

受理号：JSZ1800126

体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）

产品英文（原文）名称：PD-L1 IHC 28-8 pharmDx

产品管理类别：三类

申请人名称：美国丹科北美有限公司

Dako North America, Inc.

国家药品监督管理局

医疗器械技术审评中心

目 录

基本信息.....	3
一、申请人名称.....	3
二、申请人住所.....	3
三、生产地址.....	3
产品审评摘要.....	4
一、产品概述.....	4
二、临床前研究摘要.....	6
三、临床评价摘要.....	22
四、风险分析及说明书提示.....	29
综合评价意见.....	32

基本信息

一、申请人名称

美国丹科北美有限公司 Dako North America, Inc.

二、申请人住所

6392 Via Real, Carpinteria, CA 93013 United States

三、生产地址

1170 Mark Ave. Carpinteria, CA 93013 United States

产品审评摘要

一、产品概述

(一) 产品主要组成成分

试剂盒主要组成成分见表 1。

表 1 试剂盒主要组成成分

名称	数量	描述
过氧化物酶阻断剂	1 x 34.5 mL	含有过氧化氢、去垢剂和 0.015 mol/L 叠氮化钠的缓冲溶液。
一抗：单克隆兔抗 PD-L1，克隆 28-8	1 x 19.5 mL	单克隆兔抗 PD-L1 抗体 (IgG)，溶于含有稳定蛋白和 0.015mol/L 叠氮化钠的缓冲溶液中。
阴性对照试剂	1 x 15 mL	单克隆兔质控 IgG 抗体，溶于含有稳定蛋白和 0.015mol/L 叠氮化钠的缓冲溶液中。
信号增强剂，抗兔	1 x 34.5 mL	单克隆小鼠抗兔免疫球蛋白 (二抗)，溶于含有稳定蛋白和 0.015mol/L 叠氮化钠的缓冲溶液中。
显色试剂-HRP	1 x 34.5 mL	偶联有过氧化物酶分子和多克隆山羊抗兔和小鼠免疫球蛋白二抗分子的葡聚糖，溶于含有稳定蛋白和抗菌剂的溶液。
DAB+底物缓冲液	15 x 7.2 mL	含有过氧化氢和抗菌剂的缓冲溶液。
DAB+色原	1 x 5 mL	3, 3' -二氨基联苯胺盐酸盐溶于有机溶剂中。
DAB 增强剂	1 x 34.5 mL	硫酸铜溶液。
免疫组化抗原修复缓冲液	6 x 30 mL	缓冲溶液，pH 6.1，含有去垢剂和抗菌剂。
PD-L1 检测试剂	15 张切片	每张切片含有两个经福尔马林固定石蜡包埋

盒（免疫组织化学法）质控切片	的细胞系点:PD-L1 蛋白阳性表达的 NCI-H226 和 PD-L1 蛋白阴性表达的 MCF-7。
----------------	---

（二）产品预期用途

本试剂盒用于定性检测经福尔马林固定石蜡包埋（FFPE）的非鳞状非小细胞肺癌（nsNSCLC）组织中的 PD-L1 蛋白，检出的非鳞状非小细胞肺癌患者样本中的 PD-L1 表达（ $\geq 1\%$ ）可能与使用 OPDIVO®（纳武利尤单抗，nivolumab）后的生存期延长相关。

（三）产品包装规格

50 测试/盒

（四）产品检验原理

本试剂盒包含采用 PT Link 预处理模块和组织染色机（Autostainer Link 48）完成 FFPE 样本的免疫组织化学 IHC 染色操作所需的优化试剂和染色程序。使用 PD-L1 单克隆抗体或者阴性对照试剂与样本共同孵育后，依次用宿主一抗的特异性信号增强剂和即用型显色试剂（含偶联到葡聚糖聚合物骨架上的二抗分子和辣根过氧化物酶分子）进行孵育。酶催化随后加入的色原，使之在抗原部位生成可见沉积物。通过显色增强剂改良显色反应的颜色。然后，对样本进行复染并封片。使用光学显微镜判读结果。使用质控切片监控染色过程，质控切片

含有两个经福尔马林固定、石蜡包埋的人细胞系。

二、临床前研究摘要

(一) 主要原材料

1. 主要原材料的选择

本产品的主要原材料包括：一抗、阴性对照试剂、信号增强剂、显色试剂-HRP、质控切片、牛血清白蛋白（BSA）。

信号增强剂以及显色试剂-HRP 均为申请人自制，并通过免疫组化验证。质控切片所用细胞系是从 ATCC 资源中心获得，经申请人进行培养生产，通过免疫组化验证后获得。一抗、阴性对照试剂以及牛血清白蛋白为外购方式获得。申请人选择有资质的供应商提供的原料，并结合原料的特性，通过功能性试验，确定原材料供应商。制定了各主要原材料质量标准并经检验合格。

2. 质控设置情况

本试剂盒采用 NSCLC 阳性样本进行企业内部质控（Post QC），包括 PD-L1 表达范围 1-60%的一份样本。对于生产批次和参考批次，PD-L1 表达 $<15\%$ 的阳性 NSCLC 标本必须表现出 $\leq 6\%$ 的变异性，而 PD-L1 表达 $\geq 15\%$ 的阳性 NSCLC 标本必须表现出 $\leq 10\%$ 的变异性。对于生产批次和参考批次，并且染色强度变异性 ≤ 0.5 级。

本产品于说明书中推荐了质量控制方案，并提供了由中度表达和阴性表达两个点组成的细胞系质控切片，用于监控染色过程。同时也提供了阴性对照试剂：通过使用阴性对照试剂代替抗体试剂，确保染色过程的特异性。

（二）生产工艺及反应体系研究

申请人通过对试剂主要生产工艺的研究，确定了最佳生产工艺。

申请人对反应体系中的预处理时间、抗原修复液 pH、抗原修复温度、抗原修复时间、内源性过氧化物酶阻断时间、一抗孵育温度及时间、信号增强剂孵育时间、显色试剂孵育时间、DAB 增强剂孵育时间、苏木素孵育时间等条件进行筛选和优化，通过参数测试的可行性研究，确定了最佳的反应体系。

（三）分析性能评估

本产品分析性能评估内容包括：灵敏度，免疫反应性、特异性（特异性和交叉反应）、精密度、稳健性和外部重复性。

1. 灵敏度研究：

申请人检测了 112 份病例（I-IV 期 nsNSCLC 标本），用以评估 PD-L1 的表达情况。结果显示：阳性肿瘤细胞染色范围为 0-100%，染色强度为 0-3。nsNSCLC 表达水平 $\geq 1\%$ 时，阳性率为 72%。

2. 免疫反应性研究:

在正常组织免疫反应性研究中, 申请人检测了 30 种正常组织的免疫反应性。此试剂盒可特异性检出已知表达 PD-L1 抗原的细胞类型(例如免疫细胞和上皮细胞)。在一些细胞类型中观察到胞浆染色, 但没有记录为阳性染色。

30 种正常组织的免疫反应性总结如下表 2 所示。

表 2 正常组织反应性总结

组织类型(检测数量)	阳性膜染色: 组织分量	阳性胞浆染色: 组织分量
肾上腺 (3)	3/3骨髓细胞	3/3骨髓细胞
膀胱 (3)	1/3尿路上皮	1/3平滑肌, 尿路上皮
骨髓 (3)	3/3巨核细胞	3/3巨核细胞
乳腺 (3)	0/3	0/3
小脑 (3)	0/3	0/3
大脑 (3)	0/3	0/3
子宫颈 (3)	1/3上皮细胞	1/3上皮细胞
结肠 (3)	2/3巨噬细胞	0/3
食道 (3)	0/3	0/3
肾脏 (3)	3/3肾小管上皮细胞	3/3肾小管上皮细胞
肝脏 (3)	2/3免疫细胞	2/3免疫细胞
肺脏 (3)	3/3肺泡巨噬细胞	0/3
间皮细胞 (3)	0/3	0/3
心肌 (3)	0/2*	0/2*
骨骼肌 (3)	0/2*	0/2*
外周神经 (3)	0/3	0/3
卵巢 (3)	0/3	0/3
胰腺 (3)	3/3上皮(主要是胰岛细胞)	3/3上皮(主要是胰岛细胞)
甲状旁腺 (3)	3/3上皮细胞	0/3

组织类型(检测数量)	阳性膜染色: 组织成分	阳性胞浆染色: 组织成分
脑垂体 (3)	1/3腺垂体前	1/3腺垂体前 3/3神经垂体后
前列腺 (3)	0/2*	0/2*
唾液腺 (3)	0/3	0/3
皮肤 (3)	0/3	1/3上皮细胞
小肠 (3)	0/2*	0/2*
脾脏 (3)	1/3巨噬细胞 3/3窦壁细胞	0/3
胃 (3)	0/3	0/3
睾丸 (3)	0/3	1/3 睾丸间质细胞
胸腺 (3)	3/3 骨髓上皮细胞	0/3
甲状腺 (3)	0/3	0/3
扁桃体 (3)	3/3隐窝上皮 3/3生发中心 (免疫细胞)	0/3
子宫 (3)	0/3	0/3

*观察到该组织类型的3份样本中有1份显示干燥导致的背景染色或强背景染色，无法进行评分，因此未报告该样本的结果。

在肿瘤组织免疫反应性研究中，申请人用 3 个组织芯片对 162 个样本进行了检测。结果显示，44/162 例可评估标本表达了 PD-L1。阳性肿瘤细胞表达范围为 <1%-95%，其中，大部分标本在 <1%-10%表达范围内。主要在淋巴瘤和组织中观察到阳性染色，与已知表达 PD-L1 抗原的组织类型一致。

肿瘤组织的免疫反应性总结如下表 3 所示。

表 3 肿瘤组织反应性总结

肿瘤类型	位置	PD-L1 阳性 / 总计 N=162
腺癌	阑尾	1/1
	乳腺, DCIS	0/2
	乳腺, 浸润性导管	3/7
	乳腺, 浸润性导管转移至淋巴结	1/1
	支气管肺泡癌, 肺	0/1
	宫颈, 子宫颈型	0/1
	结肠	2/5
	结肠, 转移至肝脏	1/1
	结肠, 黏液性	0/1
	食管	1/1
	胆囊	2/4
	胃肠, 转移至肺	0/1
	头和颈, 硬腭	0/1
	肺	2/5
	卵巢	0/1
	卵巢, 子宫内膜	0/1
	卵巢, 黏液性	0/1
	卵巢, 浆液性	0/1
	胰腺	1/2
	胰腺, 导管	0/3
	前列腺	2/4
	直肠	2/4
	唾液腺 / 腮腺	0/2
	小肠	0/2
	胃	1/6
	胃, 黏液性	0/1
	甲状腺, 滤泡	0/1
	甲状腺, 滤泡-乳头状	0/1
	甲状腺, 乳头状	0/3
	子宫, 透明细胞	1/1
	子宫, 子宫内膜	1/3
	肾上腺皮质癌	肾上腺
星形细胞瘤	大脑	0/3
基底细胞癌	皮肤	0/1
癌	鼻咽, NPC	0/1
脊索瘤	盆腔	0/1

肿瘤类型	位置	PD-L1 阳性 / 总计 N=162
胚胎癌	睾丸	0/1
室管膜细胞瘤	脑	0/1
胶质母细胞瘤	脑	0/1
肝母细胞瘤	肝脏	0/1
肝细胞癌	肝脏	1/5
胰岛细胞瘤	胰腺	0/1
间质瘤	结肠	0/1
	直肠	0/1
	小肠	0/1
大细胞癌	肺脏	1/1
脂肪肉瘤	腹腔, 粘液性	0/1
淋巴瘤		
间变性大细胞	淋巴结	1/1
弥漫性B细胞	淋巴结	2/4
霍奇金	淋巴结	2/2
非霍奇金	淋巴结	1/1
髓腔瘤	脑	0/1
髓母细胞瘤	脑	0/1
髓样癌	甲状腺	0/1
黑色素瘤	直肠	0/1
	鼻腔	0/1
脑膜瘤	脑	0/2
间皮瘤	腹膜	0/1
神经母细胞瘤	腹膜后腔	0/1
神经纤维瘤	软组织, 下背部	0/1
原始神经外胚层	腹膜后腔	0/1
肾细胞癌		
乳头状	肾脏	0/1
透明细胞	肾脏	0/6
肉瘤		
软骨肉瘤	骨骼	0/1
透明细胞	腹壁	0/1
骨肉瘤	骨骼	0/2
平滑肌肉瘤	软组织, 胸壁	0/1
	膀胱	0/1
脂肪肉瘤	腹腔, 粘液性	0/1
横纹肌肉瘤	软组织, 胚胎	0/1
	前列腺	0/1

肿瘤类型	位置	PD-L1 阳性 / 总计 N=162
	腹膜后腔	0/1
滑膜肉瘤	盆腔	0/1
精原细胞瘤	睾丸	0/2
印戒细胞癌	结肠印戒细胞癌转移至卵巢	0/1
	结肠	0/1
小细胞癌	肺脏	1/2
精母细胞性精原细胞瘤	睾丸	0/2
鳞状细胞癌	食管鳞状上皮细胞癌转移至淋巴结	1/1
	子宫颈	2/4
	食管	4/7
	头和颈	0/2
	肺脏	1/3
	皮肤	1/2
	子宫	1/1
胸腺瘤	纵隔	1/1
移行细胞癌	膀胱	3/6
	肾脏	0/1

3. 特异性研究:

该试剂盒中的一抗为单克隆兔抗人 PD-L1 抗体, 克隆 28-8, PD-L2 是 PD-L1 蛋白的同种型。通过对表达 PD-L1 和 PD-L2 蛋白的中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞进行 IHC 染色, 评估克隆 28-8 的同种型特异性。用于生成抗体的免疫原是包含人 PD-L1 胞外域 (Phe19-Thr239) 的纯化重组人 PD-L1。PD-L1 抗体的 IHC 染色显示与在 CHO 细胞中外源表达的 PD-L2 无交叉反应。

