLR1 v epitelu běžného vejcovodu a/nebo nespecifické barvení FOLR1 na pozadí, které ovlivňuje interpretaci.

Poznámka: Při hodnocení přijatelnosti barvení FOLR1 v běžném vejcovodu se nesmí brát v úvahu apikální barvení první vrstvy lumenálních buněk.



Obr. 2. Přijatelné barvení kontrolní běžné tkáně vejcovodu

INTERPRETACE BARVENÍ / OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

Buněčný vzor barvení u testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) Rx Dx Assay je ve tkáni EOC membránový a cytoplazmatický s různým rozsahem intenzity barvení; pro stanovení stavu FOLR1 se hodnotí pouze membránové zbarvení. Vzor barvení membrány může být apikální nebo obvodový (částečný nebo úplný). Procento nádorových buněk zbarvených v každé intenzitě (negativní, slabé, střední, silné) bude hodnoceno ze vzorků obsahujících minimálně přibližně 100 životaschopných nádorových buněk. Ke stanovení stavu FOLR1 pomocí metody hodnocení přispěje pouze střední a silná intenzita barvení. Případy tkáně EOC jsou považovány za pozitivní na stav FOLR1, pokud $\geq 75\%$ životaschopných nádorových buněk (TC) vykazují středně silné a/nebo silné barvení membrány. Procento barvení FOLR1 v každé intenzitě určuje vyškolený patolog. Tkáň EOC musí být hodnocena podle hodnotícího algoritmu testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) Rx Dx Assay, který uvádí tabulka 4. Další pokyny a reprezentativní obrázky jsou uvedeny v příručce pro interpretaci (P/N 1015222EN). Chcete-li získat přístup k příslušné příručce pro interpretaci (P/N 1015222EN), obraťte se na místní servisní zastoupení nebo navštivte webovou stránku navifyportal.roche.com.

Tab. 4. Hodnotící algoritmus testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) Rx Dx Assay.

Stav FOLR1	Popis zbarvení
Pozitivní*	$\geq 75\%$ životaschopných nádorových buněk se středně silným (2+) a/nebo silným (3+) barvením membrány
Negativní*	$< 75\%$ životaschopných nádorových buněk se středně silným (2+) a/nebo silným (3+) barvením membrány
Nehodnotitelné	Artefakty znemožňující interpretaci.

* Opětovné čtení dalšími patologi pro hodnocení FOLR1

Pro snížení variability výsledků FOLR1 u případů s %TC blízko prahové hodnotě 75 % (65 % až 85 %) se doporučuje opětovné čtení sklíčka druhým patologem. Výsledek případu s %TC mezi 65–85 % podle jednoho patologa by měl být posouzen jedním nebo dvěma nezávislými patologi. Konečný výsledek „pozitivní na FOLR1“ u patientského vzorku by měl být získán buď většinovým pravidlem, nebo na základě konsenzu mezi patologi

SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Tato protilátka vykazuje následující specifická omezení:

- Test VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) Rx Dx Assay byl optimalizován na přístroji BenchMark ULTRA v kombinaci s detekční soupravou OptiView DAB IHC Detection Kit při době inkubace primární protilátky 32 minut. Jiné než specifikované doby a teploty inkubace mohou způsobit chybné výsledky.
- Jakákoli odchylka od doporučených postupů testu může výsledky testu zneplatnit. Uživatelé, kteří se odchýlí od doporučených postupů testu, uvedených v tabulce 2, jsou zodpovědní za validaci všech úprav.

- Imunohistochemie je vícestupňový diagnostický proces, který vyžaduje specializované školení ve výběru vhodných reagentů, výběru tkání, fixaci, zpracování, v přípravě imunohistochemického sklíčka a v interpretaci výsledků barvení.
- Barvení tkáně závisí na zacházení s tkání a na jejím zpracování před barvením. Nesprávná fixace, zmrazení, rozmrazení, promytí, sušení, zahřívání, řezání nebo kontaminace jinými tkáněmi či tekutinami mohou způsobit artefakty, zachycení protilátek nebo nesprávné výsledky. Nekonzistentní výsledky mohou být důsledkem odchylek metod fixace a zalévání nebo z inherentních nepravidelností v tkáni.
- Pacientská tkáň by měla být obarvena do 45 dnů od narežání z tkáňového bloku. U řezů, které byly skladovány při pokojové teplotě (15–25 °C) nebo při teplotě 5 °C ± 3 °C déle než 45 dní, může dojít ke ztrátě účinnosti barvení.

Sklíčka by měla být vysušena a uchovávána při teplotě místnosti. Jelikož je známo, že faktory prostředí ovlivňují stabilitu antigenu na sklíčkách s připravenými řezy, měly by laboratoře při skladování delším než 45 dní stabilitu řezů na sklíčkách ve svém vlastním prostředí validovat.

Všechny testy nemusejí být registrovány na každém přístroji. Pro více informací kontaktujte místního zástupce společnosti Roche.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

ANALYTICKÁ VÝKONNOST

Níže jsou uvedeny výsledky provedených testů barvení týkajících se senzitivity, specifity a preciznosti.

U všech studií (s výjimkou analytické specifity) byl stav FOLR1 hodnocen podle hodnotícího algoritmu testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay uvedeného v Tab. 4.

Senzitivita a specifita

Analytická senzitivita byla hodnocena charakterizováním komerčně získaných tkáňových vzorků. V kohortě 218 unikátních případů tkáně resekátu EOC prokázalo pomocí testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay 31.2 % (68/218) pozitivní IHC stav a 68.8 % (150/218) negativní IHC stav.

