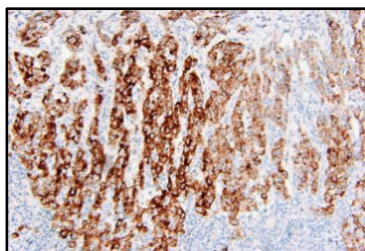


VENTANA anti-ALK (D5F3) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

REF 790-4794

06679072001

IVD  50



Фиг. 1. Анализ за експресия VENTANA anti-ALK (D5F3) при недребноклетъчен белодробен карцином.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

VENTANA anti-ALK (D5F3) Rabbit Monoclonal Primary Antibody е предназначено за лабораторна употреба при качествено откриване на протеина на анапластична лимфомна киназа (ALK) във фиксирана с формалин тъкан в парафин от недребноклетъчен белодробен карцином (NSCLC), оцветен на апаратите BenchMark IHC/ISH. Показано е като помощно средство при идентифициране на пациенти,

отговарящи на условията за лечение с XALKORI® (кризотиниб), ZYKADIA® (церитиниб) или ALECENSA® (алектиниб) или лорлатиниб.

Този продукт трябва да се интерпретира от квалифициран патолог във връзка с хистологично изследване, съответна клинична информация и подходящи контроли.

Това анти тяло е предназначено за *in vitro* диагностична (IVD) употреба.

РЕЗЮМЕ И ОБЯСНЕНИЕ

Протеинът на анапластична лимфомна киназа (ALK) е член от суперсемейството на инсулиновите рецептори на рецепторните тирозин кинази.¹ ALK е тип I мембранен гликопротеин, който нормално се експресира в нервната система.² Генът ALK се намира в хромозома 2p23 и е съставен от 2 големи интрона и 26 екзона.¹ Молекулярна патогенеза, включваща ALK, започва с хромозомни пренареждания, които комбинират 3' кодиращите последователности за ALK вътреклетъчния сигнален домен с 5' промоторните елементи и кодиращите последователности предизвикват свръхекспресия и лиганд-независима олигомеризация на химерните протеини, като това са характеристики, често срещани при човешки неоплазми с фузионен тип протеин тирозин киназа.

Инверсия в хромозома 2p, водеща до образуването на фузионен генен продукт, включващ части от ехинодермалния микротубулен асоцииран протеин-подобен 4 (EML4) ген и гена ALK, е открита през 2007 г. в клетъчни линии на NSCLC и архивирани клинични проби.³ Следваща серия от публикувани проучвания сочи, че събитията на инверсия EML4-ALK произвеждат най-малко 9 каталитично активни варианта на фузионен протеин на киназа, всеки от които съдържа една и съща част от ALK C-терминалния киназен домен.⁴⁻⁸ Както при ALK генни фузии, за първи път идентифицирани при анапластичен едроклетъчен лимфом (ALCL), доказано е, че EML4-ALK фузионният протеин има трансформираща активност. В съответствие с това се съобщава, че експресията на EML4-ALK в белодробни алвеоларни епителни клетки при трансгенни мишки е мощен онкогенен фактор.⁹

КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ

NSCLC е най-честият вид рак на белия дроб. ALK сега се признава за ключов онкогенен фактор при NSCLC и въпреки че EML4 е преобладаващият партньор за фузия, са идентифицирани други фузионни партниращи гени.^{10,11} Честотата на пренарежданията на гена ALK изглежда варира от 2 до 7 %, което се превежда до приблизително 6000 ALK-положителни пациенти годишно в Съединените щати (САЩ) и 40 000 пациенти годишно по целия свят.^{3,4,7}

По-голямата част от пренарежданията на гена ALK при рак на белия дроб са в проби от аденокарцином, а не в тези с плоскоклетъчна или дребноклетъчна хистология.³⁻⁸ Някои доказателства предполагат корелация между пренарежданията на гена ALK и

NSCLC при пациенти със статус „никога или слабо“ тютюнопушене, въпреки че това може да не е статистически значим кофактор.^{3,4,7,9} Важно е да се отбележи, че пренарежданията на гена ALK рядко съвпадат с мутации на EGFR, HER2 или KRAS, демонстрирайки, че положителността за ALK е отделен подтип на заболяването.⁹

XALKORI® е селективен ATP-конкурентен малкомолекулен инхибитор на ALK, ROS1 и c-Met/Hepaticocyte Growth Factor Receptor (HGFR) тирозин кинази и техните онкогенни варианти (напр. ALK или ROS1 фузионни протеини или c-Met/HGFR мутантни варианти). XALKORI® демонстрира зависимо от концентрацията инхибиране на ALK и c-Met фосфорилиране в клетъчно базирани анализи, използващи туморни клетъчни линии. Той също така демонстрира антитуморна активност при мишки, носещи туморен ксенографт, експресиращи EML4- или NPM-ALK фузионни протеини или Met.^{12,13,14}

ZYKADIA® е инхибитор на киназа. Целите на инхибиране на ZYKADIA®, идентифицирани в биохимични или клетъчни анализи при клинично значими концентрации, включват ALK, инсулиноподобен растежен фактор 1 рецептор (IGF-1R), инсулинов рецептор (InsR) и ROS1. Сред тях ZYKADIA® е най-активен спрямо ALK. ZYKADIA® инхибира автофосфорилиране на ALK, демонстрирано инхибиране на ALK-медирано фосфорилиране на сигналния протеин STAT3 надолу по веригата и пролиферацията на ALK-зависими ракови клетки *in vitro* и *in vivo* анализи.

ZYKADIA® инхибира *in vitro* пролиферацията на клетъчни линии, експресиращи EML4-ALK и NPM-ALK фузионни протеини, и демонстрира дозозависимо инхибиране на растежа на EML4-ALK-положителен NSCLC ксенографт при мишки и плъхове.¹⁵

Клиничната значимост на пренарежданията на гена ALK са демонстрирани в рандомизирани, активно контролирани клинични изпитвания на XALKORI®, проведени от Pfizer, и на ZYKADIA®, проведени от Novartis.^{14,15}

ALECENSA® е силно селективен и мощен инхибитор на ALK и RET тирозин киназа, който инхибира вътреклетъчните сигнални пътища, участващи в пролиферацията и оцеляването на туморни клетки и следователно промотира смъртта на раковите клетки и инхибира нарастването и пролиферацията на туморни клетки.¹⁶ Според предклинични данни ALECENSA® не е субстрат на ефлуксните транспортери (PGP или BCRP) в кръвно-мозъчната бариера и следователно може да се разпредели и да се задържи в централната нервна система. ALECENSA® индуцирана туморна регресия в предклинични модели на мишки ксенографти, включително антитуморна активност в мозъка и удължена преживяемост при животински модели с интракраниален тумор.¹⁷ ALECENSA® се понася добре и осигурява контролируем профил на безопасност.¹⁸⁻²⁰

Лорлатиниб е трето поколение селективен, конкурентен на аденозин трифосфат (ATP), проникващ в мозъка нискомолекулярен инхибитор на тирозин киназата на ALK. Той е предназначен да преодолява или предотвратява основните механизми на резистентност, които се развиват след предходно лечение с инхибитор на ALK, и да прониква през кръвно-мозъчната бариера. Лорлатиниб също е и мощен инхибитор на ROS1 тирозин киназа.²¹ *In vitro* лорлатиниб мощно инхибира каталитичната активност на немутирала ALK и на голям набор от клинично значими мутантни ALK кинази, включително такива, които стават причина за резистентност към първо и второ поколение инхибитори на тирозин киназа на ALK.²² Лорлатиниб демонстрира подчертана антитуморна активност при ниски концентрации на наномоларна свободна плазма при животински модели с мутации на ALK, включително такива, които определят резистентност към първо и второ поколение инхибитори на ALK. Лорлатиниб води до свиване на тумора и удължена преживяемост чрез проникване през кръвно-мозъчната бариера и постигане на ефикасна експозиция на мозъка в ортотопични животински модели.^{23,24}

VENTANA anti-ALK (D5F3) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (анализ VENTANA anti-ALK (D5F3)) демонстрира съгласуваност с Abbott Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit (ALK FISH) при определяне на ALK статуса на пациенти с NSCLC. ALK FISH може да представи технически предизвикателства при оценката на резултатите от оцветяването. Интрахромозомните пренареждания могат да бъдат причина за фино разделяне на сигнала, което да доведе до потенциални фалшиви отрицателни резултати.²⁵ Последните проучвания сочат, че IHC е чувствителна и специфична за определяне на ALK статуса и е ключова алтернатива на ALK FISH.^{10,11,25,26,27} Анализът VENTANA anti-ALK (D5F3) и свързаният с него алгоритъм за оценяване е разработен за определяне на ALK статуса в проби от NSCLC.

Малки тъканни проби могат лесно да се използват при рутинна имунохистохимия (IHC), което прави тази техника, в комбинация с анти тяло за откриване на антигени,

важна в интерпретацията на карциноми и ефективен инструмент за патолога при диагноза и прогноза на заболяването. Един важен маркер при NSCLC е ALK.

Интерпретирането на резултатите от оцветяването на тъкани проби с анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) трябва да се направи с помощта на препоръчания алгоритъм за оценяване. Хистологичните тъкани препарати имат предимството на интактна тъканна морфология в помощ на интерпретирането на ALK положителността на пробата. Всички хистологични изследвания трябва да бъдат интерпретирани от патолог, а резултатите трябва да се гарантира осигуряване на морфологични изследвания и подходящи контроли и да се използват във връзка с други клинични и лабораторни данни. Целевите антигени на IHC анализите се влияят от времето на фиксация, вида на фиксатора и възрастта на предметните стъкла със срезове, поради което трябва да се гарантира осигуряване на съвместимост на подготовката на пробата преди оцветяването (вижте Ръководството за интерпретиране за VENTANA anti-ALK (D5F3) Rabbit Monoclonal Primary Antibody за недребноклетъчен белодробен карцином (NSCLC), (P/N 1011879) и раздела „Специфични ограничения“ по-долу).

ПРИНЦИП НА ПРОЦЕДУРАТА

Анализът VENTANA anti-ALK (D5F3) е заешко моноклонално първично анти тяло, което се свързва с ALK във фиксирани във формалин тъкани срези в парафин. Специфичното анти тяло може да се визуализира с помощта на OptiView DAB IHC Detection Kit (кат. номер 760-700 / 06396500001), последван от OptiView Amplification Kit (кат. номер 760-099 / 06396518001 (50 теста) или 860-099 / 06718663001 (250 теста)). Вижте листовките за метода за съответните OptiView DAB IHC Detection Kit и OptiView Amplification Kit за допълнителна информация.

ПРЕДОСТАВЕНИ МАТЕРИАЛИ

Анализът VENTANA anti-ALK (D5F3) съдържа достатъчно реактив за 50 теста.

Един дозатор от 5 mL с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) съдържа приблизително 70 µg заешко моноклонално анти тяло (D5F3).

Анти тялото е разрежено в PBS с транспортен протеин и консервант 0.05 % ProClin 300.

Специфичната концентрация на анти тялото е приблизително 14 µg/mL.

Анализът VENTANA anti-ALK (D5F3) е рекомбинантно заешко моноклонално анти тяло, получено като пречистена супернатанта на клетъчна култура.

Ръководство за интерпретиране на VENTANA anti-ALK (D5F3) Rabbit Monoclonal Primary Antibody за недребноклетъчен белодробен карцином (NSCLC) (P/N 1011879).

Вижте листовката за съответния метод на комплекта за откриване VENTANA за подробни описания на: Принцип на процедурата, Материали и методи, Взимане на проби и подготовка за анализ, Процедури за контрол на качеството, Отстраняване на неизправности, Интерпретиране на резултатите и Ограничения.

НЕОБХОДИМИ, НО НЕПРЕДОСТАВЕНИ МАТЕРИАЛИ

Не са предоставени оцветяващи реактиви, като напр. комплекти за откриване VENTANA и спомагателни компоненти, включително предметни стъкла с отрицателни и положителни тъкани контроли.

Някои от продуктите, изброени в листовката за метода, могат да липсват в някои географски райони. Консултирайте се с местния представител за поддръжка.