此试剂盒可特异性检测 FFPE 组织中的肿瘤细胞表达的 PD-L1 膜蛋白, 经 IHC 检出的细胞 PD-L1 的膜染色水平与与 FACS

(荧光激活细胞分选术) 检出的 PD-L1 水平一致, 添加 PD-L1 抗原后染色完全消除。该试剂盒无法检测 PD-L1 基因敲除肿瘤细胞中的 PD-L1 膜蛋白。

4. 精密性研究:

申请人采用三批试剂盒进行了批间检测, 采用一批试剂盒分别进行仪器间和批内、分析员间、日间、同一轮检测内。采用 Wilson Score 法计算阴性百分比一致率 (NPA)、阳性百分比一致率 (PPA) 和总体一致率 (OA), 双侧 95% 置信区间。结果显示, PD-L1 表达水平 $\geq 1\%$ 时, 仪器间和批内、分析员间、日间、同一轮检测内, 符合 nsNSCLC 验收标准。下表 4 显示了精密密度研究的一致率。

表 4 同一个场所检测的精密密度 (nsNSCLC $\geq 1\%$)

重复性	方法	一致率% (95% CI):		
		$\geq 1\%$ 表达水平	$\geq 5\%$ 表达水平	$\geq 10\%$ 表达水平
不同仪器之间	分别在三台 Autostainer Link 48 染色机上对 34 例经 IHC 检测 PD-L1 表达程度不同的 nsNSCLC 样本进行检测, 每例样本检测两次。评分前对载玻片进行设盲和随机	NPA 100 (96.9, 100) PPA 100 (95.6, 100) OA 100 (98.2, 100)	NPA 100 (96.9, 100) PPA 98.8 (93.6, 99.8) OA 99.5 (97.3, 99.9)	NPA 98.1 (93.5, 99.5) PPA 100 (96.2, 100) OA 99.0 (96.5, 99.7)

重复性	方法	一致率% (95% CI):		
		≥1%表达水平	≥5%表达水平	≥10%表达水平
	分组处理。共进行了204次独立配对比较试验。			
不同分析员之间	3名分析员对34例经IHC检测PD-L1表达程度不同的nsNSCLC样本在同一Autostainer Link 48染色机上进行检测,每例样本检测两次。评分前对载玻片进行设盲和随机分组处理。共进行了204次独立配对比较试验。	NPA 100 (96.9, 100) PPA 100 (95.6, 100) OA 100 (98.2, 100)	NPA 100 (96.9, 100) PPA 100 (95.6, 100) OA 100 (98.2, 100)	NPA 100 (96.6, 100) PPA 97.9 (92.7, 99.4) OA 99.0 (96.5, 99.7)
不同天之间	在非连续5天内,在Autostainer Link 48染色机上,对34例经IHC检测PD-L1表达程度不同的nsNSCLC样本进行检测。评分前对载玻片进行设盲和随机分组处理。共进行了170次独立配对比较试验。	NPA 100 (96.3, 100) PPA 100 (94.8, 100) OA 100 (97.8, 100)	NPA 100 (96.3, 100) PPA 100 (94.8, 100) OA 100 (97.8, 100)	NPA 100 (95.9, 100) PPA 98.8 (93.3, 99.8) OA 99.4 (96.7, 99.9)
不同批次之间	在非连续5天内,在Autostainer Link 48染色机上,对20	NPA 100 (94.3, 100) PPA 100	NPA 100 (95.4, 100) PPA 100	NPA 100 (96.4, 100) PPA 100

重复性	方法	一致率% (95% CI):		
		≥1%表达水平	≥5%表达水平	≥10%表达水平
	例经 IHC 检测 PD-L1 表达程度不同的 nsNSCLC 样本各进行 2 次重复检测。共进行了 160 次独立配对比较试验。	(96.2, 100) OA 100 (97.7, 100)	(95.4, 100) OA 100 (97.7, 100)	(93.6, 100) OA 100 (97.7, 100)
同一轮检测内	对 34 例经 IHC 检测 PD-L1 表达程度不同的 nsNSCLC 样本在 Autostainer Link 48 染色机上进行检测, 每一例样本在同一轮中重复检测 5 次。评分前对载玻片进行设盲和随机分组处理。总共进行了 167 次 (10%) 和 168 次 (1%和 5%) 独立配对比较试验。	NPA 97.8 (92.3, 99.4) PPA 98.7 (93.1, 99.8) OA 98.2 (94.9, 99.4)	NPA 98.0 (93.0, 99.4) PPA 97.1 (89.9, 99.2) OA 97.6 (94.0, 99.1)	NPA 96.5 (90.1, 98.8) PPA 96.3 (89.8, 98.7) OA 96.4 (92.4, 98.3)

5. 稳健性研究:

申请人使用一个批次试剂盒, 当 nsNSCLC 表达水平 $\geq 1\%$ 时, 对 44 例 nsNSCLC 标本进行稳健性检测。检测包括组织切片厚度、抗原修复时间、抗原修复温度、抗原修复液 pH 值。采用 Wilson Score 法计算 nsNSCLC 表达水平 $\geq 1\%$ 临界值的 NPA、PPA

和 0A，双侧 95%置信区间。结果表明，nsNSCLC 表达水平 $\geq 1\%$ 时，组织切片厚度、抗原修复时间、抗原修复温度、抗原修复液 pH 值，符合 nsNSCLC 验收标准。下表 5 显示了稳健性条件。

表 5 稳健性条件列表

检测项目	检测条件
组织切片厚度	调整组织切片厚度，证明试剂盒对 nsNSCLC 标本的检测结果具有一致性：4 μm （最佳）、3 μm 和 5 μm 。
PT Link 时间	调整 PT Link 孵育时间，证明试剂盒对 nsNSCLC 标本的检测结果具有一致性：在方案规定温度 97 $^{\circ}\text{C}$ 下，20 分钟（最佳）、18 分钟和 22 分钟。
PT Link 温度	调整 PT Link 孵育温度，证明试剂盒对 nsNSCLC 标本的检测结果具有一致性：在最佳孵育时间 20 分钟下，97 $^{\circ}\text{C}$ （最佳）、95 $^{\circ}\text{C}$ 和 99 $^{\circ}\text{C}$ 。
抗原修复液（TRS）pH 值	调整抗原修复液 pH 值，证明试剂盒对 nsNSCLC 标本的检测结果具有一致性：pH 6.1（最佳）、pH 5.9 和 pH 6.3。

6. 外部重复性：

本研究采用随机盲法设计，使用消除识别信息的非鳞状非小细胞肺癌（nsNSCLC）样本，在三个外部检测实验室进行检测以确定外部重复性。研究包括两部分，研究部分 A：3 个实验室使用同一批次试剂盒分别对 24 份 nsNSCLC 样本进行染色。各实验室由一名操作员负责染色，每个实验室重复进行 5 次染色（5 次染色在非连续 5 天进行），整个染色过程在至少 20 天完成。每个实验室由一名观察者负责读片（相同的切片读片时，读片间隔时间需有超过 14 天的清除期，以消除读片记忆）。研究部分 B：分别由 1 名观察者对 30 份 nsNSCLC 组织切片读片 3 次（相

同的切片读片时，读片间隔时间需有超过14天的清除期，以消除读片记忆）。采用 Wilson 方法计算 nsNSCLC 表达水平 $\geq 1\%$ 、 $\geq 5\%$ 和 $\geq 10\%$ 临界值时的 NPA、PPA、OA。结果见表 6。

表 6 三个外部场所检测的重复性 (nsNSCLC $\geq 1\%$)

重现性	方法	一致率% (95% CI):		
		$\geq 1\%$ 表达水平	$\geq 5\%$ 表达水平	$\geq 10\%$ 表达水平
不同场所之间 (3个场所)	在非连续5天内，对经 IHC检测PD-L1表达程度不同的24例nsNSCLC样本进行检测。 对3个场所进行场所间分析，共进行了360次独立配对比较试验。	NPA 89.6 (83.3, 93.7) PPA 87.1 (82.1, 90.9) OA 88.1 (84.3, 91.0)	NPA 88.0 (83.1, 91.6) PPA 92.6 (86.9, 95.9) OA 89.7 (86.2, 92.5)	NPA 90.8 (86.5, 93.9) PPA 94.2 (88.5, 97.2) OA 91.9 (88.7, 94.3)
同一场所内	在非连续5天内，在3个研究场所对经 IHC检测PD-L1表达程度不同的24例nsNSCLC样本进行检测。对3个场所进行场所内分析，共进行了360次独立配对比较试验。	NPA 95.3 (90.7, 97.7) PPA 96.7 (93.3, 98.4) OA 96.1 (93.6, 97.7)	NPA 96.6 (93.1, 98.3) PPA 93.6 (88.5, 96.5) OA 95.3 (92.6, 97.0)	NPA 97.7 (94.8, 99.0) PPA 92.9 (87.4, 96.1) OA 95.8 (93.2, 97.5)
不同观察者之间 (3个场所各1名观察者)	对30例经PD-L1检测试剂盒 (免疫组织化学法) 染色的PD-L1表达程度不同的nsNSCLC样本进行评分，评分由来自于三个场所的三位病理医生在非连续三天中进行。 在三个场所进行不同观察者间分析，共进行了270次独立配对比较试验。	NPA 84.0 (74.5, 90.4) PPA 92.6 (88.0, 95.5) OA 90.0 (85.8, 93.0)	NPA 94.4 (88.4, 97.4) PPA 94.4 (89.8, 97.1) OA 94.4 (91.0, 96.6)	NPA 93.3 (87.8, 96.5) PPA 88.9 (82.5, 93.2) OA 91.1 (87.1, 94.0)
同一观察者内 (3)	对30例经PD-L1检测试剂盒 (免疫组织化学法) 染色的PD-L表达程度不同的nsNSCLC样本	NPA 91.4 (83.2, 95.8) PPA 95.8	NPA 94.7 (89.0, 97.6) PPA 98.1	NPA 97.8 (93.7, 99.2) PPA 93.3

重现性	方法	一致率% (95% CI):		
		≥1%表达水平	≥5%表达水平	≥10%表达水平
个场所各1名观察者)	进行评分,评分由来自于三个场所的三位病理医生在非连续三天中进行。 在三个场所进行同一观察者内分析,共进行了270次独立配对比较试验。	(91.9, 97.8)	(94.5, 99.3)	(87.8, 96.5)
		0A 94.4 (91.0, 96.6)	0A 96.7 (93.8, 98.2)	0A 95.6 (92.4, 97.4)

7. 申请人提交了 2018 年北欧免疫组化质量控制机构 NordiQC 进行的伴随模块 C3 评估。146 间实验室参与了此次评估,本试剂盒总体通过率为 100% (5/5),在 CE IVD/FDA 批准的商用试剂盒组中,评分结果优异。

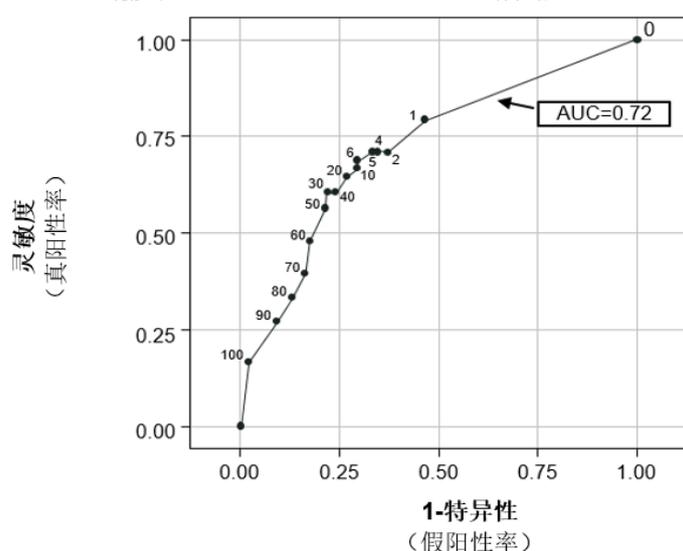
(四) 阳性判断值或参考区间研究

临界值依据 CA209057 确定。CA209057 是一项在既往铂类双重化疗失败后的晚期或转移性 nsNSCLC 成年受试者 (≥18 岁) 中对纳武利尤单抗 (nivolumab) 和多西他赛进行比较的开放性随机 III 期试验。该研究的主要目的是在所有随机受试者中比较纳武利尤单抗组与多西他赛组的总生存期 (OS)。次要目的是比较所有随机受试者的客观缓解率 (ORR) 和无进展生存期 (PFS),并评估 PD-L1 表达是否是预测 OS 和 ORR 的生物标志物。在 CA209057 研究中,使用预定义的 PD-L1 表达水平 ≥1%, ≥5% 或 ≥10% 进行预先计划的疗效分析,以总生存期为主要终点,比较了纳武利尤单抗与多西他赛对 nsNSCLC 患者的效果。

研究结果显示，纳武利尤单抗亚组中观察到的中位总生存期显著长于多西他赛亚组。PD-L1 表达的所有预定义的 1%、5%和 10%表达临界值识别从纳武利尤单抗获益的 nsNSCLC 患者具有相似的预测用途。

使用 CA209057 中的纳武利尤单抗受试者数据，基于实体瘤评价标准 (RECIST) 的最佳总体反应 (Y/N) 绘制 ROC 曲线。

图 1: 基于研究 CA209057 的应答标准的 ROC 曲线



各个预先定义的表达水平下 PD-L1 表达亚组报告的相互作用 p 值 ($P < 0.2$) 表明 PD-L1 水平是有临床重要价值、有预测相关性的信号。如下表所示，在 PD-L1 阳性的受试者中，纳武利尤单抗组对所有预定义表达水平的所有终点 (OS、ORR 和 PFS) 的疗效均有改善 (表 7)。