Analytická specifita byla stanovena barvením běžných a neoplastických tkání pomocí testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay. Pro posouzení přítomnosti nebo nepřítomnosti signálu FOLR1 v různých typech tkání se případ a/nebo jádro považovalo za pozitivní, pokud vykazovaly jakékoli barvení nádorových buněk, ať už membránové a/nebo cytoplazmatické, s jakoukoli intenzitou barvení (slabé, střední, silné). Výsledky barvení jsou uvedeny v Tab. 5 a Tab. 6.

Tab. 5. Specifita testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay byla stanovena testováním jiných než neoplastických tkání FFPE.

Tkáň	Počet pozitivních případů / celkový počet případů	Tkáň	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Velký mozek	0/4	Žaludek	0/4
Mozeček	0/4	Karcinom tenkého střeva	0/4
Nadledvinka	1/4	Tlusté střevo	0/4
Vaječník	0/9	Játra	0/4
Slinivka	0/4	Slinná žláza	0/4
Příštitné tělísko	0/3	Ledvina	4/4
Hypofýza	0/3	Prostata	0/4
Varle	0/4	Endometrium	0/4
Štítná žláza	0/4	Děložní čípek	0/4
Prs	0/4	Kosterní sval	0/3

Tkáň	Počet pozitivních případů / celkový počet případů	Tkáň	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Slezina	0/3	Kůže	0/4
Mandle	0/3	Periferní (nerv)	0/3
Brzlík	0/3	Mezotel	0/3
Myeloidní tkáň (kost)	0/3	Sítnice	0/3
Plíce	0/4	Larynx	1/3
Srdce	0/3	Močový měchýř	0/3
Jícen	0/4	Rektální tkáň	0/1

Tab. 6. Specifita testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay byla stanovena testováním neoplastických tkání FFPE.

Patologie	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Meningiom, fibroblast (velký mozek)	0/1
Astrocytom (velký mozek)	0/1
Meningiom, fibroblast (mozeček)	0/1
Maligní meningiom (mozeček)	0/1
Adenom, kortikální (nadledvinka)	0/1
Adrenokortikální karcinom (nadledvinka)	0/1
Adenokarcinom (slinivka)	0/1
Seminom (varle)	0/2
Adenom (štítná žláza)	0/2
Folikulární karcinom (štítná žláza)	0/1
Folikulární papilární adenokarcinom (štítná žláza)	0/1
Fibroadenom (prs)	0/2
Invazivní duktální karcinom (prs)	0/3
Osteosarkom (kost)	0/1
Chondrosarkom (kost)	0/1
Karcinom ze skvamózních buněk (plíce)	0/2
Adenokarcinom (plíce)	0/1
Malobuněčný karcinom (plíce)	0/1
Metastatický karcinom z gastrointestinálního traktu (plíce)	0/1
Karcinom ze skvamózních buněk (jícen)	0/3
Adenokarcinom (žaludek)	0/3
Adenom (tenké střevo)	0/1

Patologie	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Adenokarcinom (tenké střevo)	0/1
Adenom (tlusté střevo)	0/1
Adenokarcinom (tlusté střevo)	0/3
Hepatocelulární karcinom (játra)	0/4
Metastatický adenokarcinom tlustého střeva (játra)	0/1
Pleomorfni adenom (slinná žláza)	0/1
Adenoidně cystický karcinom (slinná žláza)	0/1
Adenokarcinom (ústní dutina)	0/1
Karcinom ze skvamózních buněk (ústní dutina)	0/1
Nazofaryngeální karcinom, NPC (nosohltan)	0/1
Melanom (nosní dutina)	0/1
Karcinom z jasných buněk (ledvina)	1/2
Adenokarcinom (prostata)	0/2
Adenokarcinom (endometrium)	0/2
Karcinom ze skvamózních buněk (čipek)	0/2
Karcinom ze skvamózních buněk (kůže)	0/1
Karcinom z přechodových buněk (močový měchýř)	0/2
Adenokarcinom (konečník)	0/3
Reaktivní (lymfatická uzlina)	0/1
Hodgkinův lymfom (lymfatická uzlina)	0/1
Non-Hodgkinův B-buněčný lymfom (lymfatická uzlina)	0/1
Anaplastický velkobuněčný lymfom (lymfatická uzlina)	0/2
Invazivní ductální metastatický karcinom prsu (lymfatická uzlina)	0/1
Metastatický karcinom jícnu ze skvamózních buněk (lymfatická uzlina)	0/1
Nádor z granulózních buněk (vaječník)	0/1
Adenokarcinom (vaječník)	0/1
Endometrioidní adenokarcinom (vaječník)	9/16
Metastatické karcinomy buněk typu pečetního prstenu v tlustém střevě (vaječník)	0/1
Serózní adenokarcinom (vaječník)	39/42
Karcinom z jasných buněk (vaječník)	5/8
Mucinózní adenokarcinom (vaječník)	3/10

preciznosti hodnotitele (patologa) a studie preciznosti mezi laboratořemi a mezi hodnotiteli (reprodukovatelnosti).

Mezilehlá preciznost

Do studie mezilehlé preciznosti bylo zařazeno dvacet čtyři unikátních případů tkáně EOC (12 pozitivních na FOLR1 a 12 negativních na FOLR1). Design studie pro hodnocení preciznosti barvení u EOC obarveného pomocí testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay zahrnoval:

- Tři šarže protilátky FOLR1
- Tři přístroje BenchMark ULTRA
- Tři soupravy OptiView DAB IHC Detection Kit
- Během tří na sebe nenavazujících dnů
- Jeden patolog, 2 replikáty

Preciznost

Preciznost testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay na přístroji BenchMark ULTRA byla hodnocena ve třech studiích preciznosti: Studie mezilehlé preciznosti, studie

Všechna sklíčka byla zaslepena a randomizována a poté hodnocena s použitím hodnoticího algoritmu testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay pro tkáň EOC. Každý případ měl 18 výsledků a na základě 18 výsledků byl přiřazen majoritní výsledek pro FOLR1. Pro každý případ byl vypočítán medián %TC a rozmezí %TC u 18 výsledků. Dále bylo vypočteno procento pozitivních výsledků (%TC \geq 75 %, „způsobilé“ s ohledem na léčbu FOLR1). Výsledky jsou shrnuty v níže uvedených tabulkách.