Следните реактиви и материали може да са необходими за оцветяване, но да не са предоставени:

1. Проби от човешки апендикс или ALK положителни и ALK отрицателни за недребноклетъчен белодробен карцином проби за употреба като контролна тъкан
2. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (кат. номер 790-4795 / 06683380001)
3. Предметни стъкла за микроскоп, заредени положително
4. OptiView DAB IHC Detection Kit (кат. номер 760-700 / 06396500001)
5. OptiView Amplification Kit (кат. номер 760-099 / 06396518001 (50 теста) или 860-099 / 06718663001 (250 теста))
6. EZ Prep Concentrate (10X) (кат. номер 950-102 / 05279771001)
7. Reaction Buffer Concentrate (10X) (кат. номер 950-300 / 05353955001)
8. LCS (Predilute) (кат. номер 650-010 / 05264839001)
9. ULTRA LCS (Predilute) (кат. номер 650-210 / 05424534001)
10. Cell Conditioning Solution (CC1) (кат. номер 950-124 / 05279801001)
11. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (кат. номер 950-224 / 05424569001)

12. Hematoxylin II (кат. номер 790-2208 / 05277965001)
13. Bluing Reagent (кат. номер 760-2037 / 05266769001)
14. Среда за постоянно закрепване
15. Покриващо стъкло
16. Автоматизирано покриващо предметно стъкло
17. Лабораторно оборудване с общо предназначение
18. Инструмент BenchMark IHC/ISH

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

При получаване и когато не се използва, съхранявайте при 2–8 °C. Не замразявайте.

За да осигурите правилното доставяне на реактива и стабилността на анти тялото, сменяйте капачката на дозатора след всяка употреба и веднага поставяйте дозатора в хладилника в изправено положение.

Всеки дозатор с анти тяло е с обозначен срок на годност. Когато се съхранява правилно, реактивът е стабилен до датата, посочена на етикета. Не използвайте реактива след срока на годност.

ПОДГОТОВКА НА ПРОБАТА

Рутинно обработени фиксирани с формалин тъкани в парафин (ФФТП) са подходящи за употреба с това първично анти тяло при използване с комплекти за откриване VENTANA и апарати BenchMark IHC/ISH.

Въз основа на модели на ксенографт, генерирани от NCI-H2228 човешка NSCLC клетъчна линия, която е положителна за ALK, препоръчителната фиксация на тъкан е 10 % неутрален буфериран формалин (NBF) за най-малко 6 часа. Време за фиксация по-малко от 6 часа може да доведе до значителна загуба на наситеност на оцветяването за ALK. Цинков формалин фиксатор също е приемлив за време на фиксация от най-малко 6 часа. Използваното количество трябва да бъде 15 до 20 пъти обема на тъканта. Никой фиксатор няма да проникне в повече от 2 до 3 mm солидна тъкан или 5 mm пореста тъкан за период от 24 часа. Фиксацията може да се извърши при стайна температура (15–25°C).^{28,29}

Фиксатори, като алкохол формалин оцетна киселина (AFA), фиксатор PREFER, B5 и други фиксатори, съдържащи киселина и/или алкохол, са показали загуба на наситеност на оцветяването за ALK при всички тествани времена на фиксация (от 1 до 72 часа). Тези фиксатори не се препоръчват за употреба с този анализ. Проучванията за забавяне на фиксацията също показват загуба на наситеност на оцветяването за ALK, когато пробите от ксенографт не са фиксирани в рамките на 6 часа след експозиция. Вижте ръководството за интерпретиране за по-нататъшно обсъждане на въздействието на подготовката на пробите върху наситеността на оцветяването на ALK.

Срезите трябва да се нарежат с дебелина приблизително 4 µm и да се монтират върху положително заредени стъклени предметни стъкла. Предметните стъкла трябва да се оцветяват едновременно, тъй като антигенността на отрязаните тъкани срезове може да намалее с времето и да бъде компрометирана 3 месеца след отрязването от парафиновия блок (вижте ръководството за интерпретиране и раздела „Работни характеристики“ по-долу).

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. За in vitro диагностична (IVD) употреба.
2. Само за професионална употреба.
3. Не използвайте за повече от определения брой тестове.
4. **ВНИМАНИЕ:** В САЩ федералният закон ограничава продажбата на това изделие от или по указание на лекар. (Rx Only)
5. В този реактив разтворът ProClin 300 се използва като консервант. Той е класифициран като иритант и може да причини сенсibiliзация при контакт с кожата. При работа вземете разумни предпазни мерки. Избягвайте контакт на реактивите с очите, кожата и лигавиците. Използвайте защитно облекло и ръкавици.
6. Положително заредените предметни стъкла могат да бъдат податливи на въздействията на околната среда, което да доведе до неподходящо оцветяване. Попитайте представител на Roche за повече информация относно употребата на този тип предметни стъкла.
7. Материалите от човешки или животински произход трябва да се третират като биологично опасни материали и да се изхвърлят при подходящи предпазни мерки. В случай на експозиция трябва да се спазват здравните директиви на отговорните органи.^{30,31}

8. Избягвайте контакт на реактивите с очите и лигавиците. Ако реактивите влязат в контакт с чувствителни зони, измийте обилно с вода.
9. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, тъй като това може да доведе до неправилни резултати.
10. За допълнителна информация относно употребата на това изделие вижте Ръководството на потребителя за инструмента BenchMark IHC/ISH, както и инструкциите за използване на всички необходими компоненти, на адрес dialog.roche.com.
11. Консултирайте се с местните и/или държавните органи относно препоръчания метод за изхвърляне.
12. Етикетирането за безопасност на продуктите следва основно насоките на ЕС за GHS. Информационен лист за безопасност е на разположение на професионалния потребител при поискване.
13. За да съобщите подозирани сериозни инциденти, свързани с това изделие, свържете се с местния представител на Roche и компетентния орган на държавата членка или държавата, в която е установен потребителят.

Този продукт съдържа компоненти, класифицирани, както следва, в съответствие с Регламент (ЕО) № 1272/2008:

Таб. 1. Информация за опасност.

Опасност	Код	Изявление
	H317	Може да причини алергична кожна реакция.
	P261	Избягвайте вдихване на мъгла или пари.
	P272	Замърсеното работно облекло не трябва да се допуска извън работното място.
	P280	Носете защитни ръкавици.
	P333 + P313	Ако се появи дразнене на кожата или обрив: Потърсете медицински съвет/помощ.
	P362 + P364	Свалете замърсеното облекло и го изперете преди повторна употреба.
	P501	Изхвърлете съдържанието/контейнера в одобрено депо за обезвреждане на отпадъци.

Този продукт съдържа CAS # 55965-84-9, реакционна маса от: 5-хлоро-2-метил-2Н-изотиазол-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).

ПРОЦЕДУРА НА ОЦВЕТЯВАНЕ

Анализът VENTANA anti-ALK (D5F3) е разработен за употреба на апарати BenchMark IHC/ISH в комбинация с Rabbit Monoclonal Negative Control Ig, OptiView DAB IHC Detection Kit, OptiView Amplification Kit и спомагателни реактиви. Вижте таблиците по-долу за препоръчителни протоколи за оцветяване.

Това анти тяло е оптимизирано за специфично време на инкубация, но потребителят трябва да потвърди резултатите, получени с този реактив. Отклонение от протокола за оцветяване в Таб. 2, Таб. 3 или Таб. 4 може да доведе до фалшиво положителни или фалшиво отрицателни резултати. За апарата BenchMark ULTRA е разработена ALK-специфична процедура на оцветяване, **U VENTANA ALK (D5F3)**. Преди избиране на условията на протокола от ALK-специфичната процедура за оцветяване апаратът BenchMark ULTRA трябва да има софтуер VSS 12.3 с процедура на оцветяване OptiView v5 или по-нова.

Параметрите за автоматизираните процедури могат да бъдат показани, отпечатани и редактирани в съответствие с процедурата в Ръководството на потребителя за апарата. Вижте съответната листовка за метод на комплекта за откриване VENTANA за повече подробности относно процедурите за оцветяване с имунохистохимия.

За повече подробности относно правилната употреба на това изделие вижте листовката за метод за вграден дозатор, свързан с P/N 790-4794.

Таб. 2. Препоръчителен протокол за оцветяване за анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) и Rabbit Monoclonal Negative Control Ig с OptiView DAB IHC Detection Kit и OptiView Amplification Kit на апарат BenchMark ULTRA или BenchMark ULTRA PLUS.

Процедура на оцветяване	U VENTANA ALK (D5F3)
Стъпка от протокола	Въвеждане на параметър
Анти тяло (първично)	VENTANA ALK AB – 16 мин. (Ако не е избран реактив, по подразбиране ще бъде 4794) -4794 -4796 -7155 -7157 (Изберете реактив по-горе в зависимост от региона на дистрибутиране.) или Negative Control
	Контраст Hematoxylin II, 4 минути
	След контраст Bluing, 4 минути

Таб. 3. Препоръчителен протокол за оцветяване за анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) и Rabbit Monoclonal Negative Control Ig с OptiView DAB IHC Detection Kit и OptiView Amplification Kit на апарат BenchMark XT.

Тип на процедурата	Метод
Опция за синхронизация на IHC	Избрана ^a
Депарафинизация	Избрана
Кондициониране на клетките (разкриване на антиген)	CC1, 92 минути, 100 °C
Предварителен пероксидазен инхибитор	Избрана
Анти тяло (първично)	Ventana anti-ALK (D5F3) [-4794] или Rabbit Mono Neg [-4795] 16 минути, 37 °C
OptiView HQ Univ Linker	12 минути
OptiView HRP Multimer	12 минути
OptiView Amplification	Избрана
OV AMP H2O2, OV Amplifier	8 минути
OV AMP Multimer	8 минути
Контраст	Hematoxylin II, 4 минути
След контраст	Bluing, 4 минути

^a Тази избираема стъпка е приложима само при използване на XT OptiView DAB v4 и не е налична с предишни версии на софтуера.

Таб. 4. Препоръчителен протокол за оцветяване за анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) и Rabbit Monoclonal Negative Control Ig с OptiView DAB IHC Detection Kit и OptiView Amplification Kit на апарат BenchMark GX.

Тип на процедурата	Метод
Депарафинизация	Избрана

Тип на процедурата	Метод
Кондициониране на клетките (разкриване на антиген)	CC1, 92 минути, 100 °C
Предварителен пероксидазен инхибитор	Избрана
Антитяло (първично)	Ventana anti-ALK (D5F3) [-4794] или Rabbit Mono Neg [-4795] 16 минути, 37 °C
OptiView HQ Univ Linker	12 минути
OptiView HRP Multimer	12 минути
OptiView Amplification	Избрана
OV AMP H2O2, OV Amplifier	8 минути
OV AMP Multimer	8 минути
Контраст	Hematoxylin II, 4 минути
След контраст	Bluing, 4 минути

Поради вариация във фиксацията и обработката на тъканите, както и в общите лабораторни инструменти и условията на околната среда, може да се наложи да се увеличи или намали инкубацията на първични антитела, кондиционирането на клетките или предварителната обработка с протеаза въз основа на отделни проби, използването откритие и предпочитанията на четеца. За повече информация относно променливите на фиксация вижте „Immunohistochemistry Principles and Advances“.³²

ПРОЦЕДУРИ ЗА КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

Rabbit Monoclonal Negative Control Ig

За всяка проба трябва да се пусне предметно стъкло със съответстваща отрицателна контрола на реактива, за да се подпомогне интерпретирането на резултатите. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig, антитяло за отрицателна контрола на реактива, е специално комбинирано с този анализ и се използва вместо първичното антитяло за оценка на неспецифичното оцветяване. Процедурата на оцветяване за отрицателната контрола на реактива трябва да бъде равна на периода на инкубиране за първичното антитяло. Употребата на различна отрицателна контрола на реактива или неизползването на препоръчаната отрицателна контрола на реактива може да доведе до фалшиви резултати.

Контроли на системно ниво

Контролите на системно ниво трябва да се изпълняват с проби от пациенти. Те могат да бъдат или човешки апендикс³³, или известни ALK-положителни/отрицателни тъканни проби от NSCLC.

Контролната тъкан трябва да бъде от аутопсия, биопсия или хирургични проби, приготвени и фиксирани възможно най-скоро по начин, идентичен с тестовите срези. Такава тъкан може да проследява всички стъпки на анализа – от подготовката на тъканта до оцветяването. Използване на тъканен срез, фиксиран или обработен по различен начин от тестовата проба, осигурява контрол за всички реактиви и етапи на метода, с изключение на фиксацията и подготовката на тъканите.

Апендикс или ALK-положителни/отрицателни NSCLC тъканни контроли

ALK-положителна и ALK-отрицателна контролна тъкан трябва да се пускат с всяка провеждана процедура на оцветяване с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3).