表 7. CA209057 研究中 PD-L1 状态与疗效终点的预测关系

PD-L1 表达水平 ^a	1%	5%	10%
总生存期 ^b			
交互反应 P 值	0.0646	0.0004	0.0002
客观缓解率 ^{c,d}			
交互反应 P 值	0.0019	0.0020	0.0021
无进展生存期 ^b			
交互反应 P 值	0.0227	<0.0001	0.0002

a PD-L1 阳性：基线 PD-L1 表达 \geq 表达值的受试者，PD-L1 阴性：基线 PD-L1 表达 $<$ 表达值的受试者。

b 具有治疗、PD-L1 状态和按 PD-L1 状态作用的治疗 Cox 比例风险模型。

c 具有治疗、PD-L1 状态和 PD-L1 状态相互作用治疗的 Logistic 回归模型。应答者包括“完全缓解”+“部分缓解”。

d RECIST 1.1 缓解标准，需要确认缓解。

通过将表达水平从 1% 增加到 10%，PD-L1 阳性率从 54.1% 降低到 36.3%。将 PD-L1 临床临界值设置为 1% 的最低阈值，可以使从纳武利尤单抗单药治疗中获得更大生存获益的最大数量患者被鉴定为 PD-L1 表达阳性。

在中国大陆、俄罗斯和新加坡进行的 III 期 CA209078 研究中证实了 PD-L1 表达的 1%、5% 和 10% 临界值的临床效用，并且与全球 III 期 CA209057 研究一致。

综合以上研究确认，如果肿瘤细胞呈现出任意强度的膜染色且 PD-L1 表达水平 $\geq 1\%$ ，则应判定标本存在 PD-L1 表达阳性。

(五) 稳定性研究

申请人对试剂盒的稳定性研究包括实时稳定性，使用/机载稳定性和工作稳定性研究。同时也对切片稳定性进行了研究。

实时稳定性：使用三批 $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ 避光保存的试剂盒，分别在第 0、6、8、9、10、11、12、13、14 个月取出检测不同样本，包括阳性组织块，阴性组织块，临界值附近的组织块，结果符合接收标准。因此确定申报产品的货架稳定性为： $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ 避光保存，有效期 12 个月。

使用/机载稳定性：将运输模拟结束后，一个批次的试剂盒进行使用中/机载稳定性研究。每个试剂盒可使用 15 次。进行使用/机载稳定性时，将此批次的所有待测试剂盒转移到室温下放置至少 6 个小时，重复 16 次（使用总次数外加一次循环）。结果显示可循环 16 次。

工作液稳定性：对一批试剂盒进行 DAB 底物-显色液和抗原修复液的工作/再使用稳定性试验。结果显示：DAB 底物-显色液在 $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ 避光保存，可保存 5 天；抗原修复液在 PT Link 中进行脱蜡、水化和抗原修复(三合一)操作，最多使用 3 次，

室温下可保存 5 天。

实时切片稳定性: 对 nsNSCLC 组织切片中 PD-L1 在室温和 2°C ~ 8°C 的切片稳定性进行了评价。结果表明, 切片存储在室温和 2°C ~ 8°C 长达 12 个月的条件下, 染色结果和质控相当。基于实时检测结果, 说明书中声称组织切片应在切片后 4 个月内染色。

三、临床评价摘要

本产品是 Dako 与百时美施贵宝共同开发的补充诊断产品。本次申请提交的临床试验, 即为共同进行的临床试验包括 Checkmate057 国际多中心临床试验及中国人群为主的 Checkmate 078 临床试验。申请人另外提供了中国境内完成的该试剂与 Ventana 公司生产的 PD-L1 (SP263) 试剂的比较研究试验, 以及国内病理医生读片一致性研究。

1. Checkmate057

CheckMate057 是一项 III 期、随机、开放标签、全球多中心关键研究, 评估了纳武利尤单抗 3mg/kg 作为单药治疗既往铂类双重化疗失败后的晚期或转移性 nsNSCLC 成年受试者 (≥ 18 岁) 的安全性和疗效。582 例患者 1:1 接受纳武利尤单抗或多西他赛治疗。该研究同时对 PD-L1 表达情况与临床效用关系进行了研究, 研究采用申报试剂进行 PD-L1 检测。结果显示, 纳武

利尤单抗组中所有 PD-L1 表达患者（按照预定表达水平），其生存期相较于多西他赛组有所延长，而两组未表达 PD-L1 的患者的生存期相似。根据 PD-L1 表达水平进行分析时，纳武利尤单抗亚组中观察到的中位 OS 显著长于多西他赛亚组。PD-L1 表达水平分别为 $\geq 1\%$ 、 $\geq 5\%$ 和 $\geq 10\%$ 的纳武利尤单抗受试者的中位 OS 分别为 17.1、18.2 和 19.4 个月，而多西他赛受试者的中位 OS 则分别为 9.0、8.1 和 8.0 个月。两个治疗组之间表达水平 $< 1\%$ 、 $< 5\%$ 和 $< 10\%$ 的受试者的 OS 并无差异，纳武利尤单抗组的中位 OS 范围介于 9.7 - 10.4 个月之间，而多西他赛组介于 10.1 - 10.3 个月之间。未分层的风险比（HR）和中位总生存期（OS）见图 2。不同 PD-L1 表达水平亚组的 Kaplan-Meier 曲线见图 3 和图 4。

图2：森林图-nsNSCLC患者不同PD-L1表达量的OS-CheckMate057

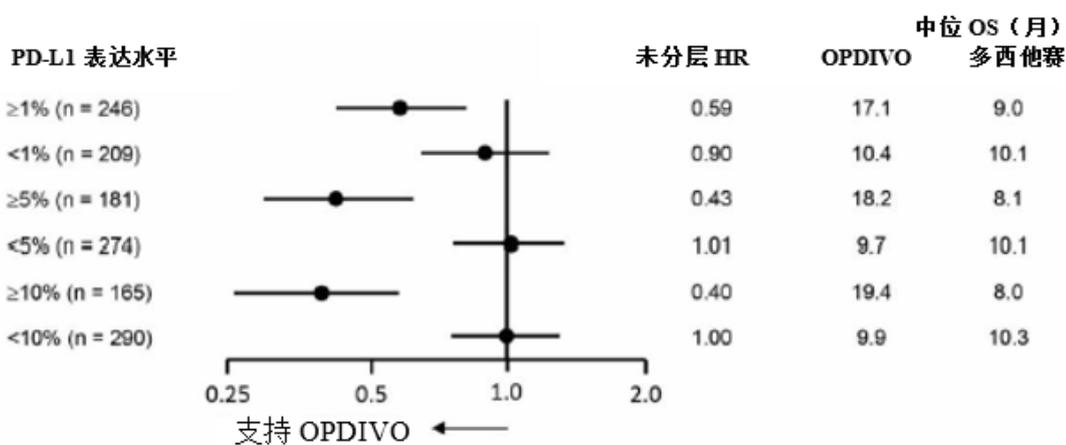
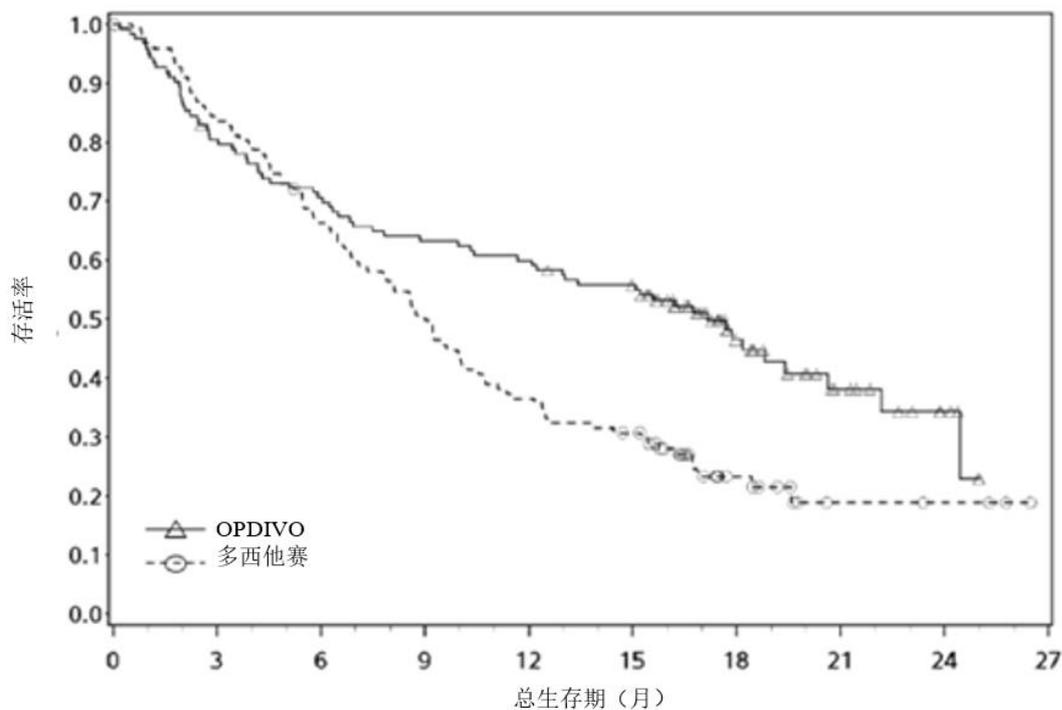


图3: 总生存期-PD-L1表达量 $\geq 1\%$ 的nsNSCLC患者-
CheckMate057



具有风险的人数

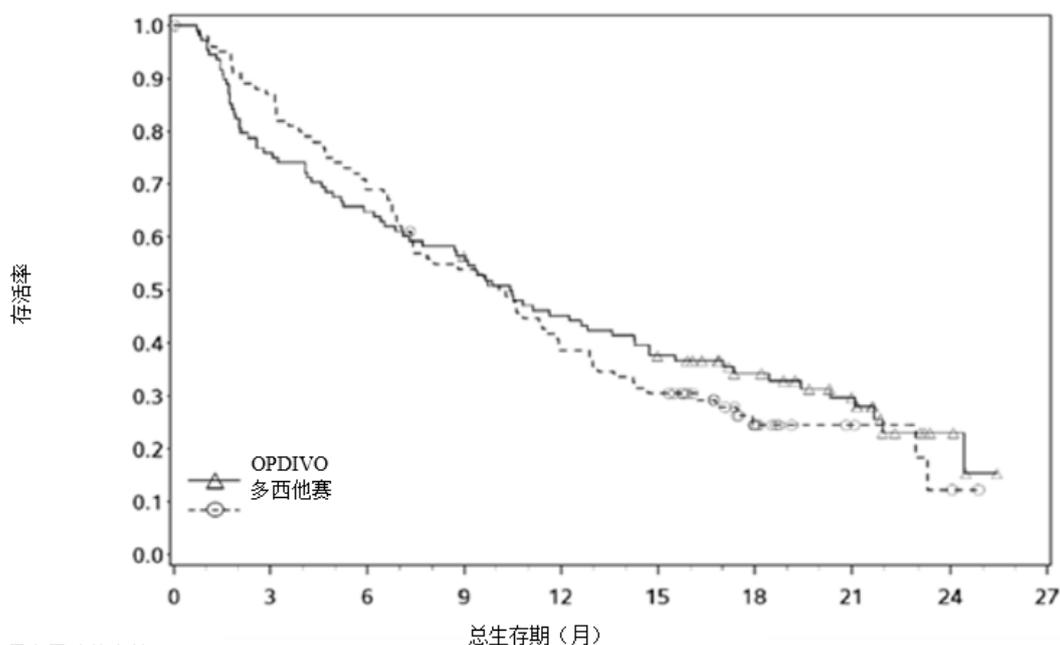
OPDIVO

123	98	86	77	73	65	27	13	5	0
-----	----	----	----	----	----	----	----	---	---

多西他赛

123	102	80	61	44	36	13	4	3	0
-----	-----	----	----	----	----	----	---	---	---

图4: 总生存期-PD-L1表达量<1%的nsNSCLC患者- CheckMate057



具有风险的人数	总生存期 (月)									
OPDIVO	108	82	70	60	48	39	26	17	4	0
多西他赛	101	87	69	53	38	30	13	5	2	0

2. Checkmate078

CheckMate078 是一项 III 期、随机、开放标签、亚太区域（中国为主）的国际多中心临床研究，入组在既往应用含铂剂二联化疗方案治疗期间或之后发生疾病进展的晚期或转移性 NSCLC 患者。受试者以组织学（鳞状 200 例 vs 非鳞 304 例状）、PD-L1 状态（阳性 vs 阴性/无法评价）和 ECOG PS（0 vs 1）为

分层因素，以 2:1 比例随机分配至纳武利尤单抗 3 mg/kg IV 每 2 周一次或多西他赛 75mg/m² IV 每 3 周一次，直至疾病进展或不可耐受，以评价纳武利尤单抗对比多西他赛作为晚期 NSCLC 二线治疗的有效性和安全性。共随机 504 名受试者，分别接受纳武利尤单抗 3mg/kg (n=338) 或多西他赛(n=166) 治疗。

根据 OS 的中期分析结果，在预先设定的中期分析即观察到 301 个事件（占最终 OS 分析计划事件数的 79%）时，相较于多西他赛组，随机至纳武利尤单抗组患者的总生存期有统计学意义的改善。最短随访 8.8 个月时，纳武利尤单抗组的总生存期优于多西他赛组，风险比（HR）为 0.68 [95% CI: 0.54, 0.87]，分层对数秩检验 p 值为 0.0017。纳武利尤单抗组和多西他赛组，纳武利尤单抗组的总生存期优于多西他赛组，风险比（HR）为 0.76 [95% CI: 0.56, 1.04]，中位 OS 分别为 11.99 个月（95%CI: 10.35-14.00）和 9.63 个月（95% CI: 7.62-11.24）。非鳞癌亚组纳武利尤单抗组和多西他赛组的中位 OS 分别为 11.86 个月（95%CI: 9.40-15.31）和 10.22 个月（95%CI 7.82-12.25），结果与全球研究 CheckMate057 的趋势一致。