Tab. 7. Medián a rozmezí %TC pro případy ve studii mezilehlé preciznosti

ID vzorku	Majoritní výsledek FOLR1	Medián %TC	Rozsah %TC (min až max)	Procento pozitivních výsledků	Procentuální shoda s majoritním výsledkem FOLR1
1	Negativní	10.0	5 až 10	0 (0/18)	100 (18/18)
2	Negativní	20.0	20 až 20	0 (0/18)	100 (18/18)
3	Negativní	25.0	20 až 30	0 (0/18)	100 (18/18)
4	Negativní	30.0	25 až 35	0 (0/18)	100 (18/18)
5	Negativní	30.0	25 až 30	0 (0/18)	100 (18/18)
6	Negativní	35.0	30 až 40	0 (0/18)	100 (18/18)
7	Negativní	45.0	45 až 50	0 (0/18)	100 (18/18)
8	Negativní	45.0	40 až 45	0 (0/18)	100 (18/18)
9	Negativní	50.0	50 až 55	0 (0/18)	100 (18/18)
10	Negativní	55.0	55 až 60	0 (0/18)	100 (18/18)
11	Negativní	65.0	65 až 65	0 (0/18)	100 (18/18)
12	Negativní	70.0	60 až 75	11.1 (2/18)	88.9 (16/18)
13	Pozitivní	75.0	70 až 75	55.6 (10/18)	55.6 (10/18)
14	Pozitivní	80.0	75 až 80	100 (18/18)	100 (18/18)
15	Pozitivní	90.0	85 až 90	100 (18/18)	100 (18/18)
16	Pozitivní	90.0	90 až 90	100 (18/18)	100 (18/18)
17	Pozitivní	90.0	85 až 90	100 (18/18)	100 (18/18)
18	Pozitivní	90.0	90 až 90	100 (18/18)	100 (18/18)
19	Pozitivní	90.0	85 až 90	100 (18/18)	100 (18/18)
20	Pozitivní	90.0	90 až 90	100 (18/18)	100 (18/18)
21	Pozitivní	90.0	90 až 95	100 (18/18)	100 (18/18)
22	Pozitivní	90.0	85 až 90	100 (18/18)	100 (18/18)
23	Pozitivní	95.0	95 až 95	100 (18/18)	100 (18/18)
24	Pozitivní	98.0	97 až 98	100 (18/18)	100 (18/18)

Byla vyhodnocena variabilita hodnot %TC pro 24 případů a vypočteny následující složky preciznosti: opakovatelnost (u jednoho patologa), mezi dny, mezi soupravami protilátek, mezi detekčními soupravami, mezi přístroji a celková. Výsledky jsou shrnuty v níže uvedené tabulce.

Tab. 8. Složky preciznosti pro případy ve studii mezilehlé preciznosti

ID vzorku	Majorita	Počet výsledků	Medián %TC	Rozsah %TC (min až max)	Směrodatná odchylka					
					Opakovatelnost (v rámci cyklu)	Mezi dny	Mezi šaržemi protilátky	Mezi detekčními soupravami	Mezi přístroji	Celkem
1	Negativní	18	10	5 až 10	0	2.89	0	0	0	2.89
2	Negativní	18	20	20 až 20	0	0	0	0	0	0
3	Negativní	18	25	20 až 30	0	2.89	5.00	0	0	5.77
4	Negativní	18	30	25 až 35	0	2.89	0	0	0	2.89
5	Negativní	18	30	25 až 30	0	2.89	0	0	0	2.89
6	Negativní	18	35	30 až 40	1.18	2.36	0	0	4.56	5.27
7	Negativní	18	45	45 až 50	0	2.89	0	0	0	2.89
8	Negativní	18	45	40 až 45	0	2.89	0	0	0	2.89
9	Negativní	18	50	50 až 55	0	0	2.89	2.89	2.89	5.00
10	Negativní	18	55	55 až 60	0	0	2.89	0	0	2.89
11	Negativní	18	65	65 až 65	0	0	0	0	0	0
12	Negativní	18	70	60 až 75	0	2.89	0	4.08	0	5.00
13	Pozitivní	18	75	70 až 75	0	2.89	0	0	0	2.89
14	Pozitivní	18	80	75 až 80	0	2.89	0	0	0	2.89
15	Pozitivní	18	90	85 až 90	0	0	0	0	2.89	2.89
16	Pozitivní	18	90	90 až 90	0	0	0	0	0	0
17	Pozitivní	18	90	85 až 90	0	0	2.89	0	0	2.89
18	Pozitivní	18	90	90 až 90	0	0	0	0	0	0
19	Pozitivní	18	90	85 až 90	0	2.89	0	0	0	2.89
20	Pozitivní	18	90	90 až 90	0	0	0	0	0	0
21	Pozitivní	18	90	90 až 95	0	0	2.89	0	2.89	4.08
22	Pozitivní	18	90	85 až 90	0	0	0	2.89	0	2.89
23	Pozitivní	18	95	95 až 95	0	0	0	0	0	0
24	Pozitivní	18	98	97 až 98	0	0.58	0	0	0	0.58

Kromě toho byla provedena kvalitativní analýza různých složek. Výsledky jsou shrnuty v níže uvedené tabulce.