Случаите на NSCLC с оцветяване, представително за клинично ALK-положителни и клинично ALK-отрицателни резултати, са подходящи за оптимален контрол на качеството, включително откриване на незначителни нива на разграждане на реактива или проблеми с апарата извън спецификацията.

Тъканта от човешки апендикс съдържа положителни и отрицателни елементи на оцветяване за ALK протеина и също така е подходяща за използване като контрола на системно ниво. Тъканните компоненти с положително оцветяване се използват, за да се потвърди, че антитялото е приложено и апаратът функционира правилно.

Елементите с отрицателно оцветяване се използват за откриване на незначителни нива на разграждане на реактива или проблеми с апарата извън спецификацията. Подходящото оцветяване на компонентите от тъкани ALK положителни и отрицателни за NSCLC и тъкани от апендикс е описано в Таб. 5 и Таб. 6 и в ръководството за интерпретиране.

Известни положителни и известни отрицателни тъканни контроли, използвани за проследяване на ефективността на анализа за ALK върху проби от пациенти, трябва да бъдат фиксирани и обработени по същия начин, като пробата от пациента. В противен случай тъканните контроли могат да се използват само за проследяване на правилното функциониране на тестовите реактиви. Тъканните контроли не трябва да се използват в помощ на диагностицирането на проби от пациенти.

Проверка на анализа

Преди първоначалната употреба на антитяло или система за оцветяване в диагностична процедура, специфичността на антитялото трябва да бъде проверена, като се тества върху серия от тъкани с известни работни характеристики при IHC за представяне на ALK-положителни и отрицателни тъкани (вижте Процедури за контрол на качеството, описани по-рано в този раздел на листовката на продукта, и препоръките за Контрол на качеството от College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist³⁴ или CLSI Approved Guideline³⁵). Тези процедури за контрол на качеството трябва да се повтарят за всяка нова партида антитяло или когато има промяна в параметрите на анализа. Тъкани от NSCLC с известен ALK статус или проби от човешки апендикс са подходящи за проверка на анализа.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ НА ОЦВЕТЯВАНЕТО / ОЧАКВАНИ РЕЗУЛТАТИ

Автоматизираната процедура за имунооцветяване на VENTANA води до утаяване на оцветен в кафяво DAB реакционен продукт на преципитат на антигенните места, локализиран от анализа VENTANA anti-ALK (D5F3). Квалифициран патолог с опит в процедурите на IHC трябва да оцени отрицателните контроли на реактивите, контролите на системно ниво и да квалифицира оцветения продукт, преди да интерпретира резултатите.

Положителни/отрицателни тъканни контроли на системно ниво

Оцветените положителни и отрицателни тъканни контроли трябва да бъдат изследвани, за да се установи, че всички реактиви функционират правилно. Наличието на подходящо оцветен реакционен продукт върху положителната контролна тъкан в цитоплазмата на целевите клетки е показателно за положителна реактивност.

Ако положителните или отрицателните тъканни контроли не успеят да демонстрират подходящо оцветяване или демонстрират промяна в клиничната диагностична интерпретация, всички резултати от тестовите проби трябва да се считат за невалидни.

Таб. 5. Критерии за оценка на тъканна контрола от апендикс. Представителни изображения са предоставени в ръководството за интерпретиране.

Приемливи	Неприемливи
Наличие на силно гранулирано цитоплазмено оцветяване в ганглийни клетки. (Вижте бележката)	Отсъствие на силно гранулирано цитоплазмено оцветяване в ганглийни клетки.
Отсъствие на силно гранулирано цитоплазмено оцветяване в жлезисти епителни клетки, мускули и лимфоидна тъкан (оскъдно или рядко оцветяване на лимфоретикуларни клетки може да се наблюдава в лимфоидни агрегати).	Прекомерно неспецифично фоново оцветяване на жлезисти епителни клетки, мускулна или лимфоидна тъкан, което пречи на оценката.

Забележка: Нервът в мускулните слоеве на апендикса показва положително оцветяване.

Отрицателна реактивна контрола

Неспецифичното оцветяване, ако има такова, ще бъде с дифузен вид и може да бъде оценено, като се използва предметно стъкло с отрицателна контрола на реактива, оцветено с Rabbit Monoclonal Negative Control Ig. За интерпретиране на резултатите от оцветяването трябва да се използват интактни клетки, тъй като некротични или дегенерирали клетки често се оцветяват неспецифично. Ако

фоновото оцветяване е прекомерно, резултатите от тестовата проба трябва да се считат за невалидни. Примери за приемливи нива на фонове оцветяване за този анализ могат да бъдат намерени в ръководството за интерпретиране.

Тъкан от пациента

Тъканта на пациента трябва да бъде оценена съгласно алгоритъма за оценяване на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3), предоставен в Таб. 6. Вижте ръководството за интерпретиране.

Таб. 6. Алгоритъм за оценяване за анализ VENTANA anti-ALK (D5F3).

Представителни изображения са предоставени в ръководството за интерпретиране.

Клинично интерпретиране	Описание на оцветяването
Положително за ALK	Наличие на силно гранулирано цитоплазмено оцветяване в туморни клетки (всякакъв процент положителни туморни клетки). Някои елементи на оцветяване трябва да бъдат изключени, включително: • леки цитоплазмени петна в алвеоларни макрофаги, • клетки от нервен произход (нервни и ганглийни клетки), • оцветяване на жлезист епител и • разпръснати лимфоретикуларни клетки в лимфоцитни инфилтрати. Също така известно фонове оцветяване може да се наблюдава в нормалната лигавица при NSCLC (включително муцин) и в некротични туморни зони, което трябва да бъде изключено от клиничната оценка.
Отрицателно за ALK	Отсъствие на силно гранулирано цитоплазмено оцветяване в туморни клетки.

СПЕЦИФИЧНИ ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Този анализ не е валидиран за употреба с цитологични намазки или декалцифицирани проби.
2. Пациентската тъкан трябва да бъде оцветена в рамките на 3 месеца от нарязването от тъканния блок. При оцветяване с анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) на срези, които са били съхранявани при стайна температура по-дълго от 3 месеца, е наблюдавана загуба на работно оцветяване.
3. С анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) са забелязани някои артефакти на оцветяване. Слабо гранулирани цитоплазмени петна в алвеоларните макрофаги могат да присъстват както на оцветените предметни стъкла с anti-ALK, така и на оцветените предметни стъкла с отрицателна контрола на реактива, което показва, че това е артефакт на системата за откриване и не трябва да се оценява като anti-ALK положително оцветяване. В допълнение, точковидно оцветяване е наблюдавано върху некротични туморни зони и такова оцветяване също трябва да се пренебрегва по време на оценката на пробата на пациента. С анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) е наблюдавано оцветяване на нервна тъкан, включително нерви, и понякога на лимфоретикуларни клетки в лимфоцитния инфилтрат. Вижте ръководството за интерпретиране за по-нататъшно обсъждане.
4. Може да се наблюдава лека променливост в общата наситеност на оцветяването на тъканните контроли поради OptiView Amplification Kit. Вижте ръководството за интерпретиране за примери на допустима ефективност на оцветяване.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

АНАЛИТИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ

Проведени са тестове с оцветяване за чувствителност, специфичност, точност и сравнение на методите, като резултатите са изброени по-долу.

Чувствителност и специфичност

Таб. 7. Чувствителността/специфичността на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) е определена чрез тестване на нормални ФТП тъкани.

Тъкан	Брой положителни/общо случаи	Тъкан	Брой положителни/общо случаи
Главен мозък ^a	0/3	Тимус	0/3
Малък мозък	0/3	Миелоид (костен мозък)	0/3
Надбъбречна жлеза	0/3	Бял дроб	0/3
Яйчник	0/3	Сърце	0/3
Панкреас	0/3	Хранопровод	0/3
Парацитовидна жлеза	0/3	Стомах	0/3
Хипофизна жлеза ^b	0/3	Тънко черво ^c	0/3
Тестис	0/3	Дебело черво ^c	0/3
Щитовидна жлеза	0/3	Черен дроб	0/3
Гърда	0/3	Слюнчена жлеза	0/3
Далак	0/3	Бъбрек	0/3
Сливца	0/3	Простата	0/3
Ендометриум	0/3	Цервикс	0/3
Скелетен мускул	0/4	Кожа	0/3
Нерв (малко количество)	0/3	Мезотел	0/3

^a 2/3 Няколко глиални клетки в главния мозък показват слаба до умерена положителност.

^b 3/3 Хипофизната жлеза е слабо оцветена.

^c Ганглийни клетки в 4/6 чревни тъкани са оцветени положително за ALK с вариращ интензитет.

Таб. 8. Чувствителността/специфичността на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) е определена чрез тестване на редица ФТП.

Патология	Брой положителни/общо случаи
Глиобластом (главен мозък)	0/1
Менингиом (главен мозък)	0/1
Епендимом (главен мозък)	0/1
Олигодендроглиом (главен мозък)	0/1
Серозен аденокарцином (яйчник)	1/1
Аденокарцином (яйчник)	0/1
Невроендокринно новообразуване (панкреас)	0/1
Аденокарцином (панкреас)	0/1
Семини (тестис)	0/1
Ембрионален карцином (тестис)	0/1

Патология	Брой положителни/общо случаи
Медуларен карцином (щитовидна жлеза)	0/1
Папиларен карцином (щитовидна жлеза)	0/1
Дуктален карцином in situ (гърда)	0/1
Инвазивен дуктален карцином (гърда)	0/2
В-клетъчен лимфом; NOS (далак)	0/3
Дребноклетъчен карцином (бял дроб)	0/1
Плоскоклетъчен карцином (бял дроб)	0/1
Аденокарцином (бял дроб)	0/1
Плоскоклетъчен карцином (хранопровод)	0/1
Аденокарцином (хранопровод)	0/1
Муцинозен аденокарцином (стомах)	0/1
Аденокарцином (стомашно-чревен)	0/1
Стомашно-чревен стромален тумор (GIST) (дебело черво)	0/1
Аденокарцином (ректум)	0/1
Стомашно-чревен стромален тумор (GIST) (ректум)	0/1
Хепатоцелуларен карцином (черен дроб)	0/1
Хепатобластом (черен дроб)	1/1
Ясноклетъчен карцином (бъбрек)	0/1
Аденокарцином (простата)	0/2
Лейомиом (матка)	0/1
Аденокарцином (матка)	0/1
Ясноклетъчен карцином (матка)	0/1
Плоскоклетъчен карцином (матка)	0/2
Ембрионален рабдомиосарком	0/1
Меланом (анус)	0/1
Базоцелуларен карцином (кожа)	0/1
Плоскоклетъчен карцином (кожа)	0/1
Неврофиброма (лумбална част на гръбначния стълб)	0/1
Невробластом (ретроперитонеум)	1/1
Мезотелиом	0/1
Ходжкинов лимфом (лимфен възел)	0/1
Анапластичен едроклетъчен лимфом (лимфен възел)	0/1
Уротелиален карцином (пикочен мехур)	0/1
Лейомиосарком	0/2
Остеосарком	0/1

Патология	Брой положителни/общо случаи
Вретенovidно-клетъчен рабдомиосарком	0/1

Съгласуване на платформи (мостово проучване)

Анализът VENTANA anti-ALK (D5F3) първоначално е пуснат на апарати BenchMark XT и GX. За да се демонстрира еквивалентно функциониране на анализа на апаратите BenchMark ULTRA и BenchMark XT, беше проведено мостово проучване. Това проучване е оценило клиничния ALK статус (според алгоритъма за ALK оценяване от Таб. 6) при 184 отделни проби от NSCLC, оцветени с анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) на двете платформи. Получените оцветени предметни стъкла бяха заслепени и рандомизирани, след което оценени от трима патолози. Резултатите за съгласуване на платформите за това проучване могат да бъдат намерени в Таб. 9 и Таб. 10.

Таб. 9. Резултати за съгласуване между апаратите BenchMark XT и BenchMark ULTRA.

Съгласуване на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) между апаратите BenchMark ULTRA и BenchMark XT			
BenchMark ULTRA	BenchMark XT		Общо
	Положителни	Отрицателни	
Положителни	85	1	86
Отрицателни	1	97	98
Общо	86	98	184

Таб. 10. Съгласуване на ALK статуса между апаратите BenchMark XT и BenchMark ULTRA.