通过 PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）检测的肿瘤 PD-L1 表达水平在两个治疗组（纳武利尤单抗组相对于多西他赛）间均衡。在预设的 PD-L1 表达的亚组分析中，以表达≥1%为

cut-off 值，在 PD-L1 阳性受试者中，患者接受纳武利尤单抗组的获益显著优于多西他赛，HR=0.62， $p < 0.05$ ，两组的中位 OS 分别为 12.3 月和 7.9 月；在 PD-L1 阴性的患者中，两组 OS 分别为 11.4 和 10.3 月，HR=0.75， $p > 0.05$ 。非鳞癌亚组中，以表达 $\geq 1\%$ 为 cut-off 值，在 PD-L1 阳性受试者中，患者接受纳武利尤单抗组的获益优于多西他赛，HR=0.81；在 PD-L1 阴性的患者中，HR=0.91，纳武利尤单抗组的获益不显著。

3. 比较研究试验：

申请人在中国医学科学院北京协和医院、浙江省肿瘤医院和南京医科大学第一附属医院，共入组 1071 例有效样本（包括 NSCLC，其它癌旁组织和良性疾病或恶性肿瘤），与 Ventana 公司生产的 PD-L1 (SP263) 试剂检测结果进行比较研究试验。

除 NSCLC 以外的 152 例其它样本，两种试剂检测结果显示，阳性符合率为 97.83%，阴性符合率为 100%，总符合率为 99.34%。Kappa 值为 0.9843，95%置信区间为（0.9537，1.0000）。

919 例 NSCLC 样本，按照临界值 1%的统计结果显示，阳性符合率为 91.22%，阴性符合率为 97.44%，总符合率为 97.39%。Kappa 值为 0.9476，95%置信区间为（0.9268，0.9683）。

其中 660 例 nsNSCLC 样本，按照临界值 1%的统计结果显示，阳性符合率为 95.61%，阴性符合率为 96.98%，总符合率为

96.36%。Kappa 值为 0.9264, 95%置信区间为(0.8976, 0.9553)。

4. 国内病理医生读片一致性研究:

申请人通过对上述比较研究试验过程中, 病理医生培训、环形比对试验和比较研究试验中部分样本的不同病理医生读片数据, 进行分析总结, 形成国内病理医生读片一致性分析报告。

4.1 病理医生培训: 本次参与国内临床试验读片的病理医生均按统一方案接受了规范化培训, 使其能准确地对染色样本进行评分。来自上述 3 家医院的 8 名病理医生经过培训, 对 30 个不同 NSCLC 病例(包括 13 例 nsNSCLC 样本)进行评分, 其中第 1 天, 对 20 个 NSCLC 病例进行评分。第 2 天, 对 25 个病例进行评分(10 个新病例, 15 个第 1 天已经评分后, 第 2 天再次评分)。结果表明病理医生不论资历深浅, 对于 NSCLC 或 nsNSCLC 样本, 观察员间和观察员内的评分结果具有良好的重现性($\geq 85\%$ 的一致性)。

4.2 环形比对试验: 使用来自 3 家医院的 21 个不同 NSCLC 样本(全部为 nsNSCLC 样本), 涵盖 PD-L1 的不同水平。3 家医院均对切片设盲, 按照产品说明书进行染色和读片。所有 3 家医院 1%临界值的总体一致性为 93.7%。数据表明研究中心间具有极好的重现性。

3.4 比较研究试验中不同病理医生对同一样本读片一致性：试验过程中病理医生遇到难以评分的 nsNSCLC 样本，由第二名病理医生读片。来源于 3 家医院的 42 份样本分别在各自医院再次读片，其中 19 例在 1%附近（0.5-10%）。3 家医院共 8 名病理医生对 42 例样本读片，每个样本有 2 个病理医生的读片结果。数据基于最具挑战性的样本（临界值附近的样本）上分析得出，总体一致性为 90.5%，证实了观察员间重现性良好。13 例阴性样本中有 8 例确定为近临界值，即 61.5%。其中 4 例重复读片不一致的病例中，有 3 例处于近临界值状态，两次阅片的评分相差仅在 0.5%以内，第 4 个病例的差异为 1%，由于这几例样本在临界值附件，结果不一致足以影响诊断一致性。

综上所述，该产品临床试验资料对产品的临床性能进行了较全面研究，临床试验符合要求。

四、风险分析及说明书提示

参照“ISO 14971:2012 医疗器械风险管理对医疗器械的应用”标准，对本产品进行风险分析。经综合评价，本产品的受益和风险总结如下：

本产品检测结果会受到组织类型、组织固定、切片制备、切片储存条件等因素影响，同时也受到实验操作、染色评分与判读等限制，导致可能得出假阳性或假阴性的检测结果。使用

者须了解检测过程中可能存在的潜在风险及检测方法的局限性。

本试剂盒用于（体外）定性检测中性福尔马林固定石蜡包埋（FFPE）的 nsNSCLC 组织中的 PD-L1 蛋白。不合理的组织类型（如细针穿刺组织、脱钙组织）、非推荐的组织固定、不正确的切片储存以及用不满足说明书中【样本要求】的组织进行检测，会导致假阳性或假阴性结果，请严格按照产品说明书中【样本要求】及【检验方法】的要求操作。

免疫组化是一个多步骤的诊断过程，在适当试剂的选择，组织选择，组织固定，组织处理，免疫组化切片的制备以及染色结果的判读等方面都需要专门的培训。临床判定任何阳性染色的存在或缺失，必须参考临床表现、形态学和其它组织病理学标准进行评估。临床判定任何染色的存在或缺失，必须有形态学研究和合适的对照，以及其它的诊断结果作为补充。应由熟悉所用抗体、试剂和方法的合格病理医生来判读染色切片。染色必须在经过认证许可的实验室中，在病理医生的监督下进行，此病理医生要评估染色切片，并确保阳性和阴性质控染色恰当。乙肝病毒感染者组织中含乙型肝炎病毒表面抗原（HBsAg），可能对辣根过氧化物酶表现出非特异性染色。由于蛋白或底物反应产物的非免疫结合，可能观察到假阳性结果。

伪过氧化物酶活性（红细胞）和内源过氧化物酶活性（细胞色素 C）也是可能的错误产生原因。

本产品基于组织染色机（Autostainer Link 48）平台，检测过程主要包括试剂准备，脱蜡、水化和抗原修复，染色、复染、封片及结果判读步骤。为确保检测全流程的质量得到有效控制，在产品的设计开发阶段对脱蜡、水化和抗原修复、染色步骤进行了全流程验证，为了确保检测结果的可靠性，请使用本产品配套使用的免疫组化预处理系统（PT Link）、推荐的材料及组织染色机（Autostainer Link 48）进行检测。

通过环境控制、生产监控、成品检验和增加说明书警示内容等防范措施，对该产品的已知和可预见的安全风险进行控制和降低，剩余风险可以被控制在验收准则规定的可接受范围内，同时没有带来新的危害与安全风险。在目前认知水平上，认为该产品上市带来的获益/受益大于风险。

尽管目前认为该产品的受益大于风险，但为保证用械安全，基于对主要剩余风险的防控，已在产品说明书中介绍了该产品检验方法的局限性及使用中的注意事项。

综合评价意见

本申报项目为境外第三类体外诊断试剂产品注册，属于优先审批项目（编号：20190005）。申请人的注册申报资料符合现行要求，依据《医疗器械监督管理条例》（国务院令 第 680 号）、《体外诊断试剂注册管理办法》（国家食品药品监督管理总局令 2014 年第 5 号）等相关医疗器械法规与配套规章，经系统评价后，建议准予注册。申请人在该产品上市后应继续对重复性进行验证。请在至少三家临床机构完成，各机构对本机构非鳞非小细胞肺癌样本进行染色和判读，染色后切片在各家医院间进行环形比对研究。验证不同临床试验机构间、同一临床试验机构内、不同资历阅片者间、同一阅片者，对不同特征临床样本判读结果重复性。样本应当包括阴性、TPS 1%附近、阳性的病例。上述内容，作为临床补充资料在产品下一次延续注册时提交。该项临床资料应由出具数据的各临床试验机构签章。

2019 年 11 月 18 日

附件：产品说明书

PD-L1检测试剂盒（免疫组织化学法） 说明书

【产品名称】

通用名称：PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）

英文名称：PD-L1 IHC 28-8 pharmDx

【包装规格】

50 测试/盒

【预期用途】

本试剂盒用于定性检测经福尔马林固定石蜡包埋（FFPE）的非鳞状非小细胞肺癌（nsNSCLC）组织中的 PD-L1 蛋白，检出的非鳞状非小细胞肺癌患者样本中的 PD-L1 表达（≥1%）可能与使用 OPDIVO®（纳武利尤单抗，nivolumab）后的生存期延长相关。

PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）是一种含有单克隆兔抗 PD-L1（克隆 28-8）抗体，应用于组织染色机(Autostainer Link 48)平台配套 EnVision FLEX 显色系统的定性免疫组化检测试剂盒。PD-L1 蛋白的表达水平定义为任意强度下，部分或完全膜染色的活的肿瘤细胞的百分比。通过预期用途相关的染色判读来定义肿瘤 PD-L1 状态。

肿瘤适应症*	PD-L1 表达临床临界值	预期用途
非鳞状非小细胞肺癌 (nsNSCLC)	≥1%	通过 PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）检出的非鳞状非小细胞肺癌患者样本中 PD-L1 的表达水平，可能与使用 OPDIVO®（纳武利尤单抗，nivolumab）后患者生存期延长相关。

*欲了解详细染色说明，请参阅产品说明书“染色判读”部分以及 PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）预期用途相关的染色判读手册。

供体外诊断使用。

PD-1 配体（PD-L1 和 PD-L2）可与 T 细胞表面受体 PD-1 结合，从而抑制 T 细胞的增殖和细胞因子的生成。一些肿瘤细胞中会出现 PD-1 配体上调，通过此通路的信号可抑制活性 T 细胞对肿瘤细胞的免疫监视（1）。OPDIVO®（纳武利尤单抗）是一种人类免疫球蛋白 G4（IgG4）单克隆抗体，它能与 PD-1 受体结合，阻断其与 PD-L1 和 PD-L2 的相互作用，从而解除 PD-1 通路介导的免疫抑制反应（包括抗肿瘤免疫反应）（2）。在相同基因小鼠的肿瘤模型中，阻断 PD-1 活性会减缓肿瘤增长（3）。已在 NSCLC 中研究了 OPDIVO®的临床获益和 PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）的临床效用。

非鳞状非小细胞肺癌：在非鳞状非小细胞肺癌患者样本中检测 PD-L1 表达肿瘤细胞，可能表明 OPDIVO®（纳武利尤单抗）治疗对患者具有增强的生存期获益。使用 PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）检测由 Bristol-Myers Squibb 赞助的 OPDIVO® 临床研究中的患者样本。临床研究 CHECKMATE-057 研究了 PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）对接受 OPDIVO® 治疗的非鳞状 NSCLC 患者 PD-L1 状态评估的临床有效性(4,7)。抗 PD-L1 免疫治疗 OPDIVO® 治疗效应与晚期 NSCLC 患者 PD-L1 表达相关。

OPDIVO® 是 Bristol-Myers Squibb 的商标。

【检验原理】

PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）包含采用 PT Link 预处理模块和组织染色机（Autostainer Link 48）完成 FFPE 样本的免疫组织化学 IHC 染色操作所需的优化试剂和染色程序（5）。使用 PD-L1 单克隆抗体或者阴性对照试剂（NCR）与样本共同孵育后，依次用宿主一抗的特异性信号增强剂和即用型显色试剂（含偶联到葡聚糖聚合物骨架上的二抗分子和辣根过氧化物酶分子）进行孵育。酶催化后加入的色原，使之在抗原部位生成可见沉积物。通过显色增强剂改良显色反应的颜色。然后，对样本进行复染并封片。使用光学显微镜判读结果。使用质控切片监控染色过程，质控切片含有两个经福尔马林固定、石蜡包埋的人细胞系。

【主要组成成分】

提供的材料

PD-L1检测试剂盒（免疫组织化学法）（货号SK005）

每个试剂盒内含19.5 mL的一抗和足够分15批进行50个样本检测的试剂。下列材料足够50次检测使用（包括50张PD-L1抗体待测切片和50张对应的阴性对照试剂待测切片，共100张切片）。试剂盒中还提供了可供15张细胞系质控切片进行染色的额外的PD-L1抗体。该检测次数是基于每张切片每种试剂2×150 μL的加样量，DAB+和抗原修复液除外。