Tab. 9. Mezilehlá preciznost testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay u vzorků EOC.

Opakovatelnost/ Preciznost	Shoda			
	Typ	n/N	%	95% CI
Mezi šaržemi protilátky	PPA	66/66	100.0	(94.5, 100.0)
	NPA	74/78	94.9	(90.5, 100.0)
	OPA	140/144	97.2	(94.4, 100.0)
Mezi přístroji (BenchMark ULTRA)	PPA	66/66	100.0	(94.5, 100.0)
	NPA	76/78	97.4	(95.2, 100.0)
	OPA	142/144	98.6	(97.2, 100.0)
Mezi detekčními soupravami	PPA	72/72	100.0	(94.9, 100.0)
	NPA	72/72	100.0	(94.9, 100.0)
	OPA	144/144	100.0	(97.4, 100.0)
Mezi dny	PPA	66/66	100.0	(94.5, 100.0)
	NPA	76/78	97.4	(95.2, 100.0)
	OPA	142/144	98.6	(97.2, 100.0)
V rámci cyklu	PPA	108/108	100.0	(96.6, 100.0)
	NPA	108/108	100.0	(96.6, 100.0)
	OPA	216/216	100.0	(98.3, 100.0)

Poznámka: Pozitivní procentuální shoda (PPA), negativní procentuální shoda (NPA), celková procentuální shoda (OPA).

Studie preciznosti hodnotitele

Ve studii preciznosti hodnotitele pro test VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay byly hodnoceny složky preciznosti u jednoho hodnotitele a mezi hodnotiteli pro čtení tkáně EOC. Studie zahrnovala 100 unikátních vzorků EOC (50 pozitivních na FOLR1 a 50 negativních na FOLR1), které byly obarveny pomocí testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay. Před vyhodnocením stavu FOLR1 byly vzorky zaslepeny a randomizovány s použitím hodnoticího algoritmu testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay pro tkáň EOC. Studie se zúčastnili tři hodnotitelé (patologové). Hodnotitelé hodnotili všechny vzorky dvakrát s minimálně dvoutýdenním intervalem mezi jednotlivými čteními. U každého případu proběhlo 6 čtení (2 čtení od každého ze tří hodnotitelů). Byla vyhodnocena variabilita hodnot %TC pro 100 případů a vypočteny následující složky preciznosti: u jednoho hodnotitele, mezi hodnotiteli a celkem. Výsledky jsou shrnuty v níže uvedených tabulkách.

Tab. 10. Složky preciznosti pro případy ve studii preciznosti hodnotitele

Kategorie případu	Počet případů	Počet čtení	Rozsah mediánu %TC	Rozsah %TC (min až max)	Směrodatná odchylka			Procento pozitivních výsledků
					U jednoho hodnotitele	Mezi hodnotiteli	Celkem	
Negativní	32	192	0 až 20	0 až 20	3.56	3.88	5.27	0.0 (0/192)
	5	30	25 až 40	21 až 40	7.90	10.1	12.8	0.0 (0/30)
	10	60	42.5 až 62.5	41 až 64	9.19	9.81	13.4	6.7 (4/60)
Hraničně negativní	5	30	65 až 72.5	65 až 74	4.72	9.91	11.0	26.7 (8/30)
Hraničně pozitivní	20	120	75 až 85	75 až 85	3.99	6.56	7.68	90.8 (109/120)
Pozitivní	25	150	87.5 až 95	86 až 95	4.40	5.45	7.00	99.3 (149/150)
	3	18	99 až 100	96 až 100	2.52	0.37	2.55	100.0 (18/18)

Kromě toho byla provedena kvalitativní analýza různých složek preciznosti. Míry shody těchto studií jsou shrnuty v následující tabulce.

Tab. 11. U jednoho hodnotitele a mezi hodnotiteli a preciznost testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay u vzorků EOC.

Preciznost	Shoda			
	Typ	n/N	%	95% CI
U jednoho hodnotitele	APA	276/288	95.8	(93.4, 98.2)
	ANA	300/312	96.2	(93.9, 98.4)
	OPA	288/300	96.0	(93.7, 98.3)
Mezi hodnotiteli	APA	266/288	92.4	(88.2, 96.0)
	ANA	290/312	92.9	(89.3, 96.3)
	OPA	278/300	92.7	(88.7, 96.0)

Poznámka: Průměrná pozitivní shoda (APA), průměrná negativní shoda (ANA), celková procentuální shoda (OPA).

Studie reprodukovatelnosti mezi laboratořemi

Studie reprodukovatelnosti mezi laboratořemi (ILR) pro test VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay byla provedena za účelem vyhodnocení reprodukovatelnosti testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay na přístroji BenchMark ULTRA. Studie zahrnovala 28 vzorků EOC (14 pozitivních na FOLR1 a 14 negativních FOLR1), které byly zpracovány na třech přístrojích BenchMark ULTRA vždy v 5 na sebe nenavazujících dnech ve třech externích laboratořích. Každá sada 5 obarvených sklíček pro jeden vzorek a jeden den barvení byla randomizována a hodnocena celkem 6 hodnotiteli (2 hodnotitelé na pracoviště). Pro každý případ bylo na každém pracovišti získáno 10 výsledků (celkem 30 výsledků). Byla vyhodnocena výkonnost a vypočteny následující složky preciznosti: mezi hodnotiteli, mezi dny, mezi lokalitami a celkem. Výsledky jsou prezentovány v níže uvedených tabulkách.