Проценти на съгласуване съответствие за платформи	Положителен процент на съответствие (95 % CI)	Процент отрицателно съответствие (95 % CI)	Общ процент на съответствие (95 % CI)
Съгласуване между апарат BenchMark XT и апарат BenchMark ULTRA	98.8 % (93.7–99.8 %)	99.0 % (94.4–99.8 %)	98.9 % (96.1–99.7 %)

Дебелина на тъканта

Дебелината на тъканта е оценена с помощта на 4 отделни случая на човешки NSCLC (3 ALK-положителни и 1 ALK-отрицателен) и 4 отделни случая на човешки апендикс. Тъканите бяха нарязани и тествани в два екземпляра при 3, 4, 5, 6 и 7 микрона. Всички дебелини на тъканите показаха подходящо специфично оцветяване за ALK и подходящи фонове нива с анализа VENTANA anti-ALK (D5F3). Нито една проба не показва промяна в клиничния ALK статус в рамките на този диапазон от дебелина. Пробите трябва да бъдат нарязани на 4–6 микрона за анализа.

Проучвания за повторемост и междинна точност

Повторемостта и междинната точност на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) бяха оценени на апаратите BenchMark ULTRA, XT и GX в комбинация с комплектите OptiView DAB IHC Detection и OptiView Amplification.

Десет отделни тъканни проби от NSCLC (5 ALK-положителни и 5 ALK-отрицателни) бяха оценени както на апарата BenchMark XT, така и на апарата BenchMark ULTRA. За точност в рамките на деня 5 дублирани предметни стъкла от всяка от пробите от NSCLC бяха оцветени на един единствен апарат BenchMark XT или на един единствен апарат BenchMark ULTRA. За точност в рамките на апарата 3 дублирани предметни стъкла от всяка от пробите от NSCLC бяха оцветени с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) на три апарата BenchMark XT, докато 2 дублирани предметни стъкла от всяка от пробите от NSCLC бяха оцветени на три апарата BenchMark ULTRA. За точност между дните 2 дублирани предметни стъкла от всяка от пробите от NSCLC бяха оцветени с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) на един единствен апарат BenchMark XT или BenchMark ULTRA в рамките на 5 непоследователни дни. Всички

предметни стъкла бяха заслепени, рандомизирани във всяка кохорта от тъкан на апарата. Всяка кохорта беше оценена индивидуално от патолог, използвайки алгоритъма за оценяване на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) (предоставен в Таб. 6). Всяка дублирана проба от NSCLC е дала еквивалентни резултати на IHC оцветяване за ALK. Обобщение на резултатите за повторяемост и междинна точност за апаратите BenchMark XT и BenchMark ULTRA може да се намери съответно в Таб. 11 и Таб. 12.

Проведено е междуплатформено проучване, сравняващо ефективността на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) на апаратите BenchMark XT и BenchMark GX. В това проучване бяха оценени два многотъканни блока, всеки съдържащ 8 проби от NSCLC (3 ALK-положителни, 1 ALK-отрицателен на блок). За това сравнение бяха оцветени 5 репликални предметни стъкла на три апарата BenchMark XT и три апарата BenchMark GX. Тези предметни стъкла бяха оценени за подходящо оцветяване въз основа на алгоритъма за IHC оценяване на VENTANA anti-ALK (D5F3), който се намира в Таб. 6. Всяка дублирана проба от NSCLC е дала еквивалентни резултати на IHC оцветяване за ALK между двете платформи. Обобщение на резултатите може да се намери в Таб. 13.

В допълнение беше оценена и повторяемостта на оцветяването с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) на човешки апендикс (контрол на системно ниво). За това проучване са използвани осем отделни тъкани от човешки апендикс. За точност в рамките на деня са оцветени 13 дублирани предметни стъкла от два многотъканни блока, съдържащи 4 проби от апендикс, на един единствен апарат BenchMark XT. За точност между апаратите 5 дублирани предметни стъкла от два многотъканни блока, съдържащи 4 проби от апендикс, са оцветени с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) на три апарата BenchMark XT. За точност между дните 5 дублирани предметни стъкла от всяко едно от два многотъканни блока, съдържащи 4 проби от апендикс, са оцветени с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) на един единствен апарат BenchMark XT в рамките на 5 непоследователни дни. Всички предметни стъкла са оценени от патолог, използвайки ръководството за оценка на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) за контролна тъкан от апендикс (предоставено в Таб. 5). Всяка дублирана проба от апендикс е дала еквивалентни резултати на IHC оцветяване за ALK. Общият процент на съответствие за повторяемост в рамките на деня и между апаратите (при 3 апарата) е 100 %, докато повторяемостта между дните (в рамките на 5 непоследователни дни) е 98 %.

Таб. 11. Повторяемост и междинна точност на анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) върху отделни проби от NSCLC, оцветени на апарата BenchMark XT.

Повторяемост/точност за тъкан от NSCLC	N = общ брой предметни стъкла, оценени в кохортата	Общ процент на съответствие за ALK статус (95 % CI)
Повторяемост в рамките на деня	50	100 % (97.5–100 %)
Точност в рамките на платформата (на 3 апарата BenchMark XT)	60	100 % (97.9–100 %)
Точност между дните (5 непоследователни дни)	100	100 % (98.7–100 %)

Таб. 12. Повторяемост и междинна точност на анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) върху отделни проби от NSCLC на апарата BenchMark ULTRA.

Повторяемост/точност за тъкан от NSCLC	N = общ брой предметни стъкла, оценени в кохортата	Общ процент на съответствие за ALK статус (95 % CI)
Повторяемост в рамките на деня	50	100 % (92.9–100.0 %)
Точност в рамките на платформата (на 3 апарата BenchMark ULTRA)	60	100 % (94.0–100.0 %)

Повторяемост/точност за тъкан от NSCLC	N = общ брой предметни стъкла, оценени в кохортата	Общ процент на съответствие за ALK статус (95 % CI)
Точност между дните (5 непоследователни дни)	100	100 % (96.3–100.0 %)

Таб. 13. Точност между платформите на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) на многотъканен блок с проби от NSCLC с апаратите BenchMark XT и BenchMark GX.

Точност за тъкан от NSCLC	N = общ брой предметни стъкла, оценени в кохортата	Общ процент на съответствие за ALK статус
Точност между платформите за апарата BenchMark XT спрямо BenchMark GX (на 3 апарата)	30	100 %

Възпроизводимост при различни партии

Възпроизводимостта при различните партии на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) е определена чрез тестване на три партии от анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) при 38 отделни случая на NSCLC (21 ALK-положителни проби (от 18 отделни случая) и 20 ALK-отрицателни проби от NSCLC тъкан) на апарата BenchMark XT чрез комплектите OptiView DAB IHC Detection и OptiView Amplification. Всички случаи са оцветени в два екземпляра с всяка от трите партии първично анти тяло. Предметните стъкла са заслепени и рандомизирани преди оценката за клиничен статус, както е определено от алгоритъма за оценяване на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) (предоставен в Таб. 6). И трите партии анти тяло демонстрират повече от 90 % съгласувани резултати на оцветяване за ALK статус в 41 оценени тъканни проби от NSCLC. Резултатите са отчетени като честоти на общ процент на съответствие, средно положително съответствие и средно отрицателно съответствие. Честотата на общия процент на съответствие между партидите е 99.2 %, следователно анализът VENTANA anti-ALK (D5F3) е възпроизводим по отношение на резултатите за оцветяване при различни партии анти тяла. Резултатите могат да бъдат намерени в Таб. 14.

Възпроизводимостта при различните партии на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) с апарата BenchMark ULTRA е определена чрез тестване на три партии от анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) при 30 отделни случая на NSCLC (15 ALK-положителни проби и 15 ALK-отрицателни проби на тъкан от NSCLC) чрез комплектите OptiView DAB IHC Detection и OptiView Amplification. Всички случаи са оцветени в два екземпляра с всяка от трите партии първично анти тяло. Предметните стъкла са заслепени и рандомизирани преди оценката за клиничен статус, както е определено от алгоритъма за оценяване на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) (предоставен в Таб. 6) от патолог. И трите партии анти тяло демонстрират повече от 90 % съгласувани резултати на оцветяване за ALK статус в 30 оценени тъканни проби от NSCLC. Резултатите са отчетени като честоти на общ процент на съответствие, средно положително съответствие и средно отрицателно съответствие. Честотата на общия процент на съответствие между партидите е 99.1 %, следователно анализът VENTANA anti-ALK (D5F3) е възпроизводим по отношение на резултатите за оцветяване при различни партии анти тяла. Резултатите могат да бъдат намерени в Таб. 15.

Възпроизводимостта при различните партии на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) също така е оценена с помощта на 12 отделни проби с тъкан от човешки апендикс. Възпроизводимостта е определена чрез тестване на три партии анти тяло в комбинация с три партии комплекти OptiView DAB IHC Detection и OptiView Amplification на три апарата BenchMark XT. Степента на общо съответствие за подходящи положителни и отрицателни оцветяващи се елементи на апендикса при използване на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) беше 100 %.

Таб. 14. Проценти на съответствие за възпроизводимост при различните партии при 41 тъканни проби от NSCLC на апарата BenchMark XT. Тествани са двадесет и една ALK-положителни проби (от 18 отделни случая) и 20 ALK-отрицателни проби.

Проценти на съответствие за възпроизводимост между партидите	Средно положително съответствие (95 % CI)	Средно отрицателно съвпадение (95 % CI)	Общ процент на съответствие (95 % CI)
Средна стойност на трите сравнения между партиди	99.2 % (97.4–100 %)	99.1 % (96.8–100.0 %)	99.2 % (97.5–100 %)

Таб. 15. Проценти на съответствие за възпроизводимост при различните партии при 30 тъканни проби от NSCLC на апарата BenchMark ULTRA. Тествани са петнадесет ALK-положителни проби и 15 ALK-отрицателни проби.

Проценти на съответствие за възпроизводимост между партидите	Положителен процент на съответствие (95 % CI)	Процент отрицателно съответствие (95 % CI)	Общ процент на съответствие (95 % CI)
Средна стойност на трите сравнения между партиди	98.9 % (96.8–99.6 %)	99.3 % (97.3–99.8 %)	99.1 % (97.9–99.6 %)

Проучвания за прецизност на четеца

Проведени са няколко проучвания за прецизност на четеца: две проучвания на апарата BenchMark XT и едно на апарата BenchMark ULTRA.

В проучването за прецизност на четеца на BenchMark XT трима патолози оценява общо 185 отделни случая. 185-те случая са съответствали на 100 ALK-положителни и 100 ALK-отрицателни блокове, които са оцветени с анализа VENTANA anti-ALK (D5F3). Случаите са заслепени и рандомизирани преди оценката за резултатите от IHC оцветяване на ALK по алгоритъма за оценяване на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3), предоставен в Таб. 6. Резултатите, предоставени в Таб. 16 по-долу, отразяват процентите на прецизност на четеца за отделни случаи от кохортата на проучването.

Таб. 16. Проучване за прецизност на четеца 1 на апарата BenchMark XT

Прецизност на четеца	Средно положително съответствие (95 % CI)	Средно отрицателно съвпадение (95 % CI)	Общ процент на съответствие (95 % CI)
Средна стойност на сравненията от трите четеца	98.8 % (97.3–100 %)	99.0 % (97.7–100 %)	98.9 % (97.4–100 %)

Проучване за прецизност на четеца 2 на BenchMark XT е проведено на кохорта от случаи от рандомизирано клинично проучване на ALK-положителни проби от NSCLC на пациенти, включени с Abbott Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit. Приблизително 300 случая са оцветени с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) на апарата BenchMark XT. Случаите са заслепени за ALK FISH статус, рандомизирани и предоставени на три четеца, които оценява резултатите от IHC оцветяването за ALK съгласно алгоритъма за оценяване на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3), предоставен в Таб. 6. Резултатите, предоставени в Таб. 17, отразяват процентите на прецизност на четеца за тази кохорта на клиничното изпитване.

За проучването за прецизност на четеца на апарата BenchMark ULTRA е оценена кохорта от 184 отделни случая на NSCLC. Кохортата се състои от 90 ALK-положителни и 94 ALK-отрицателни случая, които са оцветени с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) на апарата BenchMark ULTRA. Случаите са заслепени, рандомизирани и предоставени на три четеца, които оценява резултатите от IHC оцветяването за ALK съгласно алгоритъма за оценяване на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3), предоставен в Таб. 6. Таб. 18 отразява оценките за прецизност между четците от това проучване.

Таб. 17. Проучване за прецизност на четеца 2 за ALK статус в проби от NSCLC, получени от Кохорта №1 за сравнение на клиничния метод, оцветени с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) на апарата BenchMark XT.