该试剂盒中提供的材料最多可供15轮单独染色操作使用。

数量

1 x 34.5 mL

说明

过氧化物酶阻断剂

过氧化物酶阻断剂

含有过氧化氢、去垢剂和 0.015 mol/L 叠氮化钠的缓冲溶液。

1 x 19.5 mL

一抗：单克隆兔抗 PD-L1，克隆 28-8

单克隆兔抗 PD-L1
克隆：28-8

单克隆兔抗 PD-L1 抗体 (IgG)，溶于含有稳定蛋白和 0.015mol/L 叠氮化钠的缓冲溶液中。

1 x 15 mL

阴性对照试剂*

阴性对照试剂

单克隆兔质控 IgG 抗体，溶于含有稳定蛋白和 0.015mol/L 叠氮化钠的缓冲溶液中。

*单克隆兔质控 IgG 抗体在 Cell Signaling Technology 公司许可下销售。

1 x 34.5 mL

信号增强剂，抗兔

信号增强剂，抗兔

单克隆小鼠抗兔免疫球蛋白 (二抗)，溶于含有稳定蛋白和 0.015mol/L 叠氮化钠的缓冲溶液中。

1 x 34.5 mL

显色试剂-HRP

显色试剂-HRP

偶联有过氧化物酶分子和多克隆山羊抗兔和小鼠免疫球蛋白的葡聚糖，溶于含有稳定蛋白和抗菌剂的缓冲溶液中。

15 x 7.2 mL

DAB+底物缓冲液

DAB+底物缓冲液

含有过氧化氢和抗菌剂的缓冲溶液。

1 x 5 mL

DAB+色原

DAB+色原

3,3'-二氨基联苯胺盐酸盐溶于有机溶剂中。

1 x 34.5 mL

DAB 增强剂

DAB 增强剂

硫酸铜溶液。

6 x 30 mL

免疫组化抗原修复缓冲液

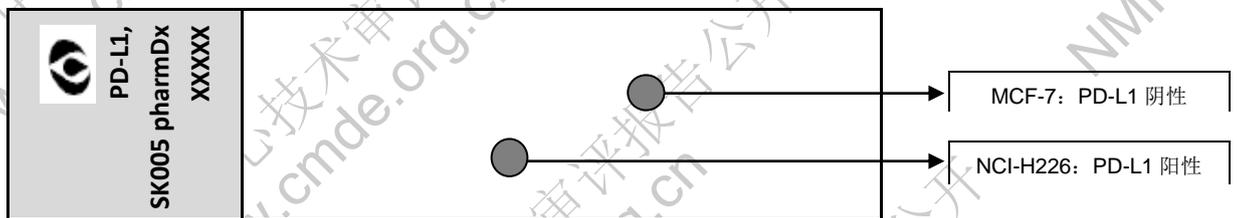
免疫组化抗原修复缓冲液，低
pH 值 (50X)

缓冲溶液，pH 6.1，含有去垢剂和抗菌剂。

15 张切片 PD-L1 检测试剂盒 (免疫组织化学法) 质控切片

质控切片

每张切片含有两个经福尔马林固定石蜡包埋的细胞系点：PD-L1 蛋白阳性表达的 NCI-H226** (来源于 PD-L1 蛋白阳性表达的人肺鳞状细胞癌) 和 PD-L1 蛋白阴性表达的 MCF-7 (来源于 PD-L1 蛋白阴性表达的人乳腺癌)。



**感谢 NIH 的 AF Gazdar 博士和 JD Minna 博士为研发 NCI-H226 (ATCC 编号: CRL-5826™) 做出的贡献 (6)。

注：试剂盒包含的所有试剂都是专门配制。为了使检测不超出预期，除免疫组化抗原修复缓冲液，低 pH 值抗原修复液 (50x) (货号 K8005) 外，其它试剂不得使用替代品。PD-L1 检测试剂盒 (免疫组织化学法) 已针对组织染色机 (Autostainer Link 48) 平台而进行了条件优化。Autostainer Link 48 及 PT Link 具体使用详情，请参考 Autostainer Link 48 及 PT Link 的用户指南。

需要但未提供的材料

免疫组化预处理系统 (PT Link Pre-treatment Module) (货号 PT100/PT101/PT200)

PT Link 清洗缸 (PT Link rinse station) (货号 PT109)

组织染色机 (Autostainer Link 48) (货号 AS480)

EnVision FLEX 缓冲清洗液 (EnVision FLEX Wash Buffer (20x) (货号 K8007)

EnVision FLEX 苏木素 (Hematoxylin) (货号 K8008)

蒸馏水或去离子水 (试剂级水)

计时器

阳性组织和阴性组织质控切片 (参见“质量控制”章节和表 2)

显微镜用载玻片: Dako FLEX IHC 显微镜用载玻片 (货号 K8020) 或 Fisherbrand 阳离子防脱载玻片

盖玻片

封片所需永久性封片剂和辅助试剂

光学显微镜 (4x-40x 物镜)

【储存条件及有效期】

储存条件

PD-L1检测试剂盒（免疫组织化学法）的所有组分（包括质控切片）不在组织染色机（Autostainer Link 48）上使用时，置于原包装中在2℃~8℃避光保存。

超过试剂包装盒上印刷的有效期限后，不得使用该试剂盒。如果试剂在非规定条件下储存，用户必须验证其有效性。

该产品的不稳定性变化没有明显的迹象显示。因此，阳性质控片和阴性质控片应随患者样本一同进行染色。

有效期

2℃~8℃避光保存，有效期 12 个月。

生产日期及失效日期

见标签。

【适用仪器】

组织染色机（Autostainer Link 48）(货号 AS480)。

【样本要求】

样本制备

样本必须经过处理从而保存组织用于 IHC 染色。应对所有样本采用标准的组织处理方法。

石蜡包埋切片

建议使用经福尔马林固定、石蜡包埋（FFPE）的组织样本。推荐的操作和处理条件是：组织离体后到固定剂中的缺血时间不能超过30分钟，10%中性缓冲福尔马林（NBF）中固定24-48小时。其它固定剂尚未经过验证，可能会得到错误的结果。样本应制成3或4mm的厚块，在10%的中性缓冲福尔马林中固定，梯度酒精脱水，二甲苯透明，然后用熔化的石蜡浸透。石蜡温度不应超过60℃。

脱钙处理的组织

在脱钙组织上使用PD-L1检测试剂盒（免疫组织化学法）尚未经过验证，不推荐。

切片储存

组织样本应切成4μm的切片。切片后，组织切片应贴于Fisherbrand阳离子防脱载玻片或者Dako FLEX IHC显微载玻片（货号K8020），然后置于58±2℃烤箱中烤片一小时。为了保存抗原活性，一旦将组织置于载玻片上制成切片，切片应于2℃~8℃（首选）或室温（不超过25℃）避光保存，并于4个月内染色。为了确保组织的完整性和抗原活性，封片之后的储存和处理条件均应不超过25℃。

【检验方法】

试剂制备

染色前必须准备以下试剂：

免疫组化抗原修复缓冲液 EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x)

使用蒸馏水或去离子水（试剂级水），按 1:50 比例稀释低 pH 值（50x）抗原修复液，制备足量的 1x 低 pH 值抗原修复液；pH 值须为 6.1 ± 0.2 。一瓶 30 mL 的低 pH 抗原修复液（50x）经 1:50 稀释后，可配置成 1.5 L 的 1x 试剂，足够充满一个 PT Link 缸，每次能处理多达 24 张切片。该 1x 抗原修复液可在 5 天之内使用三次。注意，低 pH（50X）的抗原修复液为红色溶液。

如需要，可提供额外的低 pH 抗原修复液（50x），其货号为 K8005。

清洗缓冲液 EnVision FLEX Wash Buffer (20x)

使用蒸馏水或去离子水（试剂级水），按 1:20 比例稀释清洗缓冲液（20x），配置足量的清洗缓冲液供清洗步骤使用。未使用的 1x 溶液在 2-8°C 储存不能超过一个月。如发现有浑浊，请丢弃。欲了解详情请参见 Autostainer Link 48 用户指南。

如需额外的 EnVision FLEX 缓冲清洗液(20x)，货号为 K8007。

DAB+底物-色原溶液 DAB+ Substrate-Chromogen Solution

此溶液应在使用前彻底混匀。溶液中的沉淀不会影响染色质量。

配制 DAB+底物-色原溶液，每毫升 DAB+底物缓冲液需添加 1 滴 DAB+色原，并混匀。配制的底物-色原溶液需 2-8°C 避光保存，稳定期为 5 天。

重要说明：

- 若配制一整瓶的 DAB+底物缓冲液，请添加 9 滴 DAB+色原。尽管标签标注体积为 7.2 mL，但这是可用体积，不含该试剂瓶的“死体积”。
- 瓶中液态 DAB+色原的颜色可能在透明至淡紫棕色之间变化。这不会影响该产品性能。请根据上述指导进行稀释。DAB+底物缓冲液中添加过量的液态 DAB+色原会导致阳性信号退化。

组织染色机（Autostainer Link48）染色方案

操作说明

使用前，用户应仔细阅读这些说明并熟悉所有的组分和仪器（参见“注意事项”）。

免疫染色前，所有试剂应平衡到室温（20~25°C）。同样地，所有孵育都应在室温下进行。

染色过程中，不能干片。否则可能导致非特异性的染色增加。

所有的染色步骤和孵育时间都已经预编程到 Dako Link 软件中。请参见 Autostainer Link 48 和 PT Link 用户指南，了解有关染色程序、上载切片和试剂的更多信息。

注：此系统中所提供的试剂和操作说明都经过优化，使其在配合推荐的试剂和材料使用时可达到最佳性能。进一步稀释试剂或改变孵育时间或温度可能导致结果错误或不一致。

染色方案

请在 Dako Link 下拉菜单选项中选择 PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）染色方案。

所有的染色步骤和孵育时间都已预编程到 Dako Link 软件。如果您的服务器上沒有合适的 PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）染色方案，请联系当地技术服务代表。

步骤 1：脱蜡、水化和抗原修复（三合一）操作

推荐程序：

详情请参见 PT Link 用户指南。

设置 PT Link（货号 PT100/PT101/PT200）预热温度和冷却温度为 65°C。设置加热至 97°C 且维持 20 分钟。

- ▶每个 PT Link 缸中灌注 1.5L 低 pH 值 1x 抗原修复液工作液，以覆盖组织切片。
- ▶预热抗原修复液至 65°C。
- ▶将插有 FFPE 组织切片的 Autostainer 切片架浸入 PT Link 缸中，内含预热的低 pH 值 1x 抗原修复液工作液。97°C 孵育 20 分钟。
- ▶待抗原修复液孵育完毕且温度冷却至 65°C 后，从 PT Link 缸中取出插有切片的 Autostainer 切片架，并立即放入含有室温清洗缓冲液（货号 K8007）的缸中（例如，PT Link 清洗缸，货号 PT109）。
- ▶切片在室温清洗缓冲液中孵育 5 分钟。

步骤 2：染色步骤

脱蜡、水化和抗原修复（三合一）操作后，将插有切片的 Autostainer 切片架放置到组织染色机（Autostainer Link 48）上。确保上载切片时和开始染色前，用缓冲液保持切片湿润。该仪器将按照染色方案滴加合适的试剂、监测孵育时间和冲洗切片。试剂孵育时间被预编程到 Dako Link 软件中。

步骤 3：复染

切片应用 EnVision FLEX 苏木素（货号 K8008）复染 7 分钟。苏木素孵育时间被预编程到方案中。

步骤 4：封片

要求使用非水溶性永久封片剂。

注：某些因素可能导致染色完成的切片褪色，这些因素包括但不限于复染、封片剂和封片方法，以及切片储存条件。为了减少褪色，将切片置于室温（20~25°C）避光保存。

质量控制

PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）中的试剂已使用上面所列的抗原修复和染色操作方法，通

过免疫组化进行了质量控制。用户实验室采用非推荐的组织固定、处理和包埋方法可能导致结果有显著的变化。每轮染色中均应添加质控片。这些质控片都已在表 2 中列出，包括：患者组织样本的 H&E 染色片；实验室提供的阳性和阴性质控组织；和 Dako 提供的质控片（11）。在美国，请查阅美国病理学会（CAP）免疫组化认证程序的质量控制指南；另请参见批准的 CLSI 免疫组化质量保证指南（10），以了解更多信息。

分析验证

初次使用该诊断染色系统前，用户应测试一些实验室提供的已知其 IHC 性能特性的阳性和阴性组织，来验证其性能表现。参见上述质量控制部分所列的质量控制规程。当抗体批号改变，或者试验中的任何参数发生变化时，都应重新质控。潜在问题的疑难解答，原因及推荐的解决办法请参见表 3。

染色判读

每轮染色，需按表 2 的顺序检查切片，从而确定每轮染色的有效性并对样本组织的染色情况进行评估。

表 1 总结了 PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）在不同适应症中的染色判读。

表1：染色判读

PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）染色判读*		
<p>病理医生应在光学显微镜下评估切片。PD-L1 免疫组化染色和判读评分，要先在4倍物镜下对整张切片进行初步评估，然后再在10-20倍镜下进行评分（按需在40倍物镜下进行确认）。PD-L1 染色显示为棕色（3,3'-二氨基联苯胺，DAB）反应产物。</p> <p>PD-L1 阳性染色定义为在任意强度下，部分或完全膜染色的活的肿瘤细胞的百分比。必须评价整张切片。整张切片上所有的活的肿瘤细胞需要评估并进行PD-L1评分。PD-L1 染色患者切片上应至少有100个活的肿瘤细胞，才可用于确定染色细胞的百分比。请参见本产品说明书中的适应症特异性染色判读章节中的详细指南。</p> <p>胞浆染色，如果存在，不计入评分。非恶性细胞和免疫细胞（例如浸润淋巴细胞或巨噬细胞）也可能PD-L1染色阳性；然而，这些不应纳入PD-L1阳性判定的评分中。</p>		
适应症	其他评分考虑因素	PD-L1 表达水平
非鳞状 NSCLC	NA	≥1%

*有关PD-L1评分的其它指南，请参见下文中的适应症特异性染色判读章节和各适应症的相关PD-L1检测试剂盒（免疫组织化学法）判读手册。

染色判读：非鳞状 NSCLC

必须评估整张切片。整张PD-L1染色切片上的所有活的肿瘤细胞都必须评估并进行PD-L1评分。PD-L1染色患者切片上应至少有100个活的肿瘤细胞，才可用于确定染色细胞的百分比。对于非鳞状NSCLC样本，记录表现出环形的和 / 或部分线性膜PD-L1染色（任何强度）的活的肿瘤细胞百分比。

1. 在4倍物镜下，仔细检查整个标本的肿瘤区域。应评价标本上所有的活的肿瘤细胞。胞浆染色不纳入评分。免疫细胞、坏死细胞、正常细胞和原位癌应不纳入评分。
2. 在10倍-20倍的物镜下，来确定表达PD-L1膜染色的活肿瘤细胞的百分比。按需在40倍物镜下进行确认。如果肿瘤细胞在任意强度下表现出部分线性或完全膜染色，则被认为该肿瘤细胞呈PD-L1阳性。
3. 记录下标本的肿瘤PD-L1表达是否 $<1\%$ 或 $\geq 1\%$ 。当确定整个标本中染色肿瘤细胞的百分比时，分子为染色的活的肿瘤细胞数，而分母为标本中活的肿瘤细胞的总数。