Tab. 12. Složky preciznosti pro případy v rámci studie reprodukovatelnosti mezi laboratořemi

ID vzorku	Majoritní FOLR1	Medián %TC	Rozsah %TC (min až max)	Směrodatná odchylka (SD)				Procento pozitivních výsledků			
				Mezi hodnotiteli	Mezi dny	Mezi pracovišti	Celkem	Pracoviště A	Pracoviště B	Pracoviště C	Celková
1	Negativní	0.0	0 až 1	0.1	0.0	0.0	0.1	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/30)
2	Negativní	10.0	1 až 25	5.2	0.0	7.6	9.3	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/30)
3	Negativní	20.0	5 až 30	0.9	3.2	4.9	5.9	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/30)
4	Negativní	27.5	2 až 55	0.0	2.9	16.2	16.5	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/30)
5	Negativní	40.0	6 až 80	23.0	2.8	40.0	46.2	0.0 % (0/10)	10 % (1/10)	0.0 % (0/10)	3 % (1/30)
6	Negativní	40.0	10 až 60	5.1	0.0	8.3	9.7	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/30)
7	Negativní	42.5	15 až 70	16.8	5.9	39.3	43.2	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/30)
8	Negativní	50.0	10 až 70	24.0	2.9	55.0	60.0	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/30)
9	Negativní	50.0	25 až 75	6.8	0.0	13.2	14.9	10 % (1/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	3 % (1/30)
10	Negativní	50.0	10 až 80	15.8	0.0	40.6	43.6	10 % (1/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	3 % (1/30)
11	Negativní	50.0	0 až 70	17.6	13.2	35.6	41.9	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/30)
12	Negativní	60.0	30 až 80	5.3	10.1	0.0	11.4	20 % (2/10)	0.0 % (0/10)	30 % (3/10)	17 % (5/30)
13	Negativní	60.0	40 až 70	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/30)
14	Negativní	60.0	40 až 80	2.2	6.7	0.0	7.0	10 % (1/10)	0.0 % (0/10)	0.0 % (0/10)	3 % (1/30)
15	Pozitivní	75.0	40 až 90	24.8	2.9	46.8	53.1	50 % (5/10)	90 % (9/10)	40 % (4/10)	60 % (18/30)
16	Pozitivní	77.5	55 až 95	15.2	0.0	29.4	33.1	60 % (6/10)	100 % (10/10)	10 % (1/10)	57 % (17/30)
17	Pozitivní	80.0	70 až 95	6.9	3.4	16.2	17.9	90 % (9/10)	100 % (10/10)	90 % (9/10)	93 % (28/30)
18	Pozitivní	80.0	0 až 90	4.1	19.4	12.5	23.4	70 % (7/10)	100 % (10/10)	63 % (5/8)	79 % (22/28)
19	Pozitivní	80.0	70 až 95	6.5	2.0	13.3	14.9	90 % (9/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	97 % (29/30)
20	Pozitivní	80.0	40 až 95	17.0	3.8	29.5	34.3	60 % (6/10)	90 % (9/10)	60 % (6/10)	70 % (21/30)
21	Pozitivní	81.5	72 až 100	4.1	3.3	12.0	13.1	100 % (10/10)	100 % (10/10)	90 % (9/10)	97 % (29/30)
22	Pozitivní	90.0	80 až 100	4.0	1.5	10.8	11.6	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
23	Pozitivní	92.5	75 až 100	7.9	0.0	10.1	12.8	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
24	Pozitivní	92.5	80 až 100	1.6	2.3	7.5	8.0	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)

ID vzorku	Majoritní FOLR1	Medián %TC	Rozsah %TC (min až max)	Směrodatná odchylka (SD)			Procento pozitivních výsledků				
				Mezi hodnotiteli	Mezi dny	Mezi pracovišti	Celkem	Pracoviště A	Pracoviště B	Pracoviště C	Celková
25	Pozitivní	95.0	73 až 100	0.0	0.0	7.9	7.9	100 % (10/10)	100 % (10/10)	90 % (9/10)	97 % (29/30)
26	Pozitivní	95.0	80 až 99	5.9	2.5	0.0	6.4	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
27	Pozitivní	98.0	80 až 100	0.0	0.0	4.4	4.4	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (10/10)	100 % (30/30)
28	Pozitivní	98.5	0 až 100	3.4	23.7	0.0	23.9	100 % (10/10)	100 % (10/10)	80 % (8/10)	93 % (28/30)

Výkonnost v 28 případech u 6 hodnotitelů shrnuje také následující tabulka.

Tab. 13. Procento pozitivních a negativních výsledků FOLR1 pro různé rozsahy %TC

Rozsah %TC (hodnoty mediánu)	Počet případů	Procento pozitivních výsledků	Procento negativních výsledků
< 50	7	0.5 %	99.5 %
(50–75)	7	3.8 %	96.2 %
75	1	60.0 %	40.0 %
(75–85)	6	82.0 %	18.0 %
> 85	7	98.6 %	1.4 %

Kromě toho byla provedena kvalitativní analýza různých složek preciznosti. Výsledky analýzy jsou shrnuty v Tab. 14.

Tab. 14. Reprodukovatelnost mezi laboratořemi pro celkové míry shod pro test VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay u vzorků EOC.

Externí Reprodukovatelnost	shoda			
	Typ	n/N	%	95% CI
Celková*	PPA	371/418	88.8	(80.8, 95.9)
	NPA	411/420	97.9	(96.4, 99.3)
	OPA	782/838	93.3	(89.2, 97.0)
V rámci pracoviště	PPA	366/398	92.0	(81.6, 96.6)
	NPA	426/440	96.8	(94.8, 98.8)
	OPA	792/838	94.5	(91.4, 97.3)
U jednoho hodnotitele	PPA	368/383	96.1	(93.9, 97.9)
	NPA	443/455	97.4	(96.0, 98.7)
	OPA	811/838	96.8	(95.3, 98.1)

Poznámka: Pozitivní procentuální shoda (PPA), negativní procentuální shoda (NPA), celková procentuální shoda (OPA).