Прецизност на четеца	Средно положително съответствие (95 % CI)	Средно отрицателно съвпадение (95 % CI)	Общ процент на съответствие (95 % CI)
Средна стойност на сравненията от трите четеца	97.6% (95.0–99.5 %)	99.5 % (98.9–99.9 %)	99.1 % (98.2–99.8 %)
Четец 1 спрямо Четец 2	99.1 % (97.1–100 %)	99.8 % (99.4–100 %)	99.7 % (98.2–99.9 %)
Четец 1 спрямо Четец 3	96.3 % (92.3–99.2 %)	99.2 % (98.3–99.8 %)	98.6 % (96.6–99.5 %)
Четец 2 спрямо Четец 3	97.2 % (93.5–100 %)	99.4 % (98.6–100 %)	99.0 % (97.1–99.7 %)

Таб. 18. Прецизност на четеца за ALK статус в проби от NSCLC, оцветени с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) на апарата BenchMark ULTRA.

Прецизност на четеца	Средно положително съответствие (95 % CI)	Средно отрицателно съвпадение (95 % CI)	Общ процент на съответствие (95 % CI)
Средна стойност на сравненията от трите четеца	98.4 % (96.5–99.6 %)	98.6 % (96.9–99.7 %)	98.5 % (96.7–99.6 %)
Четец 1 спрямо Четец 2	98.9 % (96.8–100 %)	98.9 % (97.0–100 %)	98.9 % (96.0–99.7 %)
Четец 1 спрямо Четец 3	98.8 % (96.7–100 %)	99.0 % (97.2–100 %)	98.9 % (96.0–99.7 %)
Четец 2 спрямо Четец 3	97.6 % (94.7–99.4 %)	97.9 % (95.4–99.5 %)	97.8 % (94.4–99.1 %)

Съгласуване с ALK FISH

Използвани са три кохорти за сравнение на резултатите от оцветяване от анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) с ALK FISH по отношение на клиничния статус за ALK. Кохортите включват редица човешки тъканни проби от NSCLC от първични и метастатични тумори, включително резекции, иглени биопсии, бронхиални биопсии и ФТТП клетъчни блокове от FNA. Всички проучвания са оценени с помощта на алгоритъма за оценяване (описан в Таб. 6).

Проучване за съгласуване 1

Проведено е проучване във външна лаборатория, сравняващо анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) с ретроспективни данни от Abbott Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit. Външният център е оцветил приблизително 100 случая на NSCLC с анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) на апарат BenchMark XT. Анализът VENTANA anti-ALK (D5F3) демонстрира > 98 % общ процент на съответствие спрямо ретроспективните данни от Abbott Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit за тази кохорта от проби от NSCLC. Резултатите са описани в Таб. 19 и Таб. 20. Обърнете внимание, че 86 от 100-те случая са имали налични данни за FISH и достатъчно наличен туморен материал за сравнение с резултата от IHC за ALK.

Таб. 19. Анализ VENTANA anti-ALK (D5F3), сравнен с Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit на Abbott.

Сравнение на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) с Abbott Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit			
Анализ VENTANA anti-ALK (D5F3)	Abbott Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit		Общо
	Положителни	Отрицателни	
Положителни	10	0	10
Отрицателни	1	75	76
Общо	11	75	86

Таб. 20. Процент общи, положителни и отрицателни проценти на съответствие за анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) в сравнение с Abbott Vysis Break Apart FISH Probe Kit.

Процент общи, положителни и отрицателни проценти на съответствие			
Процент	n/N	%	95 % CI ^a
Общ процент на съответствие	85/86	98.8	93.7, 99.8
Положителен процент на съответствие	10/11	90.9	62.3, 98.4
Процент отрицателно съответствие	75/75	100.0	95.1, 100.0

^a Двустранен 95 % доверителен интервал, изчислен по метода за оценка.

Имайте предвид, че подготовката на тъканна проба от това проучване не е потвърдена като следваща процедурите за подготовка на пробата, препоръчани за този анализ.

Проучване за съгласуване 2

Проведено е проучване във втора външна лаборатория, сравняващо анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) с данни от Abbott Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit за 73 случая на NSCLC (нарязани в рамките на една седмица след оцветяването). Външният център е оцветил случаи с анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) на апарат BenchMark XT. Анализът VENTANA anti-ALK (D5F3) демонстрира > 93 % общ процент на съответствие спрямо ретроспективните данни от Abbott Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit за тази кохорта от проби от NSCLC. Резултатите са описани в Таб. 21 и Таб. 22.

Таб. 21. Анализ VENTANA anti-ALK (D5F3), сравнен с Abbott Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit.

Сравнение на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) с Abbott Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit			
Анализ VENTANA anti-ALK (D5F3)	Abbott Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit		Общо
	Положителни	Отрицателни	
Положителни	2	4	6
Отрицателни	0	56	56
Общо	2	60	62

Таб. 22. Процент общи, положителни и отрицателни проценти на съответствие за анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) в сравнение с Abbott Vysis Break Apart FISH Probe Kit.

Процент общи, положителни и отрицателни проценти на съответствие			
Процент	n/N	%	95 % CI ^a
Общ процент на съответствие	58/62	93.5 %	84.6–97.5
Положителен процент на съответствие	2/2	100 %	34.2–100.0
Процент отрицателно съответствие	56/60	93 %	84.1–97.4

^a Двустранен 95 % доверителен интервал, изчислен по метода за оценка.

От четирите несъответстващи (FISH отрицателни, ALK IHC положителни) случая, допълнителни неочетени предметни стъкла са тествани с друг ALK (различен клон и система за откриване). Три от четирите случая са съответствали на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) по отношение на откритото IHC оцветяване за ALK.

Има също така 10 случая, при които резултатите от FISH са неопределени или не са извършени. Четири от тези случаи са положителни при анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) и другия ALK клон, а шест са отрицателни при IHC за ALK. Има един случай, който е положителен при FISH, но няма достатъчно проба за оцветяване с IHC.

Проучване за съгласуване 3

В това проучване приблизително 300 случая от текущо глобално клинично проучване на пациенти с ALK-положителни NSCLC, включени с Abbott Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit, са оцветени с анализа VENTANA anti-ALK (D5F3). Това е същата кохорта, която беше обсъждана по-рано в раздела „Проучване за прецизност на четеца“. От приблизително 300 случая, някои са категоризирани като „неинформативни“ при FISH или „Неизвършен анализ с FISH“ и са оцветени и оценени само за информационни цели.

Случаите са заслепени за FISH статус, рандомизирани и предоставени на два четеца, които оцениха резултатите от оцветяването. Резултатите са сравнени с FISH статуса, получен от глобалното клинично проучване.

Резултатите от сравнението на ALK при IHC спрямо ALK FISH са представени в Таб. 23.

Таб. 23. Съответствие на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3), сравнен с Abbott Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit според оценката на 2-ма патолога.

Сравнение на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) с Abbott Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit				
Анализ VENTANA anti-ALK (D5F3)		Abbott Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit		Общо
Четец		Положителни	Отрицателни	
Четец 1	Положителни	37	13	50
	Отрицателни	11	223	234
	Общо	48	236	284
Четец 2	Положителни	37	12	49
	Отрицателни	11	225	236
	Общо	48	237	285

Имайте предвид, че подготовката на тъканни проби от това проучване не е потвърдена като следваща процедурите за подготовка на пробата, препоръчани за този анализ.

Несъответстващи случаи, които са положителни за ALK с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3), ALK FISH отрицателни:

- Има 4 случая, оценени от поне един четец като ALK IHC положителни, FISH отрицателни. При консенсусен преглед е определено, че те трябва да бъдат оценени като IHC отрицателни. Тези случаи са били с фокално цитоплазмено/мембранно оцветяване и са обяснени в ръководството за интерпретиране.
- Има 9 ALK IHC положителни, ALK FISH отрицателни случаи, които се считат за истински несъответстващи случаи.

От 9 несъответстващи случая, 7 са имали неочетени предметни стъкла, които са били налични за допълнителни диагностични тестове за ALK (молекулярно тестване и IHC тестване с помощта на различен клон и система за откриване). Тези допълнителни тестови резултати показват, че по-голямата част от несъответстващите случаи са в полза на положителната IHC оценка за ALK статус, когато ALK FISH е отрицателен. (Обърнете внимание, че предметните стъкла със срези от тези случаи надвишават препоръчителния период от 3 месеца).

Несъответстващи случаи, които са отрицателни според анализа VENTANA anti-ALK (D5F3), ALK FISH-положителни:

- Има 11 случая, които са положителни според FISH, но отрицателни според анализа VENTANA anti-ALK (D5F3). 10 случая имат неочетени предметни стъкла, които са налични за допълнителното диагностично тестване за ALK с молекулярни техники и IHC. Тези допълнителни тестови резултати показват, че по-голямата част от случаите, които са били отрицателни според анализа VENTANA anti-ALK (D5F3), са били отрицателни и според друга ALK IHC система, но са били положителни според един или повече молекулярни анализи. Обърнете внимание, че предметните стъкла със срези от тези случаи надвишават препоръчителния период от 3 месеца за ALK IHC.
- И накрая, в кохортата има 14 случая, които не са информативни според FISH (не е получен резултат). От тях 3 са оценени като положителни от два четеца с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3). В допълнение, има 19 случая, при които анализът FISH не може да бъде извършен въз основа на предметното стъкло с H&E (обикновено поради недостатъчна туморна тъкан). От тях и двата четеца оцениха резултатите от оцветяването с IHC за ALK като положителни в 4 случая. Следователно средно 21 % от случаите, при които не са получени резултати от FISH, са имали положителен ALK статус чрез анализ VENTANA anti-ALK (D5F3).

Проучване за междулабораторна възпроизводимост на апарата BenchMark XT

Завършено е проучване за междулабораторна възпроизводимост за анализ VENTANA anti-ALK (D5F3), за да се демонстрира възпроизводимост на анализа при определяне на ALK клиничния статус на апарата BenchMark XT, като се използват тъканни проби от NSCLC (6 ALK-положителни и 6 ALK-отрицателни), пуснати с 1 партида реактиви, на 3 апарата и в 5 непоследователни дни в три външни лаборатории. Пробите са рандомизирани и оценени от общо 6 четеца (2 четеца/център), които са заслени на ALK клиничния статус на кохортата. Тази кохорта съдържа 180 предметни стъкла, генерирани от 12 случая на NSCLC, положителни и отрицателни за експресия на ALK чрез IHC и FISH. Тези случаи са оцветени повторно с дублиране в рамките на 21 дни в 3-те лаборатории. Вижте Таб. 24 за резултати. Процентът за приемливост за морфология и фон в тези проучвания е 100 %. Проучването за междулабораторна възпроизводимост (ILR) за анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) на апарат BenchMark XT предостави средно положително съответствие (APA) и средно отрицателно съответствие (ANA) за сравнения между центрове, между четци и между цикли (ден), извършени по двойки с използване на оценени наблюдения.

Таб. 24. ILR: Проценти на съответствие за анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) на апарата BenchMark XT (n = 180 оценени предметни стъкла).

Проценти на съответствие за междулабораторна възпроизводимост (ALK клиничен статус)	Средно положително съответствие (95 % CI)	Средно отрицателно съответствие (95 % CI)	Общ процент на съответствие (95 % CI)
Между центрове (3 центъра)	93.8 % (76.2–100 %)	94.9 % (79.2–100 %)	94.4 % (83.3–100 %)
Между дните (5 непоследователни дни)	99.1 % (96.4–100 %)	99.2 % (96.9–100 %)	99.2 % (97.5–100 %)

Проценти на съответствие за междулабораторна възпроизводимост (ALK клиничен статус)	Средно положително съответствие (95 % CI)	Средно отрицателно съответствие (95 % CI)	Общ процент на съответствие (95 % CI)
Между четци (2 четеца/център)	98.8 % (95.2–100 %)	99.0 % (95.8–100 %)	98.9 % (96.7–100 %)

Проучване за междулабораторна възпроизводимост на апарат BenchMark ULTRA

Завършено е допълнително проучване за междулабораторна възпроизводимост за анализ VENTANA anti-ALK (D5F3), за да се демонстрира възпроизводимост на анализа при определяне на ALK клиничния статус на апарата BenchMark ULTRA, като се използват тъканни проби от NSCLC (7 ALK-положителни и 7 ALK-отрицателни), пуснати с 1 партида реактиви, на 3 апарата и в 5 непоследователни дни в три външни лаборатории на апарата BenchMark ULTRA. Пробите са рандомизирани и оценени от общо 6 четеца (2 четеца/център), които са заслени за ALK клиничния статус на кохортата. Тази кохорта съдържа 210 предметни стъкла, генерирани от 14 случая на NSCLC, положителни и отрицателни за експресия на ALK чрез IHC и FISH. Тези случаи са оцветени повторно с дублиране в рамките на 21 дни в 3-те лаборатории. Вижте Таб. 25 за резултати. Общата крайна степен на приемливост на оцветяване за всички събрани данни е 99 %. Процентът за приемливост за морфология и фон в тези проучвания е 100 %. Вижте Таб. 26 за резултати.