切片评估

表2：推荐的切片评估顺序

样本	基本原理	要求
1. H&E (实验室提供)	首先评估组织样本苏木素和伊红(H&E)染色，用于评估组织形态和保存质量。 注：在使用阴性对照试剂和一抗染患者组织切片(步骤5和6)时，可能再次评估H&E。	应对同一样本蜡块中的连续切片进行PD-L1检测试剂盒(免疫组织化学法)染色和H&E染色。 组织样本应完整，保存良好并且需要验证肿瘤适应症。
2. 质控切片 (Dako供应)	需用PD-L1检测试剂盒(免疫组织化学法)试剂盒内的PD-L1一抗对细胞系质控切片进行染色，以确定所有试剂都能正常工作。 细胞系质控切片含PD-L1阳性细胞系点和PD-L1阴性细胞系点。	每轮染色，应添加一张细胞系质控切片用PD-L1抗体染色。 <i>NCI-H226</i> (来源于PD-L1蛋白阳性表达的人肺鳞状细胞癌的PD-L1阳性质控细胞系) 合格标准： <ul style="list-style-type: none">• $\geq 80\%$的细胞呈现膜染色，且平均染色强度$\geq 2+$。• 非特异性染色强度$< 1+$。 <i>MCF-7</i> ：(来源于PD-L1蛋白阴性表达的人乳腺癌细胞的PD-L1阴性质控细胞系) 合格标准： <ul style="list-style-type: none">• 无特异性染色。

		<ul style="list-style-type: none">• 非特异性染色强度$<1+$。注意，偶尔会观察到MCF-7细胞点中有几个细胞被染色。合格标准如下：在MCF-7细胞点的边界内，总计≤ 10个细胞具有明显膜染色或强度$\geq 1+$的胞浆染色，这种情况是可以接受的。 <p>如果任一细胞系质控点不符合这些条件，患者样本的所有结果都应视为无效。</p>
--	--	--

<p>3. 阳性质控组织切片</p> <p>(实验室提供)</p>	<p>接着, 应评估阳性质控组织切片的PD-L1抗体染色以及阴性对照试剂染色。这些切片用于检验固定方法和抗原修复过程是否有效。已知表达的阳性质控组织只用于监测组织处理过程和检测试剂是否正确, 而不能作为患者样本的辅助诊断。</p>	<p>对照组织应选用与患者样本具有相同肿瘤适应症的活检 / 手术样本, 并采用与患者样本相同的方式, 尽快进行固定、处理和包埋。</p> <p>通常坏死或降解的细胞会有非特异性染色, 请使用完好的样本来评估染色结果。</p> <p>选用的阳性质控组织应有弱到中等的PD-L1阳性染色, 以便能探测出检测体系的轻微变化。</p> <p>每轮染色应包括两张阳性质控组织切片。</p> <p>PD-L1-染色的切片: 应观察到棕色的膜染色。非特异性染色应$\leq 1+$。</p> <p>阴性对照试剂染色的切片: 不存在膜染色。非特异性染色应$\leq 1+$。</p> <p>如果阳性质控组织未显现出恰当的阳性染色, 则测试标本的结果应视为无效。</p>
<p>4. 阴性质控组织切片</p> <p>(实验室提供)</p>	<p>接着, 评估阴性质控组织切片(已知为PD-L1阴性), 使用PD-L1一抗和阴性对照试剂进行染色, 以验证一抗标记靶抗原的特异性。或者, 使用阳性质控组织切片内的阴性部位替代阴性质控组织切片, 这需要使用者进行验证。</p>	<p>对照组织应选用与患者样本具有相同肿瘤适应症的活检 / 手术样本, 并采用与患者样本相同的方式, 尽快进行固定、处理和包埋。</p> <p>每轮染色应包括两张阴性组织质控切片。</p> <p>PD-L1-染色的切片: 肿瘤细胞不存在膜染色。非特异性染色应$\leq 1+$。</p> <p>阴性对照试剂染色的切片: 不存在膜染色。非特异性染色应$\leq 1+$。</p> <p>如果阴性质控组织切片中发生了特异性膜染色, 则患者样本的结果应视为无效。</p>
<p>5. 使用阴性对照试剂染色的</p>	<p>评估用PD-L1检测试剂盒(免疫组织化学法)内的阴性对照</p>	<p>不存在膜染色可确认PD-L1一抗标记靶抗原的特异性。非特异性染色应$\leq 1+$。</p>

患者组织切片	试剂染色的患者样本。使用阴性对照试剂代替一抗，以辅助判读抗原位置的特异性染色。	
6. 使用 PD-L1 一抗染色的患者组织切片	最后评估PD-L1检测试剂盒（免疫组织化学法）中的PD-L1一抗染色的整张患者切片。了解与PD-L1检测试剂盒（免疫组织化学法）免疫反应有关的具体信息，参见“概述和说明”、“使用限制”和“性能特点”章节。	<p>阳性染色强度应参照同轮染色中阴性对照试剂切片上观察到的任何非特异性背景染色进行评估。</p> <p>跟所有免疫组化检测一样，阴性结果表示抗原未检出，而不是表示检测的细胞 / 组织中没有抗原。</p> <p>有关染色判读指南，请参见染色判断。</p>

【检验结果的解释】

表3：疑难解答

问题	可能的原因	建议的措施
1. 质控切片或样本片未染色	1a. 程序错误。	1a. 确认SK005 PD-L1检测试剂盒（免疫组织化学法）程序被用于切片。
	1b. 与DAB+底物-色原溶液（DAB）反应不足。	1b. 确认DAB+底物-色原溶液制备正确。
	1c. 清洗缓冲液中有叠氮钠。	1c. 只使用Dako清洗缓冲液（货号K8007）。
	1d. 质控切片失效。	1d. 检查试剂盒外包装效期和储存条件。
2. 样本切片染色弱。	2a. 固定方法不当。	2a. 确保只使用中性缓冲福尔马林固定剂，选用批准的固定方法。
	2b. 试剂添加不足。	2b. 检查组织切片大小和试剂用量。
	2c. 清洗缓冲液不合适。	2c. 只使用Dako清洗缓冲液（货号K8007）。
3. 样本染色弱或Dako提供的质控切片中阳性细胞系染色弱。	3a. 抗原修复不足。	3a. 检查是否正确进行了三合一预处理操作。
	3b. 清洗缓冲液不合适。	3b. 只使用Dako清洗缓冲液（货号K8007）。
4. 切片背景染色过强。	4a. 脱蜡不尽。	4a. 检查是否正确进行了三合一预处理操作。
	4b. 切片上载至组织染色机（Autostainer Link 48）时干片。	4b. 确保上载切片时，以及开始染色前，切片湿润。

	4c. 试剂与组织切片的非特异性结合。	4c. 检查样本固定是否恰当和 / 或是否有坏死。
	4d. 固定方法不当。	4d. 确保只使用中性缓冲福尔马林固定剂, 选用推荐的固定方法。
5. 掉片。	5a. 载玻片选用不当。	5a. 使用Dako FLEX IHC显微载玻片 (货号K8020) 或Fisherbrand 阳离子防脱载玻片。
	5b. 样本制备不当。	5b. 染色前, 切片应于58±2℃烤箱中烤片一小时。
6. 特异性染色过强。	6a. 使用了不恰当的固定方法。	6a. 确保只选用批准的固定剂和固定方法。
	6b. 使用了不合适的清洗缓冲液。	6b. 只使用Dako清洗缓冲液 (货号K8007)。
7. 抗原修复液受热时外观浑浊。	7. 抗原修复液受热时外观变得浑浊。	7. 正常现象, 不影响染色。

注意: 如果出现的问题不能归因于上述任何原因, 或者推荐的纠正措施不能解决问题, 请拨打Dako技术支持电话寻求进一步帮助。关于染色技术和样本制备的更多信息, 请查阅Dako教育指南: 免疫组化染色方法 (15) (可从Dako获取)。

【检验方法的局限性】

局限性

一般局限性

1. 免疫组化是一个多步骤的诊断过程, 在试剂的选择, 组织选择, 组织固定, 组织处理, 免疫组化切片的制备以及染色结果的判读等方面都需要专门的培训。
2. 组织染色情况取决于染色前组织的操作和处理。不恰当的固定、冷冻、解冻、洗涤、干燥、烤片、切片, 或是其它组织或液体污染, 都可能产生干扰、抗体俘获或假阴性结果等情况。结果不一致的原因可能是固定或包埋方法的改变, 也可能是由于组织内固有的不一致所导致。
3. 复染过度或不足均会影响染色结果判读。
4. 临床判定任何阳性染色的存在或缺失, 必须结合临床表现、形态学和其它组织病理学标准进行评估。临床判定任何染色的存在或缺失, 必须有形态学研究和合适的对照, 以及其它的诊断结果作为补充。应由熟悉所用抗体、试剂和方法的合格病理医生来判读染色切片。染色必须在经认证许可的实验室中, 在病理医生的监督下进行, 此病理医生要评估染色切片, 并确保阳性和阴性质控片染色恰当。
5. 乙肝病毒感染者组织中含B型乙肝表面抗原 (HBsAg), 可能对辣根过氧化物酶表现出非特异性染色 (12)。
6. 试剂在未经检测过的组织中的表现可能超出预期。由于肿瘤或其它病理组织中抗原的生物学

多样性，即使在已经检测过的组织类型中，也不排除可能出现超出预期的反应。如欲了解已观察到的超出预期的反应，请联系Dako技术支持部门。

7. 由于蛋白或底物反应产物的非免疫结合，可能观察到假阳性结果。伪过氧化物酶活性（红细胞）和内源过氧化物酶活性（细胞色素C）也是可能的原因（10）。
8. 随试剂盒提供的试剂和操作说明已优化到最佳性能。进一步稀释试剂或改变孵育时间或温度可能导致错误或不一致的结果。

产品特有的局限性

1. 随着时间的延长，组织中抗原可能会降解而导致假阴性结果。一旦制片完成，组织切片应在 2-8℃或室温（不超过 25℃）下避光保存，并在切片后 4 个月内进行染色。在制片后的任何阶段切片储存和处理条件应不超过 25℃，以保障组织的完整性和抗原性。
2. 为了获得最优和可重复的结果，当以常规方法固定组织（中性缓冲福尔马林液）并石蜡包埋，PD-L1 蛋白需要进行抗原修复预处理。
3. 除低 pH 值 50x 的免疫组化抗原修复缓冲液外，不同批次或不同厂家的试剂盒组分不得相互混用。在需要时，可提供额外的低 pH 值抗原修复液（50x），货号为 K8005。
4. 细胞系质控片只能用于验证此轮染色有效性，不能用于病人切片的染色判读指导。
5. PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）在非 10% 中性缓冲福尔马林液固定的组织上的使用情况，尚未经过确认。
6. PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）临床试验可接受的样本类型为切除性、切开式、钳取式或核心针穿刺式。细针穿刺或其它细胞学样本不足以进行生物标记物分析，因此使用 PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）进行的临床试验中排除以上类型样本。

【产品性能指标】

非临床性能评价

PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）的特异性分析

PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）中的一抗为单克隆兔抗人 PD-L1 抗体，克隆 28-8。用于生成抗体的免疫原是包含人 PD-L1 胞外域（Phe19-Thr239）的纯化重组人 PD-L1。PD-L1 抗体的 IHC 染色显示与在中国仓鼠卵巢（CHO）细胞中外源表达的 PD-L2 无交叉反应。

PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）专门检测 FFPE 组织中的肿瘤细胞表达的 PD-L1 膜蛋白，通过添加 PD-L1 抗原可完全废除该功能。PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）无法检测 PD-L1 基因敲除肿瘤细胞中的 PD-L1 膜蛋白。

正常组织和肿瘤组织

表 4 总结了单克隆兔抗人 PD-L1 抗体在一组正常组织中的免疫反应性。表 5 总结了单克隆兔抗人 PD-L1 抗体在多肿瘤组织微阵列中的肿瘤组织的免疫反应性。根据本包装说明书中的说明，所有组织经福尔马林固定、石蜡包埋，并采用 PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）染

色。PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）检测已知具有 PD-L1 抗原表达的细胞类型（例如免疫细胞和上皮来源的肿瘤细胞）的细胞膜中的 PD-L1 蛋白。

表 4: PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）正常组织反应性总结

组织类型 (检测数量)	阳性膜染色: 组织成分	阳性胞浆染色: 组织成分
肾上腺 (3)	3/3 骨髓细胞	3/3 骨髓细胞
膀胱 (3)	1/3 尿路上皮	1/3 平滑肌, 尿路上皮
骨髓 (3)	3/3 巨核细胞	3/3 巨核细胞
乳腺 (3)	0/3	0/3
小脑 (3)	0/3	0/3
大脑 (3)	0/3	0/3
子宫颈 (3)	1/3 上皮细胞	1/3 上皮细胞
结肠 (3)	2/3 巨噬细胞	0/3
食管 (3)	0/3	0/3
肾脏 (3)	3/3 肾小管上皮细胞	3/3 肾小管上皮细胞
肝脏 (3)	2/3 免疫细胞	2/3 免疫细胞
肺脏 (3)	3/3 肺泡巨噬细胞	0/3
间皮细胞 (3)	0/3	0/3
心肌 (3)	0/2*	0/2*
骨骼肌 (3)	0/2*	0/2*
外周神经 (3)	0/3	0/3
卵巢 (3)	0/3	0/3
胰腺 (3)	3/3 上皮 (主要是胰岛细胞)	3/3 上皮 (主要是胰岛细胞)
甲状旁腺 (3)	3/3 上皮细胞	0/3
脑垂体 (3)	1/3 腺垂体前	1/3 腺垂体前 3/3 神经垂体后
前列腺 (3)	0/2*	0/2*
唾液腺 (3)	0/3	0/3
皮肤 (3)	0/3	1/3 上皮细胞
小肠 (3)	0/2*	0/2*
脾脏 (3)	1/3 巨噬细胞 3/3 窦壁细胞	0/3
胃 (3)	0/3	0/3
睾丸 (3)	0/3	1/3 睾丸间质细胞
胸腺 (3)	3/3 骨髓上皮细胞	0/3
甲状腺 (3)	0/3	0/3
扁桃体 (3)	3/3 隐窝上皮 3/3 生发中心 (免疫细胞)	0/3
子宫 (3)	0/3	0/3