Celkové shody byly vypočteny na základě režimu na úrovni případu.

Shody v rámci pracoviště byly vypočteny na základě režimu na úrovni případu v rámci pracoviště.

Shody u jednoho hodnotitele byly vypočteny na základě režimu na úrovni případu pro jednoho hodnotitele.

Kromě toho byla provedena párová srovnání mezi pracovišti, mezi hodnotiteli a mezi dny pro stav FOLR1. Data uvedená v Tab. 15 indikují reprodukovatelnost testu ve 3 dnech, na 3 pracovištích a pro 6 hodnotitelů.

Tab. 15. Další výsledky párové externí reprodukovatelnosti testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay u vzorků EOC

Externí Reprodukovatelnost	shoda			
	Typ	n/N	%	95% CI
Mezi pracovišti	APA	6686/7566	88.4	(80.5, 94.6)
	ANA	8274/9154	90.4	(86.1, 94.9)
	OPA	7480/8360	89.5	(83.8, 94.7)
Mezi hodnotiteli	APA	340/380	89.5	(81.2, 95.7)
	ANA	418/458	91.3	(86.6, 96.0)
	OPA	379/419	90.5	(84.4, 95.9)
Mezi dny	APA	1416/1515	93.5	(90.4, 96.0)
	ANA	1730/1829	94.6	(92.7, 96.4)
	OPA	1573/1672	94.1	(91.8, 96.3)

KLINICKÁ VÝKONNOST

Studie testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay pro IMGN853-0417

U pacientek s EOC pozitivním na FRα (FOLR1) a rezistentním na platinu (n = 104) byla v jednoramenné studii zkoumána účinnost přípravku ELAHERE (mirvetuximab soravtansine) (studie IMGN853-0417, NCT04296890). Pacientky podstoupily jednu až tři předchozí linie léčby, včetně alespoň 1 linie léčby obsahující bevacizumab. Všechny pacientky dostávaly 6 mg/kg AIBW přípravku ELAHERE (mirvetuximab soravtansine) v intravenózní infuzi až do progresu onemocnění nebo nepřijatelné toxicity. Hlavními cílovými ukazateli účinnosti byly zkoušejícím hodnocená celková míra odpovědi (ORR) (primární cílový parametr) a doba trvání odpovědi (DOR; sekundární cílový parametr), hodnocené podle kritérií hodnocení odpovědi u solidních nádorů (RECIST), verze 1.1 (v1.1). Primární cílový parametr ORR byl vypočten na základě populace EE zkoušejících (n = 104).

Medián věku pacientek byl 62 let (rozmezí 35 až 85 let), většina pacientek byly bělošky (96 %) a všechny pacientky měly ECOG PS 0 (57 %) nebo 1 (43 %). Padesát jedna procent pacientek podstoupilo 3 předchozí systémové terapie. Všechny pacientky dostávaly předtím bevacizumab a 47 % pacientek dostávalo předtím inhibitor PARP. Pozitivní exprese FRα v nádoru byla definována pomocí testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay. Výsledky účinnosti pro studii IMGN853-0417 jsou shrnuty v Tab. 16.

Tab. 16. Výsledky účinnosti ve studii IMGN853-0417.

Cílový parametr	ELAHERE (mirvetuximab soravtansine) (N = 104)
Potvrzená míra celkové odpovědi ^a (95% CI)	31.7 % (22.9, 41.6)
Míra kompletní odpovědi	4.8 %
Míra částečné odpovědi	26.9 %
Doba trvání odpovědi	
Počet respondérů	33
Medián doby trvání odpovědi, měsíce (95% CI)	6.9 (5.6, 9.7)

^a Posouzení zkoušejícím.

Výsledky posouzení odezvy nezávislým radiologickým posudkem byly v souladu s hodnocením zkoušejícího.

Studie shody testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay bez SIR pro IMGN853-0417

Účinnost přípravku ELAHERE (mirvetuximab soravtansine) byla zkoumána ve studii IMGN853-0417 u pacientek s EOC rezistentním na platinu, jejichž nádory byly pozitivní na FR α (FOLR1), jak bylo stanoveno pomocí testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay s referenčním sklíčkem SIR (Stain Intensity Reference). Byla provedena překlenovací studie s cílem zjistit simulované výsledky účinnosti pro ORR a DOR hodnocené zkoušejícím podle kritérií RECIST v1.1 u pacientek s EOC rezistentním na platinu, které by mohly být zařazené do studie IMGN853-0417, kdyby byl pro zařazení použit test VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay bez sklíčka SIR namísto testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay se sklíčkem SIR.

Byla provedena analýza shody pro posouzení podobnosti stavu FOLR1 v populaci pacientek studie IMGN853-0417 definované pomocí testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay bez sklíčka SIR oproti použití se sklíčkem SIR, jako komparátoru. Mezi všemi klinickými vzorky z původní studie IMGN853-0417 s hodnotitelnými výsledky pro obě použití testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay se sklíčkem SIR i bez sklíčka SIR jsou výsledky shody uvedeny v Tab. 17.