Проучването ILR за анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) на апарата BenchMark ULTRA предоставя положителен процент на съответствие (PPA) и процент отрицателно съответствие (NPA) при всички оценени наблюдения, получени от проучването чрез обединяване на всички центрове, четци и дни, когато се използва консенсусната оценка като референтен стандарт.

Таб. 25. ILR: Проценти на съответствие за анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) на апарата BenchMark ULTRA (n = 210 оценени предметни стъкла).

Проценти на съответствие за междулабораторна възпроизводимост (ALK клиничен статус)	Положителен процент на съответствие (95 % CI)	Процент отрицателно съответствие (95 % CI)	Общ процент на съответствие (95 % CI)
При всички оценени наблюдения	92.8 % (88.4, 95.6 %)	100.0 % (98.2, 100.0 %)	96.4 % (94.1, 97.8 %)

Таб. 26. Междулабораторна възпроизводимост: Проценти на съответствие между четците за анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) на апарат BenchMark ULTRA (n = 210 оценени предметни стъкла).

Проценти на съответствие за междулабораторна възпроизводимост (ALK клиничен статус) Проценти на съответствие между четците	Средно положително съответствие (95 % CI)	Средно отрицателно съответствие (95 % CI)	Общ процент на съответствие (95 % CI)
Четци A1 спрямо A2	97.0 % (87.5–100 %)	97.3 % (89.5–100 %)	97.1 % (90.2–99.2 %)
Четци B1 спрямо B2	93.5 % (71.4–100 %)	94.7 % (81.0–100 %)	94.2 % (86.0–97.7 %)
Четци C1 спрямо C2	92.3 % (66.7–100 %)	93.2 % (74.7–100 %)	92.8 % (84.1–96.9 %)
Цялостно	94.3 % (75.6–100 %)	95.1 % (81.6–100 %)	94.7 % (84.1–100 %)

Проучване върху междулабораторната възпроизводимост и възпроизводимост между четците на апарат BenchMark ULTRA PLUS с комплекти OptiView DAB IHC Detection и OptiView Amplification.

Завършено е проучване за междулабораторна възпроизводимост за VENTANA anti-ALK (D5F3) Assay на апарат BenchMark ULTRA PLUS, за да се демонстрира възпроизводимост на анализа при определяне на ALK клиничния статус на апарата BenchMark ULTRA PLUS, като се използват тъканни проби от NSCLC (14 ALK-положителни и 14 ALK-отрицателни), пуснати с една партида реактиви, на един апарат в три външни лаборатории в 5 непоследователни дни. Пробите са рандомизирани и оценени от общо 6 четеца (2 четеца/център). За всеки случай всички налични наблюдения от четеца са сравнени с модалния статус за случая. Приемливостта на предметното стъкло с отрицателната контрола на реактива и оцветеното предметно стъкло за ALK е 100 % за всички оценени 420 предметни стъкла (по 140 в център). Вижте Таб. 27, Таб. 28 и Таб. 29 за резултатите ILR анализите VENTANA anti-ALK (D5F3) BenchMark ULTRA PLUS предоставят положителен процент на съответствие (PPA) и процент отрицателно съответствие (NPA) при всички оценени наблюдения, получени от проучването чрез обединяване на всички центрове, четци и дни, когато се използва модален статус на ALK на ниво случай като референтен стандарт.

Таб. 27. Междулабораторна възпроизводимост: Проценти на съответствие за VENTANA anti-ALK (D5F3) Assay на апарат BenchMark ULTRA PLUS (n = 420 оценени предметни стъкла).

Междулабораторна възпроизводимост на клиничен статус на ALK	Положителен процент на съответствие (95 % CI)	Процент отрицателно съответствие (95 % CI)	Общ процент на съответствие (95 % CI)
При всички оценени наблюдения	98.6 % (97.3, 99.7)	99.5 % (98.7–100 %)	99.0 % (98.3–99.7 %)

Освен анализите с подход на модален статус на ниво случай са извършени анализи по двойки и по-долу са представени резултатите за средно положително съответствие (APA) и средно отрицателно съответствие (ANA).

Таб. 28. Междулабораторна възпроизводимост: Проценти на съответствие за VENTANA anti-ALK (D5F3) Assay на апарат BenchMark ULTRA PLUS (n = 420 оценени предметни стъкла).

Проценти на съответствие за междулабораторна възпроизводимост (ALK клиничен статус)	Средно положително съответствие (95 % CI)	Средно отрицателно съответствие (95 % CI)	Общ процент на съответствие (95 % CI)
Между центрове (3 центъра)	98.1 % (96.6–99.4 %)	98.1 % (96.8–99.4 %)	98.1 % (96.7–99.4 %)
Между дни (5 непоследователни дни)	98.3 % (96.9–99.4 %)	98.3 % (97.2–99.5 %)	98.3 % (97.1–99.5 %)

Таб. 29. Междулабораторна възпроизводимост: Проценти на съответствие между четците за VENTANA anti-ALK (D5F3) Assay на апарат BenchMark ULTRA PLUS (n = 420 оценени предметни стъкла).

Междулабораторна възпроизводимост на клиничен статус на ALK между четци	Средно положително съответствие (95 % CI)	Средно отрицателно съответствие (95 % CI)	Общ процент на съответствие (95 % CI)
Четци A1 спрямо A2	99.3 % (97.7–100 %)	99.3 % (98.0–100 %)	99.3 % (97.9–100 %)
Четци B1 спрямо B2	94.8 % (90.5–98.6 %)	95.2 % (91.4–98.6 %)	95.0 % (91.1–98.6 %)
Четци C1 спрямо C2	100.0 % (97.3–100 %)	100.0 % (97.3–100 %)	100.0 % (97.3–100 %)

Междулабораторна възпроизводимост на клиничен статус на ALK между четци	Средно положително съответствие (95 % CI)	Средно отрицателно съответствие (95 % CI)	Общ процент на съответствие (95 % CI)
Цялостно	98.1 % (96.6–99.4 %)	98.1 % (96.7–99.4 %)	98.1 % (96.7–99.4 %)

Съгласуване между апарат BenchMark ULTRA PLUS и апарат BenchMark ULTRA

Три лаборатории от различни институции в САЩ участват в проучването за съгласуване между апарат BenchMark ULTRA PLUS и апарат BenchMark ULTRA. Сто четиридесет и четири случая, представляващи диапазона на оцветяване на популацията с намерение за употреба на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3), са избрани за използване в това проучване. Всички 144 случая са оцветени във Ventana на BenchMark ULTRA, като е използвана двойка OptiView DAB IHC Detection Kit и OptiView Amplification Kit. Предметни стъкла със срезове от един и същ случай са рандомизирани и разпределени по равно (48 случая/център) в центровете по проучването за оцветяване на апарат BenchMark ULTRA PLUS по препоръчителен протокол за оцветяване с една партида комплекти OptiView DAB IHC Detection и OptiView Amplification. По двама патолози в център, заслепени за статуса на случая, оценяват предметните стъкла, оцветени на съответния апарат BenchMark ULTRA PLUS, и дават информация за клиничен статус. След 2-седмичен период на измиване, съответстващ на предметните стъкла по случая, оцветени преди това във Ventana на апарат BenchMark ULTRA, са разпределени към съответните центрове за клинична оценка. Освен това един вътрешен патолог преглежда всички предметни стъкла по проучването и е включен като трети патолог за всеки от центровете. Резултатите са анализирани от Ventana за клиничен статус ALK положителни или отрицателни. Процентите на OPA, PPA и NPA са съответно 95.4 % (412/432), 93.5 % (202/216) и 97.2 % (210/216). Двустранните 95 % CI са изчислени с помощта на метода за персентилен бутстрап. Процентите за морфологично приемливо и приемливостта на фона за всички случаи са 100 % за двата апарата. Резултатите могат да бъдат намерени в Таб. 30.

Таб. 30. Обединеното съответствие на случаите с NSCLC, оцветени за ALK с VENTANA anti-ALK (D5F3) Assay на BenchMark ULTRA PLUS спрямо апарат BenchMark ULTRA.

Статус на BenchMark ULTRA PLUS ALK	Статус на BenchMark ULTRA ALK		Общо
	Положителни	Отрицателни	
Положителни	202	6	208
Отрицателни	14	210	224
Общо	216	216	432
	n/N	% (95 % CI) ^[a]	
Положителен процент на съответствие	202/216	93.5 (89.5, 97.2)	
Процент отрицателно съответствие	210/216	97.2 (94.5, 99.5)	
Общ процент на съответствие	412/432	95.4 (92.8, 97.5)	

[a] Двустранните 95 % CI са изчислени по метода за персентилен бутстрап с 2000 реплицирани предметни стъкла със стратификация по интервал за квалифициране [ALK-положителни, ALK-отрицателни, затрудняващо ALK-положителни, затрудняващо ALK-отрицателни].

КЛИНИЧНО ПРЕДСТАВЯНЕ

Проучване за сравнение на методите на апарат BenchMark XT

Кохортите от проучването за сравнение на методите са генерирани от две независими, рандомизирани клинични изпитвания на кризотиниб (наречени Изпитване №1 и Изпитване №2), които включват пациенти с ALK-положителен NSCLC. ALK статусът за тези пациенти е определен с помощта на анализа Vysis

ALK Break Apart FISH Probe Kit от клиничното изпитване в множество централни лаборатории. Валидни резултати от Vysis ALK FISH са получени за общо 1644 тъканни проби от NSCLC (съответно 1018 и 626 проби за Изпитвания №1 и №2).

В проучването за сравнение на методите с анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) проби от пациенти, подложени на скрининг за Изпитване №1 и №2, са изпратени в централна лаборатория за оцветяване с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) и оценка за ALK IHC статус въз основа на критерии за алгоритъм за оценяване на анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) (Таб. 6). От пробите, даващи валидни резултати от Vysis ALK FISH при скрининг за клинично изпитване, 933 проби от Изпитване №1 (Таб. 31) и 598 проби от Изпитване №2 (Таб. 33) също дадоха валидни резултати за анализ VENTANA anti-ALK (D5F3).

Броят на пробите, даващи ALK-положителни и ALK-отрицателни резултати за всеки анализ, е показан в Таблицы 31 и 33 за кохортите от съответно Изпитване №1 и №2. Процентите на съответствие между двата анализа е показана в Таблицы 32 и 34 за кохортите от съответно Изпитване №1 и №2. Отчетените проценти на положителни и отрицателни съответствия са съответно 86.0 % и 96.3 % за Изпитване №1 (Таб. 32) и съответно 92.7 % и 94.8 % за Изпитване №2 (Таб. 34).

Таб. 31. Сравнение на ALK статуса в проби от NSCLC (кохорта от Изпитване №1), определен с помощта на анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) спрямо Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit.

ALK статус		Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit		
		Положителни	Отрицателни	Общо
Анализ VENTANA anti-ALK (D5F3)	Положителни	154	28	182
	Отрицателни	25	726	751
	Общо	179	754	933

Таб. 32. Проценти на съответствие между анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) и Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit в Изпитване №1.

Проценти на съответствие между анализа за ALK	Положителен процент на съответствие (95 % CI)	Процент отрицателно съответствие (95 % CI)	Общ процент на съответствие (95 % CI)
Антитяло VENTANA anti-ALK (D5F3) и Vysis ALK Break-Apart FISH Probe Kit	86.0 % (80.2–90.4 %)	96.3 % (94.7–97.4 %)	94.3 % (92.6–95.6 %)

Таб. 33. Кохорта за сравнение на ALK статуса от Изпитване №2 в проби от NSCLC, определен с помощта на анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) спрямо Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit.

ALK статус		Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit		
		Положителни	Отрицателни	Общо
Антитяло VENTANA anti-ALK (D5F3)	Положителни	179	21	200
	Отрицателни	14	384	398
	Общо	193	405	598

Таб. 34. Проценти на съответствие между анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) и Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit в Изпитване №2.