*观察到该组织类型的 3 份样本中有 1 份显示干燥导致的背景染色或强背景染色, 无法进行评分, 因此未报告该样本的结果。

表 5: PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）肿瘤组织反应性总结

肿瘤类型	位置 / 器官	PD-L1 阳性 / 总计 (N=162)
------	---------	-----------------------

肿瘤类型	位置 / 器官	PD-L1 阳性 / 总计 (N=162)	
腺癌	阑尾	1/1	
	乳腺, DCIS	0/2	
	乳腺, 浸润性导管	3/7	
	乳腺, 浸润性导管转移至淋巴结	1/1	
	支气管肺泡癌, 肺	0/1	
	宫颈, 子宫颈型	0/1	
	结肠	2/5	
	结肠, 转移至肝脏	1/1	
	结肠, 黏液性	0/1	
	食管	1/1	
	胆囊	2/4	
	胃肠, 转移至肺	0/1	
	头和颈, 硬腭	0/1	
	肺	2/5	
	卵巢	0/1	
	卵巢, 子宫内膜	0/1	
	卵巢, 黏液性	0/1	
	卵巢, 浆液性	0/1	
	胰腺	1/2	
	胰腺, 导管	0/3	
	前列腺	2/4	
	直肠	2/4	
	唾液腺 / 腮腺	0/2	
	小肠	0/2	
	胃	1/6	
	胃, 黏液性	0/1	
	甲状腺, 滤泡	0/1	
	甲状腺, 滤泡-乳头状	0/1	
	甲状腺, 乳头状	0/3	
	子宫, 透明细胞	1/1	
	子宫, 子宫内膜	1/3	
	肾上腺皮质癌	肾上腺	0/1
	星形细胞瘤	大脑	0/3
基底细胞癌	皮肤	0/1	
癌	鼻咽, NPC	0/1	
脊索瘤	盆腔	0/1	
胚胎癌	睾丸	0/1	
室管膜细胞瘤	脑	0/1	
胶质母细胞瘤	脑	0/1	
肝母细胞瘤	肝脏	0/1	
肝细胞癌	肝脏	1/5	
胰岛细胞瘤	胰腺	0/1	
间质瘤	结肠	0/1	
	直肠	0/1	
	小肠	0/1	
大细胞癌	肺脏	1/1	
脂肪肉瘤	腹腔, 粘液性	0/1	
淋巴瘤			
间变性大细胞	淋巴结	1/1	
弥漫性 B 细胞	淋巴结	2/4	

肿瘤类型	位置 / 器官	PD-L1 阳性 / 总计 (N=162)
霍奇金	淋巴结	2/2
非霍奇金	淋巴结	1/1
髓腔瘤	脑	0/1
髓样瘤	甲状腺	0/1
黑色素瘤	直肠	0/1
	鼻腔	0/1
脑膜瘤	脑	0/2
间皮瘤	腹膜	0/1
神经母细胞瘤	腹膜后腔	0/1
神经纤维瘤	软组织, 下背部	0/1
原始神经外胚层	腹膜后腔	0/1
肾细胞癌		
乳头状	肾脏	0/1
透明细胞	肾脏	0/6
肉瘤		
骨肉瘤	骨骼	0/1
透明细胞	腹壁	0/1
骨肉瘤	骨骼	0/2
平滑肌肉瘤	软组织, 胸壁	0/1
	膀胱	0/1
脂肪肉瘤	腹腔, 粘液性	0/1
横纹肌肉瘤	软组织, 胚胎	0/1
	前列腺	0/1
	腹膜后腔	0/1
滑膜肉瘤	盆腔	0/1
精原细胞瘤	睾丸	0/2
印戒细胞癌	结肠印戒细胞癌转移至卵巢	0/1
	结肠	0/1
小细胞癌	肺脏	1/2
精母细胞性精原细胞瘤	睾丸	0/2
鳞状细胞癌	食管鳞状上皮细胞癌转移至淋巴结	1/1
	子宫颈	2/4
	食管	4/7
	头和颈	0/2
	肺脏	1/3
	皮肤	1/2
子宫	1/1	
胸腺瘤	纵隔	1/1
移行细胞癌	膀胱	3/6
	肾脏	0/1

性能评价

性能评价：非鳞状 NSCLC

灵敏度分析：非鳞状 NSCLC

采用同一生产批次产品，检测 PD-L1 检测试剂盒（免疫组织化学法）在 112 份独立的人非鳞状非小细胞肺癌（non-squamous NSCLC）FFPE 样本（I-IV 期）中的灵敏度。评估 PD-L1 的表达水平，表明其肿瘤细胞染色范围为 0-100%，染色强度为 0-3。

重复性 / 外部重复性: 非鳞状 NSCLC

在 Dako 和 3 个外部测试场所中分别评价 PD-L1 检测试剂盒 (免疫组织化学法) 的重复性和外部重复性, 性能数据见表 6 和表 7。对每个 PD-L1 表达水平均进行评估, 对测试结果进行独立配对比较, 结果确定了其阴性一致率 (NPA)、阳性一致率 (PPA) 和总体一致率 (OA)。最常出现的观察结果用作计算 NPA、PPA、OA 和相应的 Wilson 评分 95% 置信区间的参考。

表6: PD-L1检测试剂盒 (免疫组织化学法) 的重复性: 非鳞状NSCLC≥1%表达水平

重复性	方法	一致率% (95% CI):		
		≥1%表达水平	≥5%表达水平	≥10%表达水平
不同仪器之间	分别在三台 Autostainer Link 48 染色机上对 34 例经 IHC 检测 PD-L1 表达程度不同的非鳞状 NSCLC 样本进行检测, 每例样本检测两次。评分前对载玻片进行设盲和随机分组处理。共进行了 204 次独立配对比较试验。	NPA 100 (96.9, 100) PPA 100 (95.6, 100) OA 100 (98.2, 100)	NPA 100 (96.9, 100) PPA 98.8 (93.6, 99.8) OA 99.5 (97.3, 99.9)	NPA 98.1 (93.5, 99.5) PPA 100 (96.2, 100) OA 99.0 (96.5, 99.7)
不同分析员之间	3 名分析员对 34 例经 IHC 检测 PD-L1 表达程度不同的非鳞状 NSCLC 样本在同一 Autostainer Link 48 染色机上进行检测, 每例样本检测两次。评分前对载玻片进行设盲和随机分组处理。共进行了 204 次独立配对比较试验。	NPA 100 (96.9, 100) PPA 100 (95.6, 100) OA 100 (98.2, 100)	NPA 100 (96.9, 100) PPA 100 (95.6, 100) OA 100 (98.2, 100)	NPA 100 (96.6, 100) PPA 97.9 (92.7, 99.4) OA 99.0 (96.5, 99.7)
不同天之间	在非连续 5 天内, 在 Autostainer Link 48 染色机上, 对 34 例经 IHC 检测 PD-L1 表达程度不同的非鳞状 NSCLC 样本进行检测。评分前对载玻片进行设盲和随机分组处理。共进行了 170 次独立配对比较试验。	NPA 100 (96.3, 100) PPA 100 (94.8, 100) OA 100 (97.8, 100)	NPA 100 (96.3, 100) PPA 100 (94.8, 100) OA 100 (97.8, 100)	NPA 100 (95.9, 100) PPA 98.8 (93.3, 99.8) OA 99.4 (96.7, 99.9)
不同批次之间	在非连续 5 天内, 在 Autostainer Link 48 染色机上, 对 20 例经 IHC 检测 PD-L1 表达程度不同的非鳞状 NSCLC 样本各进行 2 次重复检测。共进行了 160 次独立配对比较试验。	NPA 100 (94.3, 100) PPA 100 (96.2, 100) OA 100 (97.7, 100)	NPA 100 (95.4, 100) PPA 100 (95.4, 100) OA 100 (97.7, 100)	NPA 100 (96.4, 100) PPA 100 (93.6, 100) OA 100 (97.7, 100)
同一轮检测内	对 34 例经 IHC 检测 PD-L1 表达程度不同的非鳞状 NSCLC 样本在 Autostainer Link 48 染色机上进行检测, 每一例样本在同一轮中重复检测 5 次。评分前对载玻片进行设盲和随机分组处理。总	NPA 97.8 (92.3, 99.4) PPA 98.7 (93.1, 99.8) OA 98.2 (94.9, 99.4)	NPA 98.0 (93.0, 99.4) PPA 97.1 (89.9, 99.2) OA 97.6 (94.0, 99.1)	NPA 96.5 (90.1, 98.8) PPA 96.3 (89.8, 98.7) OA 96.4 (92.4, 98.3)

	共进行了 167 次 (10%) 和 168 次 (1% 和 5%) 独立配对比较试验。			
--	--	--	--	--

表 7: PD-L1 检测试剂盒 (免疫组织化学法) 的外部重复性: 非鳞状 NSCLC $\geq 1\%$ 表达水平

重现性	方法	一致率% (95% CI):		
		$\geq 1\%$ 表达水平	$\geq 5\%$ 表达水平	$\geq 10\%$ 表达水平
不同场所之间 (3 个场所)	在非连续 5 天内, 对经 IHC 检测 PD-L1 表达程度不同的 24 例非鳞状 NSCLC 样本进行检测。 对 3 个场所进行场所间分析, 共进行了 360 次独立配对比较试验。	NPA 89.6 (83.3, 93.7) PPA 87.1 (82.1, 90.9) OA 88.1 (84.3, 91.0)	NPA 88.0 (83.1, 91.6) PPA 92.6 (86.9, 95.9) OA 89.7 (86.2, 92.5)	NPA 90.8 (86.5, 93.9) PPA 94.2 (88.5, 97.2) OA 91.9 (88.7, 94.3)
同一场所内	在非连续 5 天内, 在 3 个研究所对经 IHC 检测 PD-L1 表达程度不同的 24 例非鳞状 NSCLC 样本进行检测。对 3 个场所进行场所内分析, 共进行了 360 次独立配对比较试验。	NPA 95.3 (90.7, 97.7) PPA 96.7 (93.3, 98.4) OA 96.1 (93.6, 97.7)	NPA 96.6 (93.1, 98.3) PPA 93.6 (88.5, 96.5) OA 95.3 (92.6, 97.0)	NPA 97.7 (94.8, 99.0) PPA 92.9 (87.4, 96.1) OA 95.8 (93.2, 97.5)
不同观察者之间 (3 个场所各 1 名观察者)	对 30 例经 PD-L1 检测试剂盒 (免疫组织化学法) 染色的 PD-L1 表达程度不同的非鳞状 NSCLC 样本进行评分, 评分由来自于三个场所的三位病理医生在非连续三天中进行。 在三个场所进行不同观察者间分析, 共进行了 270 次独立配对比较试验。	NPA 84.0 (74.5, 90.4) PPA 92.6 (88.0, 95.5) OA 90.0 (85.8, 93.0)	NPA 94.4 (88.4, 97.4) PPA 94.4 (89.8, 97.1) OA 94.4 (91.0, 96.6)	NPA 93.3 (87.8, 96.5) PPA 88.9 (82.5, 93.2) OA 91.1 (87.1, 94.0)
同一观察者内 (3 个场所各 1 名观察者)	对 30 例经 PD-L1 检测试剂盒 (免疫组织化学法) 染色的 PD-L1 表达程度不同的非鳞状 NSCLC 样本进行评分, 评分由来自于三个场所的三位病理医生在非连续三天中进行。 在三个场所进行同一观察者内分析, 共进行了 270 次独立配对比较试验。	NPA 91.4 (83.2, 95.8) PPA 95.8 (91.9, 97.8) OA 94.4 (91.0, 96.6)	NPA 94.7 (89.0, 97.6) PPA 98.1 (94.5, 99.3) OA 96.7 (93.8, 98.2)	NPA 97.8 (93.7, 99.2) PPA 93.3 (87.8, 96.5) OA 95.6 (92.4, 97.4)

临床性能评价：非鳞状 NSCLC

在 CHECKMATE-057 临床研究中,对 PD-L 检测试剂盒(免疫组织化学法)(PD-L1 IHC 28-8 pharmDx) 的临床效用进行了评估, CHECKMATE-057 是一项在既往铂类双重化疗失败后的晚期或转移性非鳞状非小细胞肺癌 (nsNSCLC) 成年受试者 (≥18 岁) 中对纳武利尤单抗 (nivolumab) 和多西他赛进行比较的开放性随机 III 期试验。在分布于 22 个国家或地区 (阿根廷, 澳大利亚, 奥地利, 巴西, 加拿大, 智利, 捷克共和国, 法国, 德国, 中国香港, 匈牙利, 意大利, 墨西哥, 挪威, 秘鲁, 波兰, 罗马尼亚, 俄罗斯联邦, 新加坡, 西班牙, 瑞士和美国) 的 112 个中心中随机分配 582 名受试者。受试者按照 1:1 的比例接受随机分配, 并按照以下条件进行分层: 1) 既往使用维持治疗与未使用维持治疗, 2) 二线治疗与三线治疗。随机化之前和首次治疗前, 采集研究前 (基线) 肿瘤组织样本, 以根据预先设定的基线 PD-L1 表达水平 (次要目的) 实施预先计划的疗效分析。主要终点为总生存期 (OS)。其它次要终点是第 12 周时的客观缓解率 (ORR)、无进展生存期 (PFS) 和疾病相关症状改善, 利用肺癌症状量表 (LCSS) 进行测量。