Tab. 17. Shoda stavu FOLR1 mezi čteními bez sklíčka SIR ve srovnání se čteními se sklíčkem SIR jako referencí

shoda			
Míra	n/N	%	95% CI
PPA	87/104	83.7	(75.4, 89.5)
NPA	224/234	95.7	(92.3, 97.7)
OPA	311/338	92.0	(88.6, 94.5)

CI = interval spolehlivosti; NPA = negativní procentuální shoda; OPA = celková procentuální shoda; PPA = pozitivní procentuální shoda

Další analýzy byly provedeny za účelem simulace výsledků účinnosti pro údaje o klinických výsledcích u 10 pacientek s EOC rezistentním na platinu, jejichž nádory byly pozitivní na FOLR1 při testování pomocí testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay bez SIR s použitím přístupu vícenásobné imputace (MI). Bodové odhady ORR (medián MI je 33.0 %) a DOR (medián MI je 5.9) v souboru dat, který zahrnoval imputované výsledky účinnosti, byly srovnatelné s původními výsledky studie IMGN853-0417, což naznačuje, že lze očekávat téměř identické klinické výsledky bez ohledu na to, zda bylo či nebylo použito sklíčko SIR jako pomůcka při interpretaci stran obarvených pomocí testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay.

Studie testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay pro IMGN853-0416

Účinnost přípravku ELAHERE (mirvetuximab soravtansine) byla zkoumána ve dvouramenné studii (studie IMGN853-0416, NCT04209855) u pacientek s EOC pozitivním na FR α (FOLR1) a rezistentním na platinu (n = 453) s cílem určit účinnost a bezpečnost mirvetuximab soravtansinu (MIRV) oproti chemoterapii dle výběru zkoušejícího (IC chemo). Zařazené pacientky byly randomizovány v poměru 1 : 1 do 2 ramen léčby. Ve větvi s léčbou MIRV byly pacientky léčeny MIRV v dávce 6 mg/kg AIBW intravenózně až

do progresu onemocnění, nepřijatelné toxicity, odvolání souhlasu, úmrtí nebo do ukončení studie zadavatelem. Primárním cílovým parametrem účinnosti studie IMGN853-0416 bylo přežití bez progresu (PFS). Klíčovými sekundárními cílovými parametry byly míra objektivní odpovědi (ORR) a celkové přežití (OS).

Medián věku zařazených pacientek randomizovaných do větve s léčbou MIRV (n = 227) byl 64,0 let (rozmezí: 32 až 88 let). Většina pacientů byla bělochů (69 %) nebo Asiatů (12 %), přičemž většina z nich se rovněž hlásila k hispánské nebo latinskoamerické národnosti (78 %). Téměř polovina (47 %) pacientek podstoupila 3 předchozí linie léčby, 62 % pacientek dostalo dříve bevacizumab a 55 % pacientek dostalo dříve inhibitor poly (ADP-ribóza) polymerázy (PARP). Pozitivní exprese FR α v nádoru byla definována pomocí testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay. Výsledky účinnosti pro studii IMGN853-0416 jsou shrnuty v Tab. 18.

Tab. 18. Výsledky účinnosti ve studii IMGN853-0416.

Cílový parametr	ELAHERE (mirvetuximab soravtansine) (N = 227)	IC Chemo (N = 226)
Odhadovaná doba PFS (v měsících)		
Medián (95% CI)	5.62 (4.34, 5.95)	3.98 (2.86, 4.47)
Poměr rizik (95% CI)	0.65 (0.521, 0.808)	
Oboustranná p-hodnota, Log-rank test	< 0.0001	
Nejlepší celková odpověď^d		
Celková míra odpovědi	42.3 %	15.9 %
Míra kompletní odpovědi	5.3 %	0 %
Míra částečné odpovědi	37.0 %	15.9 %
Doba celkového přežití (v měsících)		
Medián (95% CI)	16.46 (14.46, 24.57)	12.75 (10.91, 14.36)
Poměr rizik (95% CI)	0.67 (0.504, 0.885)	
Oboustranná p-hodnota, Log-rank test	0.0046	

Studie shody testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay bez SIR pro IMGN853-0416

Účinnost přípravku ELAHERE (mirvetuximab soravtansine) byla zkoumána ve studii IMGN853-0416 u pacientek s EOC rezistentním na platinu, jejichž nádory byly pozitivní na FR α (FOLR1), jak bylo stanoveno pomocí testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay s referenčním sklíčkem SIR (Stain Intensity Reference). Byla provedena překlenovací studie s cílem zjistit simulované výsledky účinnosti pro PFS u pacientek s EOC rezistentním na platinu, které by mohly být zařazené do studie IMGN853-0416, kdyby byl pro zařazení použit test VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay bez sklíčka SIR namísto testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay se sklíčkem SIR.

Byla provedena analýza shody pro posouzení podobnosti stavu FOLR1 v populaci pacientek studie IMGN853-0416 definované pomocí testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay bez sklíčka SIR oproti použití se sklíčkem SIR, jako komparátoru. Mezi všemi klinickými vzorky z původní studie IMGN853-0416 s hodnotitelnými výsledky pro obě použití testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay se sklíčkem SIR i bez sklíčka SIR jsou výsledky shody uvedeny v Tab. 17.

Tab. 19. Shoda stavu FOLR1 mezi čteními bez sklíčka SIR ve srovnání se čteními se sklíčkem SIR jako referencí

Shoda			
Míra	n/N	%	95% CI
PPA	200/252	79.4	(73.9, 83.9)
NPA	341/359	95.0	(92.2, 96.8)

Shoda			
Míra	n/N	%	95% CI
OPA	541/611	88.5	(85.8, 90.8)

CI = interval spolehlivosti; NPA = negativní procentuální shoda; OPA = celková procentuální shoda; PPA = pozitivní procentuální shoda

Další analýzy byly provedeny za účelem simulace výsledků účinnosti pro údaje o klinických výsledcích u 9 z 18 pacientek s EOC rezistentním na platinu, jejichž nádory by byly pozitivní na FOLR1 při testování pomocí testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay bez SIR a randomizovány do ramene s léčbou MIRV s použitím metody bootstrap resampling. Bodové odhady PFS (medián je 5.5 měsíce), ORR (medián je 39.8 %) a OS (medián je 16.1 měsíce) v souboru dat, který zahrnoval imputované výsledky účinnosti, byly srovnatelné s původními výsledky studie IMGN853-0416, což naznačuje, že lze očekávat téměř identické klinické výsledky bez ohledu na to, zda bylo či nebylo použito sklíčko SIR jako pomůcka při interpretaci stran obarvených pomocí testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay.

ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ

Jestliže problém nelze přičíst kterékoli z těchto příčin nebo pokud navrhované nápravné opatření nevede k vyřešení problému, obraťte se na místní servisní zastoupení.

Tab. 20. Pokyny pro řešení problémů u testu VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay.

Problém	Pravděpodobná příčina	Navrhované opatření
Sklíčka se barví jen slabě nebo vůbec ne	Zvolen nesprávný protokol barvení	Ověřte, zda byl použit postup U FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay. Ověřte, že byla zvolena protilátka FOLR1-2.1 RxDx Assay Ab jako primární protilátka
	Poškození tkáně	Zkontrolujte, zda byla tkáň po nařezání obarvena v doporučeném časovém intervalu.
	Porucha dávkovače	Zkontrolujte, zda je sejmut uzávěr trysky.
		Ověřte, zda je dávkovač naplněn
		Zkontrolujte, zda v napouštěcí komůrce nejsou cizorodé látky nebo pevné částičky, jako např. vlákna nebo sraženina
	Viz příbalová informace ke vkládacímu dávkovači (P/N 741-5076), kterou lze nalézt na webových stránkách www.ventana.com	
Použita nesprávná metoda fixace	Dbejte, abyste používali pouze doporučené fixační látky a doby fixace.	
Nesprávná nebo chybějící velkoobjemová reagenie	Dbejte, aby byla velkoobjemová reagenie správně naplněna.	
Nadměrné zbarvení pozadí sklíček	Zvolen nesprávný protokol barvení	Ověřte, zda byl použit postup U FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay.
	Nesprávná nebo chybějící velkoobjemová reagenie	Dbejte, aby byla velkoobjemová reagenie správně naplněna.

Problém	Pravděpodobná příčina	Navrhované opatření
	Použita nesprávná metoda fixace	Dbejte, abyste používali pouze doporučené fixační látky a doby fixace.
Tkáň se oddělila od sklíčka	Použita nesprávná podložní sklíčka	Dbejte, abyste používali kladně nabitá podložní sklíčka.

LITERATURA

- Assaraf YG, Leamon CP, Reddy JA. The Folate Receptor as a Rational Therapeutic Target for Personalized Cancer Treatment. *Drug Resist Updat.* 2014;17(4-6):89-95.
- Cheung A, Bax HJ, Josephs DH, et al. Targeting Folate Receptor Alpha for Cancer Treatment. *Oncotarget.* 2016;7(32):52553-52574.
- Walters CL, Arend RC, Armstrong DK, et al. Folate and Folate Receptor Alpha Antagonists Mechanism of Action in Ovarian Cancer. *Gynecol Oncol.* 2013;131(2):493-498.
- Bergamini A, Ferrero S, Leone Roberti Maggiore U, et al. Folate Receptor Alpha Antagonists in Preclinical and Early Stage Clinical Development for the Treatment of Epithelial Ovarian Cancer. *Expert Opin Investig Drugs.* 2016;25(12):1405-1412
- Graybill WS, Coleman RL. Folate Receptor-Targeted Therapeutics for Ovarian Cancer. *Drugs of the Future.* 2016;41(2).
- Teng L, Xie J, Teng L, et al. Clinical Translation of Folate Receptor-Targeted Therapeutics. *Expert Opin Drug Deliv.* 2012;9(8):901-908.
- Itamochi H, Kigawa J. Clinical Trials and Future Potential of Targeted Therapy for Ovarian Cancer. *Int J Clin Oncol.* 2012;17(5):430-440.
- Gunderson CC, Moore KN. Mirvetuximab Soravtansine. *Falpha-Targeting Adc, Treatment of Epithelial Ovarian Cancer. Drugs of the Future.* 2016;41(9).
- Arend RC, Jackson-Fisher A, Jacobs IA, et al. Ovarian Cancer: New Strategies and Emerging Targets for the Treatment of Patients with Advanced Disease. *Cancer Biol Ther.* 2021;22(2):89-105.
- Moore KN, Vergote I, Oaknin A, et al. Forward I: A Phase Iii Study of Mirvetuximab Soravtansine Versus Chemotherapy in Platinum-Resistant Ovarian Cancer. *Future Oncol.* 2018;14(17):1669-1678.
- Lutz RJ. Targeting the Folate Receptor for the Treatment of Ovarian Cancer. *Transl Cancer Res.* 2015;4:118-126.
- Carson F, Hladik C. *Histotechnology: A Self Instructional Text*, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.

POZNÁMKA: V tomto dokumentu se jako symbol pro oddělování celého čísla a desetinných míst používá vždy tečka. Oddělovače pro tisíce se nepoužívají.

Souhrn bezpečnosti a funkčnosti naleznete zde:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Symbole

Společnost Ventana používá následující symboly a znaky nad rámec uvedený v normě ISO 15223-1 (pro USA: definici použitých symbolů naleznete na internetových stránkách elabdoc.roche.com/symbols):



Globální číslo obchodní položky



Jedinečná identifikace prostředku



Označuje subjekt dovážející zdravotnický prostředek do Evropské unie

HISTORIE REVIZÍ

Rev.	Aktualizace
A	První vydání

DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

VENTANA, BENCHMARK a OPTIVIEW jsou ochranné známky společnosti Roche.
Všechny ostatní názvy produktů a ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků.
© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

KONTAKTNÍ ÚDAJE

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim
Germany
+800 5505 6606

www.roche.com