Проценти на съответствие между анализа за ALK	Положителен процент на съответствие (95 % CI)	Процент отрицателно съответствие (95 % CI)	Общ процент на съответствие (95 % CI)
Анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) и Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit	92.7 % (88.2–95.6 %)	94.8 % (92.2–96.6 %)	94.1 % (92.0–95.8 %)

Обърнете внимание, че тъканните проби, използвани в Изпитване №1 и Изпитване №2, не са потвърдени като приготвени съгласно процедурите за подготовка на пробата, препоръчани за анализ VENTANA anti-ALK (D5F3).

Проучване на клиничния резултат за кризотиниб

Анализът на клиничната ефикасност за анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) като диагностично изделие за избор на пациенти, които биха могли да има полза от лечение с кризотиниб, ALK-насочен агент, се основава на Изпитване №1. Тези пациенти са тествани с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) в рамките на проучването за сравнение на методите, както и допълнително проучване. Изпитване №1 е многоцентрово, многонационално, рандомизирано, открито, фаза 3 проучване за ефикасност и безопасност на кризотиниб спрямо първа линия химиотерапия (пеметрексед/цисплатин или пеметрексед/карбоплатин) при нелекувани преди това пациенти с ALK-положителни авансирани неплоскоклетъчни NSCLC. Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit (ALK FISH) е използван за определяне на ALK-положителност и допустимостта на изпитването за Изпитване №1. Въз основа на резултатите от анализа Vysis ALK FISH 343 пациенти са били в рандомизираната група (172 в рамото на кризотиниб и 171 в рамото с химиотерапия). В проучването на клиничния резултат за анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) тъканни проби от Изпитване №1 са ретроспективно тествани с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3). От 343 пациенти, включени в Изпитване №1, 133 са били тествани с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) съгласно протокола за сравнение на методите за проучването, а допълнителни 39 пациенти са били тествани по отделен протокол за проучването, като общо 172 пациенти са тествани с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3). От тези пациенти 166 са диагностицирани като ALK-положителни или ALK-отрицателни чрез ALK (D5F3) IHC. Общите резултати за ефикасност при тези пациенти са обобщени според резултатите от анализа VENTANA anti-ALK (D5F3) в Таб. 35.

Таб. 35. Клинична полза от кризотиниб (преживяемост без прогресия) за пациенти, включени в Изпитване №1.

ALK статус		HR ^a	SE ^a	95 % CI ^a	Размер на пробата	
					Рамо с химиотерапия	Рамо с кризотиниб
Общо включени	FISH+	0.454	0.139	(0.346, 0.596)	171	172
ALK IHC тест	FISH+ ^b	0.407	0.214	(0.267, 0.618)	82	90
	FISH+/IHC+	0.401	0.237	(0.252, 0.639)	63	78
	FISH+/IHC-	1.711	0.703	(0.431, 6.789)	17	8

^a Наблюдавано съотношение на риск (HR) за преживяемост без прогресия (PFS) на кризотиниб спрямо химиотерапия; стандартна грешка (SE); и 2-странен 95 % доверителен интервал (CI). Резултатите са оценени с помощта на стратифициран модел на Сох със следните групи: раса, мозъчни метастази и ECOG резултат.

^b За двама ALK FISH+ пациенти в рамото на химиотерапията и 4 пациенти в рамото на кризотиниб не е получен положителен или отрицателен ALK IHC резултат.

Извършени са допълнителни импутационни анализи, за да се включат пациенти с липсващи или невалидни резултати от теста с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) и за оценка на надеждността на заключенията от проучването. Статистическият анализ на несъответстващи пациенти, които не са включени в Изпитване №1, включва симулация на редица възможни резултати за тези пациенти. Резултатите от всички хипотетични анализи като цяло са сходни с тези от първичния анализ на ефикасността.

FISH+/IHC- случаи на несъответствие от Изпитване №1:

Проучване за сравнение на методите

В проучването за сравнение на методите (Таб. 35) 25 пациенти от Изпитване №1 са оценени като FISH+/IHC-. Средната оценка по Vysis ALK FISH (% положителни туморни клетки за пренареждане на гена ALK) за тези случаи е 20 % (средно 31.6 %, SD 21.58 %), а за 14 от тези случаи оценката по FISH е 25 % или по-малко. Докато всички тези случаи са имали оценки по Vysis ALK FISH над 15 % гранична стойност за ALK-положителност, техните резултати са били в двусмислената зона на FISH (10 %–50 %). Обратно, средната оценка по FISH, наблюдавана за всички включени пациенти, тествани с IHC, е 58 % (средно 56.9 %, SD 21.97 %).

Проучване на клиничния резултат

В проучването на клиничния резултат 25 пациенти, включени в Изпитване №1, са оценени като FISH+/IHC- (вижте последния ред от Таб. 35). Осем от тези случаи са рандомизирани в рамото на кризотиниб от клиничното проучване. От тези пациенти петима са имали оценки по FISH, много близки до границата на FISH (15 %–18 % от туморните клетки, положителни за пренареждане на гена ALK) и също така са презентирали с обективна прогресия или стабилно заболяване/без отговор. Двама от 8-те пациенти са имали оценки по FISH извън двусмислената зона на FISH (66 % и 72 % от туморните клетки, положителни за пренареждане на гена ALK) и са презентирали с частичен обективен туморен отговор. Осмият IHC- пациент е FISH- и е включен погрешно; този пациент презентира с неопределен отговор.

FISH-/IHC+ случаи на несъответствие от Изпитване №1

В проучването за сравнение на методите за анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) 28 случая, подложени на скрининг за Изпитване №1, са оценени като FISH-/IHC+. Тъй като FISH е анализът за клинично изпитване и само случаите на FISH+ са включени в Изпитване №1, няма данни за резултатите за несъответстващите случаи на FISH-/IHC+.

Проучване на клиничния резултат за церитиниб

Анализът на клиничната ефикасност на анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) като диагностично изделие за подбор на пациенти, които биха могли да се възползват от лечението с церитиниб, се основава на открито, рандомизирано, с активна контрола, многоцентрово, фаза 3 проучване (Изпитване №3) на перорален церитиниб. Това проучване сравнява клиничната ефикасност и безопасност на лечението с церитиниб спрямо химиотерапия (базиран на платина дублет с пеметрексед, последван от поддържане с пеметрексед при пациенти без прогресиращо заболяване след 4 цикъла) при нелекувани преди това възрастни пациенти с ALK-положителен, локално авансирал или метастатичен, непlosкоклетъчен NSCLC. Анализът VENTANA anti-ALK (D5F3) беше използван на апарата BenchMark XT за тестване на общо 1778 пациенти за допустимост на Изпитване №3, което изискваше положителен ALK статус. Общо 376 пациенти, чиито тумори са дали ALK-положителни резултати от анализа, са били в рандомизираната група (189 в рамото на церитиниб и 187 в рамото на химиотерапия). Общите резултати за ефикасност при пациентите, лекувани с церитиниб, са обобщени в Таб. 36. Церитиниб демонстрира статистически значими и клинично значими полза в сравнение с химиотерапия, с 45 % намаление на риска за PFS на BIRC (HR = 0.55; 95 % CI: 0.42, 0.73; p < .001), за пациенти, избрани с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3). Средната стойност на PFS според оценка на BIRC е 16.6 месеца (95 % CI: 12.6, 27.2) и 8.1 месеца (95 % CI: 5.8, 11.1) съответно за рамената на церитиниб и химиотерапия.

Таб. 36. Клинична полза от церитиниб (преживяемост без прогресия) за пациенти, включени в Изпитване №3.

Преживяемост без прогресия	Церитиниб (N = 189)	Химиотерапия (N = 187)
Медиана, месеци (95 % CI) ^a	16.6 (12.6, 27.2)	8.1 (5.8, 11.1)
HR (95 % CI) ^b	0.55 (0.42, 0.73)	
p-стойност ^c	< 0.001	

HR = коефициент на риск; CI = доверителен интервал; BIRC = Заслепенa независима комисия за преглед; NR = не е достигнато; NE = не подлежи на оценка

^a Оценено с помощта на метода на Kaplan-Meier.

^b Използван е регресионен модел на Сох, стратифициран от рандомизационни фактори за стратификация (статус на ефективността на C30: 0 спрямо 1–2; наличие или отсъствие на BM, наличие или отсъствие на предишна нео-/адювантна химиотерапия), за оценка на съотношението на риск от PFS, заедно с 95 % CI въз основа на теста на Wald.

^c Въз основа на стратифицирания лог-ранг тест (същата стратификация като Забележка „b“).

Степените на приемливост на оцветяване за анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) в популацията с намерение да се диагностицира (1778 пациенти, тествани с анализа) са докладвани в Таб. 37. Докладвани са също така нивата на приемлива морфология и приемлив фон за предметни стъкла, оцветени с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3). За 122 проби първоначалният опит за оцветяване с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) е неуспешен и е извършен друг опит за оцветяване. При последния опит за оцветяване 48 от 122 проби останаха неприемливи (1 поради невалидна контрола на цикъла, 30 поради неприемливо H&E и 12 поради неприемлива отрицателна контрола на реактива, 1 поради неприемлив фон, 2 поради неприемлив фон и морфология и 2 поради неоценимо IHC предметно стъкло). Анализът VENTANA anti-ALK (D5F3) демонстрира високи начални и крайни общи нива на приемливост на оцветяване; съответно 93.1 % и 97.3 %. Крайните нива на приемливост на морфология и фон са 99 % или повече.

Таб. 37. Начални и крайни работни характеристики на оцветяване за анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) за проби за проучването на NSCLC, подложени на скрининг за включване в Изпитване №3.

Оценени характеристики на оцветяване	Степен на приемливост % (n/N) (95 % CI)	
	Първоначален опит за оцветяване	Краен опит за оцветяване
Общ процент на приемливост на ALK IHC оцветяване	93.1 % (1656/1778) (91.9–94.2 %)	97.3 % (1730/1778) (96.4–98.0 %)
Фоново оцветяване	99.0 % (1655/1672) (98.4–99.4 %)	99.8 % (1727/1730) (99.5–99.9 %)
Морфология	99.0 % (1657/1674) (98.4–99.4 %)	99.9 % (1728/1730) (99.6–100 %)

Проучване на клиничния резултат за алектиниб

Анализът на клиничната ефикасност на анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) като диагностично изделие за подбор на пациенти, които биха могли да се възползват от лечението с алектиниб, се основава на открито, рандомизирано, с активна контрола, многоцентрово, фаза 3 проучване (Изпитване №BO28984) на перорален алектиниб. Това проучване сравнява клиничната ефикасност и безопасност на лечението с алектиниб с тази на кризотиниб при нелекувани преди това възрастни пациенти с ALK-положителен, локално авансирал или метастатичен NSCLC. Анализът VENTANA anti-ALK (D5F3) беше използван на апарата BenchMark XT за тестване на общо 1239 пациенти за допустимост на Изпитване №BO28984, което изискваше положителен ALK статус при централно тестване. Общо 303 пациенти, чиито тумори са дали ALK-положителни резултати от анализа, бяха рандомизирани и анализирани за ефикасност (152 в рамото на алектиниб и 151 в рамото на кризотиниб). Общите резултати за ефикасност са обобщени в Таб. 38. Алектиниб демонстрира статистически значима и клинично значима полза спрямо кризотиниб с 53 % намаление на риска при PFS според оценка на изследовател (HR = 0.47, 95 % CI: 0.34, 0.65; $p < 0.0001$) и 50 % намаляване на риска при PFS според IRC (HR = 0.50, 95 % CI: 0.36, 0.7; $p < 0.0001$), за пациенти, избрани с помощта на анализ VENTANA anti-ALK (D5F3). Средната стойност на PFS според оценката на изследовател не е достигната в рамото на алектиниб и според оценката на IRC е 25.7 месеца (95 % CI: 19.9, NE) и 10.4 месеца (95 % CI: 7.7, 14.6) съответно за рамената на алектиниб и кризотиниб.

Таб. 38. Клинична полза от алектиниб или кризотиниб (преживяемост без прогресия) за пациенти, включени в Изпитване №BO28984.