纳武利尤单抗 (Nivolumab) 与多西他赛组之间的随机分配受试者的基线人口统计学和疾病特征大体分布均衡。平均年龄为 62 岁 (范围: 21-85 岁), 34% ≥65 岁, 7% ≥75 岁。大多数患者为白人 (92%) 和男性 (55%); 基线 ECOG 体能状态为 0 (31%) 或 1 (69%)。79% 的患者是既往 / 当前吸烟者。从非鳞状 NSCLC 肿瘤中收集肿瘤样本, 与研究的入选要求一致。在 CHECKMATE-057 临床研究中, 所有随机化受试者在每个预定基线表达水平的 PD-L1 表达频率见表 8。

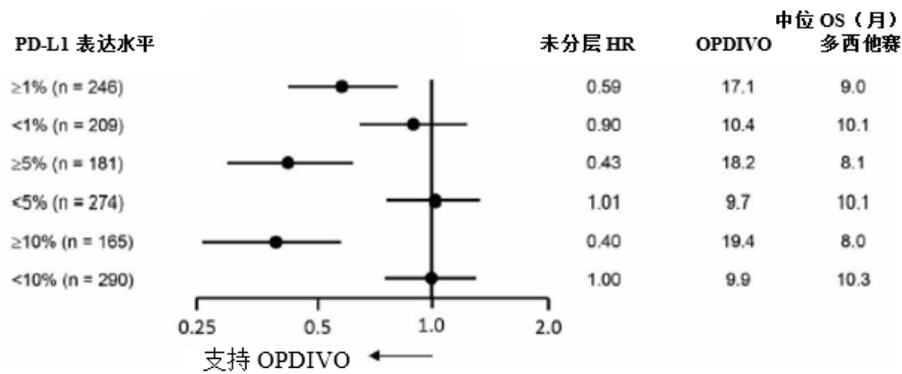
表8: 所有非鳞状NSCLC随机受试者的研究前PD-L1表达的频率- CHECKMATE-057

人群PD-L1表达类别	纳武利尤单抗3 mg/kg (N = 292)	多西他赛 (N = 290)	合计 (N = 582)
总体	292	290	582
基线时可量化的PD-L1 (N (%))	231 (79.1)	224 (77.2)	455 (78.2)
基线时PD-L1表达水平≥1%	123/231 (53.2)	123/224 (54.9)	246/455 (54.1)
基线时PD-L1表达水平< 1%	108/231 (46.8)	101/224 (45.1)	209/455 (45.9)
基线时PD-L1表达水平≥5%	95/231 (41.1)	86/224 (38.4)	181/455 (39.8)
基线时PD-L1表达水平< 5%	136/231 (58.9)	138/224 (61.6)	274/455 (60.2)
基线时PD-L1表达水平≥10%	86/231 (37.2)	79/224 (35.3)	165/455 (36.3)
基线时PD-L1表达水平< 10%	145/231 (62.8)	145/224 (64.7)	290/455 (63.7)

基线时无PD-L1表达水平 (N (%))	61 (20.9)	66 (22.8)	127 (21.8)
-----------------------	-----------	-----------	------------

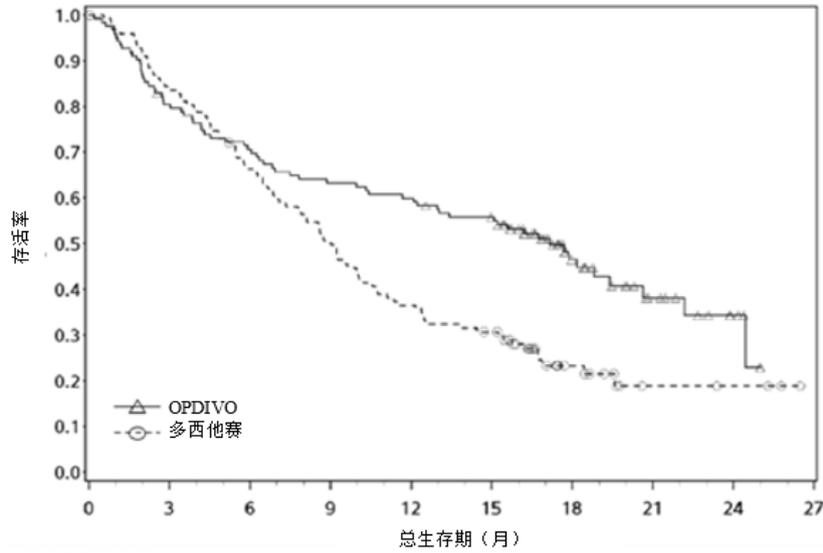
OPDIVO®组中，对于所有PD-L1表达患者（按照预定表达水平），其生存期相较于多西他赛组有所延长，而两组未表达PD-L1的患者的生存期相似。通过PD-L1表达水平进行分析时，纳武利尤单抗亚组中观察到的中位OS显著长于多西他赛亚组。PD-L1表达水平分别为≥1%、≥5%和≥10%的nivolumab受试者的中位OS分别为17.1、18.2和19.4个月，而多西他赛受试者的中位OS则分别为9.0、8.1和8.0个月。2个治疗组之间，表达水平<1%、<5%和<10%的受试者的OS并无差异，中位OS范围介于9.7 - 10.4个月之间，nivolumab；10.1 - 10.3个月之间，多西他赛。未分层的风险比（HR）和中位总生存期（OS）见图1。不同PD-L1表达水平亚组的Kaplan-Meier曲线见图2和图3。

图1：森林图-非鳞状NSCLC患者不同PD-L1表达量的OS - CHECKMATE-057



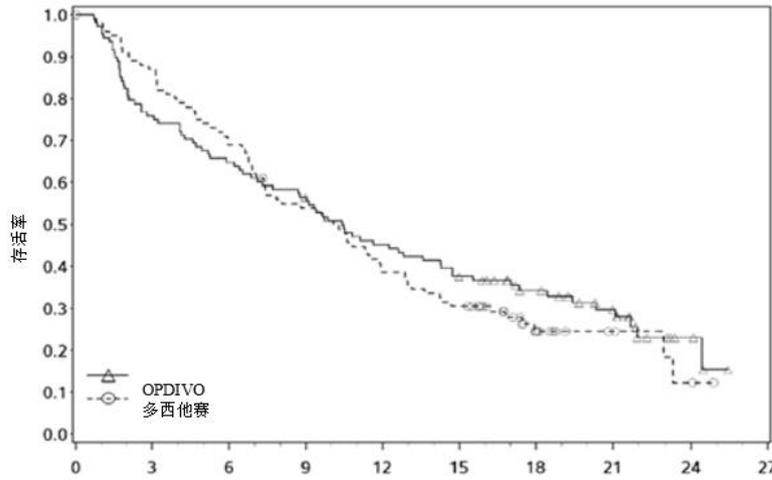
注：在Cox比例风险模型中，对未分层的风险比和相应的95% CI进行估计，使用随机组作为单一协变量

图2: 总生存期- PD-L1表达量 $\geq 1\%$ 的非鳞状NSCLC患者-CHECKMATE-057



具有风险的人数		总生存期 (月)								
OPDIVO	123	98	86	77	73	65	27	13	5	0
多西他赛	123	102	80	61	44	36	13	4	3	0

图3: 总生存期- PD-L1表达量 $< 1\%$ 的非鳞状NSCLC患者-CHECKMATE-057



具有风险的人数		总生存期 (月)								
OPDIVO	108	82	70	60	48	39	26	17	4	0
多西他赛	101	87	69	53	38	30	13	5	2	0

【注意事项】

1. 用于体外诊断。
2. 供专业人员使用。
3. 本产品含有叠氮化钠 (NaN_3)，纯品有较高毒性。该产品中 NaN_3 浓度较低，虽不归类为危险品，但产品中的叠氮化钠可与铅或铜管反应，生成高度易爆的金属叠氮化物积聚物。处置时，用大量水冲洗，以防止管道中金属叠氮化物的蓄积 (8)。
4. 一抗、阴性对照试剂、信号增强剂和显色试剂包含动物来源的材料。
5. 样本 (固定前和固定后) 和与样本接触的所有材料均应按照传播感染类物品进行处理，并且处置时需采取恰当的预防措施 (9)。
6. 使用非规定的孵育时间、温度或方法可能得出错误的结果。
7. 试剂已经最优化稀释。进一步稀释可能导致抗原染色不足。
8. 显色试剂 (液态 DAB+色原和制备好的 DAB-色原溶液) 如果暴露于过强光线下，则可能受到不利影响。不要在强光 (如直射阳光) 下保存系统组分或进行染色。
9. 石蜡残留可能会导致假阴性结果。
10. 使用非推荐量的试剂可能会导致 PD-L1 免疫反应量损失。
11. 大组织切片可能需要 $3 \times 150 \mu\text{L}$ 的试剂。
12. 作为一般性的规则，未满18岁的人员不允许操作本产品。必须向用户认真传达工作规程、产品的危险性质和必要的安全操作指导。请参见安全资料表 (SDS) 了解更多信息。
13. 佩戴恰当的个人防护设备，避免接触眼睛和皮肤。
14. 未使用的溶液应遵照当地，地区，国家和国际法规处置。
15. 可应要求向专业用户提供安全资料表。
16. 美国以外的国家，请参阅当地 OPDIVO 产品获批的适应症和表达临界值来指导治疗。



危险

DAB+底物缓冲液: 含有咪唑

H360	可能损伤未出生的婴儿
P201	使用前，需要专门的操作说明。
P202	操作前，阅读并理解所有安全注意事项。
P280	佩戴防护手套。佩戴防护眼镜或面具。穿防护服。
P308 + P313	如果接触或有疑虑：就医。
P405	上锁保存。
P501	遵照当地、地区、国家和国际法规处置内容物和容器。



危险

DAB+色原: 含3,3'-二氨基联苯胺盐酸

- | | |
|--------------------|--|
| H319 | 导致严重的眼睛刺激。 |
| H350 | 可能致癌。 |
| H341 | 怀疑可能导致基因缺陷。 |
| P201 | 使用前，需要专门的操作说明。 |
| P202 | 操作前，阅读并理解所有安全注意事项。 |
| P280 | 佩戴防护眼镜或面具。 |
| P264 | 操作后彻底洗手。 |
| P308 + P313 | 如果接触或有疑虑：就医。 |
| P305 + P351 + P338 | 如果进入眼睛：仔细水洗几分钟。如果配戴了隐形眼镜且方便取下，取下后继续冲洗。 |
| P337 + P313 | 如果眼睛持续感觉刺激：就医。 |
| P405 | 上锁保存。 |
| P501 | 遵照当地、地区、国家和国际法规处置内容物和容器。 |



警告

DAB增强剂

- | | |
|------|--------------------------|
| H400 | 对水生生物有毒性。 |
| H411 | 对水生生物有毒性，影响长期持续。 |
| P273 | 避免排入环境。 |
| H391 | 收集溢出。 |
| P501 | 遵照当地、地区、国家和国际法规处置内容物和容器。 |



警告

EnVision FLEX低pH值抗原修复液 (50x)

- | | |
|------|------------------|
| H319 | 导致严重的眼睛刺激。 |
| H411 | 对水生生物有毒性，影响长期持续。 |
| P280 | 佩戴防护眼镜或面具。 |

- P273 避免排入环境。
- P264 操作后彻底洗手。
- P305 + P351 + P338 如果进入眼睛：仔细水洗几分钟。如果配戴了隐形眼镜且方便取下，取下后继续冲洗。
- P337 + P313 如果眼睛持续感觉刺激：就医。
- P501 遵照当地、地区、国家和国际法规处置内容物和容器。

【标识的解释】

 产品编号	 温度极限	 体外诊断医疗器械
 制造商	 批次代码	 足够用于<N>次检测
 有效期	 查阅使用说明	 欧盟授权代表

【参考文献】

1. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Targeting the PD-1/B7-H1 (PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity. *Curr Opin Immunol* 2012;24 (2): 207-212.
2. Wang C, Thudium KB, Han M, et al. In vitro characterization of the anti-PD-1 antibody nivolumab, BMS-936558, and in vivo toxicology in non-human primates. *Cancer Immunol Res* 2014;2 (9): 846-56.
3. OPDIVO® package insert.
4. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, et al. Nivolumab versus Docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015; 10.1056/NEJMoa1507643.
5. Phillips T, Simmons P, Inzunza HD, et al. Development of an automated PD-L1 immunohistochemistry (IHC) assay for non-small cell lung cancer. *Appl Immuno Molec Morph* 2015; 23 (8): 541-9.
6. R. Phelps, et al., *Journal of Cellular Biochemistry Supplement* (1996) 24:32-91.
7. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer. *New Eng. J. Med.* 2012; 366 (26): 2455-2465.
8. 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.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4 [ISBN 1-56238-962-9]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 – 1898 USA, 2014.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCCLS). Quality assurance for Design Control and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved guideline. CLSI

document I/LA28-A2; Vol. 31 No. 4 (ISBN 1-56238-745-6) CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 USA; 2011.

11. Taylor CR and Rudbeck L. Education Guide: Immunohistochemical Staining Methods. Sixth Edition. Dako, Carpinteria, California; 2013.

12. Omata M, Liew C-T, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Path 1980; 73:626.

【基本信息】

注册人/生产企业名称：美国丹科北美有限公司

Dako North America, Inc.

住所：6392 Via Real, Carpinteria, CA 93013 United States

生产地址：1170 Mark Ave. Carpinteria, CA 93013 United States

联系方式：

售后服务单位名称：

联系方式：

代理人的名称：安捷伦科技（中国）有限公司

住所：北京市朝阳区望京北路3号研发中心（一期）3层 3-1至3-3室

联系方式：

【医疗器械备注册证编号】

【产品技术要求编号】

【说明书核准日期及修改日期】