Преживяемост без прогресия, оценено от изследовател	Алектиниб (N = 152)	Кризотиниб (N = 151)
Медиана, месеци (95 % CI) ^a	NE (17.7, NE %)	11.1 (9.1, 13.1 %)
HR (95 % CI) ^b	0.47 (0.34, 0.65 %)	
p-стойност ^c	< 0.0001	
Преживяемост без прогресия, оценено от IRC	Алектиниб (N = 152)	Кризотиниб (N = 151)
Медиана, месеци (95 % CI) ^a	25.7 (19.9, NE %)	10.4 (7.7, 14.6 %)
HR (95 % CI) ^b	0.50 (0.36, 0.70 %)	
p-стойност ^c	< 0.0001	

HR = коефициент на риск; CI = доверителен интервал; IRC = Независим комитет за преглед; NE = не подлежи на оценка

^a Оценено с помощта на метода на Kaplan-Meier.

^b Съотношението на риска е оценено чрез регресия на Cox, стратифицирано за ковариати раса (азиатска спрямо неазиатска) и метастази в ЦНС на изходно ниво (наличие/отсъствие) спрямо IRC

^c Въз основа на стратифицирания лог-ранг тест (същата стратификация като [6]).

Степените на приемливост на оцветяване за анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) в популацията с намерение да се диагностицира (1239 пациенти, тествани с анализа) са сравними с резултатите от изпитване A2301.

Резултати от клинично проучване на лорлатиниб

Ефикасността на лорлатиниб за лечение на пациенти с ALK-положителен NSCLC, които не са получавали преди систематична терапия за метастатично заболяване, е оценена в открито, рандомизирано, активно контролирано, многоцентрово проучване (Проучване B7461006; NCT03052608; CROWN). За пациентите е изисквано да имат статус на представяне по ECOG 0–2 и ALK-положителен NSCLC, идентифициран чрез анализ VENTANA anti-ALK (D5F3). На оценяване могат да бъдат подложени неврологично стабилни пациенти с лекувани асимптоматични метастази на централната нервна система (CNS), включително лептоменингеални метастази.

Общо 296 пациенти са рандомизирани 1:1 за приемане на лорлатиниб 100 mg перорално веднъж дневно (n = 149) или кризотиниб 250 mg перорално два пъти дневно (n = 147). Рандомизирането е стратифицирано по етнически произход (азиатски спрямо неазиатски) и наличие или липса на метастази в CNS на изходно ниво. Лечението на двете рамена е проведено до прогресиране на заболяването или до неприемлива токсичност. Основният измерител на резултата за ефикасност е преживяемост без прогресия (PFS), определено чрез Заслепен независим централен преглед (Blinded Independent Central Review, BICR) според версия 1.1 (RECIST v1.1).

Резултатите от проучването демонстрират значително и статистически значимо подобрение в PFS за рамото с лорлатиниб спрямо рамото с кризотиниб със 72 % намаляване на риска от прогресиране на заболяването или смърт според BICR (HR = 0.28; 95 % CI: 0.19, 0.41; $p < 0.0001$; Таб. 39). Данните за OS са незрели към момента на границата на клиничните данни.

Анализ на подгрупи за участниците със или без метастази в мозъка на изходно ниво дадоха резултати, консистентни с основния резултат за PFS. Вероятността CNS да бъде първото място на прогресия на заболяването, самостоятелно или с конкурентна систематична прогресия, е значително по-ниска в рамото на лорлатиниб (2.7 %) спрямо рамото с кризотиниб (23.8 %) със стратифициран по причина HR 0.06 (95 % CI: 0.02, 0.18).³⁶

Таб. 39. Общи резултати за ефикасност в проучването B7461006 (CROWN).

Преживяемост без прогресия (оценен по BICR)	Лорлатиниб (N = 149)	Кризотиниб (N = 147)
Брой събития, n (%)	41 (27.5 %)	86 (58.5 %)
Прогресивно заболяване, n (%)	32 (21.5 %)	82 (55.8 %)
Смъртни случаи, n (%)	9 (6.0 %)	4 (2.7 %)
Вероятност за PFS на 12-тия месец (95 % CI) ^a	0.78 (0.70, 0.84)	0.39 (0.30, 0.48)
Съотношение на риска (95 % CI) ^b	0.28 (0.19, 0.41)	
p-стойност ^c	< 0.0001	

Съкращения: CI = доверителен интервал; NE = не подлежи на оценка; PFS = преживяемост без прогресия.

^a CI са получени, като се използва двойно логаритмично преобразование с обратно преобразование до първоначалната скала.

^b Стратифицирано съотношение на риска според модел на пропорционални рискове Сох.

^c Едностранична p-стойност според стратифициран лог-ранг тест.

При тестването с анализ VENTANA anti-ALK (D5F3) 232 скринингови проби от проучване B7461006 в централни лаборатории са получени проценти на приемливост на оцветяване почти идентични с тези, наблюдавани в изпитване A2301.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализът VENTANA anti-ALK (D5F3) е възпроизводим по отношение на резултатите от оцветяване за ALK клиничен статус на апаратите BenchMark IHC/ISH. Алгоритъмът за двойно оценяване е силно възпроизводим за всички четци. Този анализ е съгласуван с Vysis ALK Break Apart FISH Probe Kit за ALK статус. Анализът VENTANA anti-ALK (D5F3) може да се използва за идентифициране на пациенти, отговарящи на условията за лечение с XALKOR® (кризотиниб), ZYKADIA® (церитиниб), ALECENSA® (алектиниб) или лорлатиниб.

ОТСТРАНЯВАНЕ НА НЕИЗПРАВНОСТИ

Ако се наблюдава неподходящо оцветяване на тъканини контроли на системно ниво за човешки NSCLC или апендикс, или върху пробите от пациенти, уверете се, че процедурите за поддръжка на апарата са спазени за апарата BenchMark IHC/ISH. Ако не бъдат отбелязани технически проблеми или отклонения, преди да извършите повторно изпълнение, моля, свържете се с местния представител за поддръжка.

РЕФЕРЕНЦИИ

- Kutok JL, Aster JC, et al. Molecular biology of anaplastic lymphoma kinase-positive anaplastic large-cell lymphoma. *J Clin Onc.* 2002;20(17):3691-3702.
- Iwahara T, et al. Molecular characterization of ALK, a receptor tyrosine kinase expressed specifically in the nervous system. *Oncogene.* 1997;14:439-49.
- Soda M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature.* 2007;448(7153):561-66.
- Inamura K, et al. EML4-ALK fusion is linked to histological characteristics in a subset of lung cancers. *J Thorac Oncol.* 2008;3(1):13-17.
- Choi YL, et al. Identification of novel isoforms of the EML4-ALK transforming gene in non-small cell lung cancer. *Cancer Res.* 2008;68(13):4971-6.
- Koivunen JP, et al. EML4-ALK fusion gene and efficacy of an ALK kinase inhibitor in lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2008;14(13):4275-83.
- Shimura K, et al. EML4-ALK fusion transcripts, but no NPM-, TPM3-, CLTC-, ATIC-, or TFG-ALK fusion transcripts, in non-small cell lung carcinomas. *Lung Cancer.* 2008;61:163-9.
- Takeuchi K, et al. Multiplex reverse transcription-PCR screening for EML4-ALK fusion transcripts. *Clin Cancer Res.* 2008;14(20):6618-24.

- Shaw AT, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer who harbor EML4-ALK. *J Clin Oncol.* 2009;27(26):4247-53.
- Yi ES, et al. Correlation of IHC and FISH for ALK gene rearrangement in non-small cell lung carcinoma: IHC score algorithm for FISH. *J Thorac Oncol.* 2011;6(3):459-65.
- McLeer-Florin A, et al. Dual IHC and FISH testing for ALK gene rearrangement in lung adenocarcinomas in a routine practice: a French study. *J of Thorac Oncol.* 2012;7(2):348-54.
- Christensen JG, et al. Cyto-reductive antitumor activity of PF-2341066, a novel inhibitor of anaplastic lymphoma kinase and c-Met, in experimental models of anaplastic large-cell lymphoma. *Mol Cancer Ther.* 2007;6(12 Pt 1):3314-22.
- Yamazaki S, et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling of crizotinib for anaplastic lymphoma kinase inhibition and antitumor efficacy in human tumor xenograft mouse models. *J Pharmacol Exp Ther.* 2012;340(3):549-57.
- XALKORI method sheet. Pfizer. Document ID:6427427a-821b-48b4-8f06-0477f0ae4e36. LAB-0441-6.0 June 2014
- ZYKADIA method sheet. Novartis. Document ID:T2015-114/T2015-115. July 2015.
- H Sakamoto, et al. CH5424802, a selective ALK inhibitor capable of blocking the resistant gatekeeper mutant. *Cancer Cell.* 2011;19(5):679-90.
- Kodama T, et al. Antitumor activity of the selective ALK inhibitor alectinib in models of intracranial metastasis. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2014;75(5):1023-28.
- Gadgeel S, et al. Safety and activity of alectinib against systemic disease and brain metastases in patients with crizotinib-resistant ALK-rearranged non-small-cell lung cancer (AF-002JG): results from the dose finding portion of a phase 1/2 study. *Lancet Oncol.* 2014;15(10):1119-28.
- Shaw A, et al. Alectinib in ALK-positive, crizotinib-resistant, non-small-cell lung cancer: a single-group, multicenter, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(2):234-42.
- ALECENSA method sheet. https://www.gene.com/download/pdf/alecensa_prescribing.pdf
- Alunbrig: EPAR- Product Information. <http://www.ema.europa.eu/>
- Johnson T, Richardson P, et al. Discovery of (10R)-7-amino-12-fluoro-2,10,16-trimethyl-15-oxo-10,15,16,17-tetrahydro-2H-8,4- (m etheno)pyrazolo[4,3-h] [2,5,11]-benzoxadiazacyclotetradecine-3-carbonitrile (PF-06463922), a macrocyclic inhibitor of anaplastic lymphoma kinase (ALK) and c-ros oncogene 1 (ROS1) with preclinical brain exposure and broad-spectrum potency against ALK-resistant mutations. *J Med Chem* 2014;57:4720-44.
- Gainor J, Dardaei L, et al. Molecular mechanisms of resistance to first and second generation ALK inhibitors in ALK-rearranged lung cancer. *Cancer Discov* 2016;6:1118-33.
- Zou H, Qiu Hua L, et al. PF-06463922 is a potent and selective next-generation ROS1/ALK inhibitor capable of blocking crizotinib-resistant ROS1 mutations. *Proc Natl Acad Sci.* 2015;112(11):3493-3498.
- Galetta D, et al. The emerging role of ALK inhibitors in the treatment of advanced non-small cell lung cancer. *Expert Opin Ther Targets.* 2012 Suppl 2:S545-54.
- Jokoji R, et al. Combination of morphological feature analysis and immunohistochemistry is useful for screening of EML4-ALK-positive lung adenocarcinoma. *J Clin Pathol.* 2010;63(12):1066-70.
- Mino-Kenudson M, et al. A novel, highly sensitive antibody allows for the routine detection of ALK-rearranged lung adenocarcinomas by standard immunohistochemistry. *Clin Cancer Res.* 2010;16(5):1561-71.
- Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and practice of Histotechnology, 2nd edition. St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1980.
- Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
- 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.
- Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
- Nordiq: Nordic Immunohistochemical Quality Control Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) (lung protocol). Assessment Run 39 2013. http://www.nordiq.org/Run-39-B16-H4/Assessment/Run39_ALK.pdf. 07-12-2013. Accessed February 26, 2014.

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

ЗАБЕЛЕЖКА: В този документ винаги се използва точка като десетичен разделител за маркиране на границата между интегралната и дробната части на десетично число. Разделители за хиляди не се използват.

Резюме на безопасността и производителността можете да намерите тук:

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

Символи

Ventana използва следните символи и знаци в допълнение към изброените в стандарта ISO 15223-1 (за САЩ: вижте [dialog.roche.com](https://www.roche.com/dialog) за дефиниция на използваните символи):



Глобален номер на търговска единица



Уникална идентификация на изделието



Показва организацията, която внася медицинското изделие в Европейския съюз

ИСТОРИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

Ред.	Актуализации
В	Актуализации на разделите Клинична значимост, Предупреждения и предпазни мерки, Процедура на оцветяване, Интерпретация на оцветяването/Очаквани резултати, Аналитични показатели, Референции и Интелектуална собственост. Добавен е апарат BenchMark ULTRA PLUS.

ИНТЕЛЕКТУАЛНА СОБСТВЕНОСТ

VENTANA, BENCHMARK, OPTIVIEW и логото на VENTANA са търговски марки на Roche.

Всички останали търговски марки са собственост на съответните им собственици.

© 2022 Ventana Medical Systems, Inc.

Продава се по лиценз от



ИНФОРМАЦИЯ ЗА КОНТАКТ



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

www.roche.com

