



BIOSYSTEMS

# BOND™ Ready-to-Use Primary Antibody Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

**Catalog No: PA0831**

Leica Biosystems Newcastle Ltd  
Balliol Business Park  
Benton Lane  
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW  
United Kingdom  
☎ +44 191 215 4242



[EN](#) [FR](#) [IT](#) [DE](#) [ES](#) [PT](#) [SV](#) [EL](#) [DA](#) [NL](#)  
[NO](#) [TR](#) [BG](#) [HU](#) [RO](#) [RU](#) [PL](#) [SL](#) [CS](#) [SK](#)

## Instructions for Use

Please read before using this product.

## Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

## Istruzioni per L'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

## Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

## Instrucciones de Uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

## Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

## Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

## Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

## Brugsanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

## Gebbruksinstructies

Lezen vóór gebruik van dit product.

## Bruksanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

## Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

## Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

## Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

## Instrucțiuni de utilizare

Citiți aceste instrucțiuni înainte de a utiliza produsul.

## Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

## Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

## Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

## Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

## Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

## Check the integrity of the packaging before use.

Vérifier que le conditionnement est en bon état avant l'emploi.

Prima dell'uso, controllare l'integrità della confezione. Vor dem Gebrauch die Verpackung auf Unversehrtheit überprüfen.

Comprobar la integridad del envase, antes de usarlo. Verifique a integridade da embalagem antes de utilizar o produto.

Kontrollera att paketet är obrutet innan användning. Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευασίας πριν από τη χρήση.

Kontroller, at pakken er ubeskadiget før brug.

Controleer de verpakking vóór gebruik.

Sjekk at pakningen er intakt før bruk.

Kullanmadan önce ambalajın bozulmamış olmasını kontrol edin.

Проверете целостта на опаковката преди употреба.

Használat előtt ellenőrizze a csomagolás épségét.

Verificați integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Пред применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

Pre použitím skontrolujte, či balenie nie je porušené.



# BOND™ Ready-to-Use Primary Antibody

## Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

### Catalog No: PA0831

#### Intended Use

This reagent is for *in vitro* diagnostic use.

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) monoclonal antibody is intended to be used for the qualitative identification by light microscopy of endogenous ALK and ALK fusion proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue by immunohistochemical staining using the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system).

The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies and proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

#### Summary and Explanation

Immunohistochemical techniques can be used to demonstrate the presence of antigens in tissue and cells (see "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation). Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primary antibody is a ready to use product that has been specifically optimized for use with BOND Polymer Refine Detection. The demonstration of endogenous ALK and ALK fusion proteins is achieved by first allowing the binding of Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) to the section, and then visualizing this binding using the reagents provided in the detection system. The use of these products, in combination with the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system), reduces the possibility of human error and inherent variability resulting from individual reagent dilution, manual pipetting and reagent application.

#### Reagents Provided

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) is a mouse anti-human monoclonal antibody produced as a tissue culture supernatant, and supplied in Tris buffered saline with carrier protein, containing 0.35 % ProClin™ 950 as a preservative.

Total volume = 7 mL.

#### Clone

5A4

#### Immunogen

Prokaryotic recombinant protein corresponding to a region which spans the tyrosine kinase catalytic domain and part of the C-terminus of the NPM-ALK transcript (419-520 amino acids).

#### Specificity

Human ALK protein and C-terminal ALK fusion proteins containing the immunized target sequence.

#### Ig Class

IgG1

#### Total Protein Concentration

Approx 10 mg/mL.

#### Antibody Concentration

Greater than or equal to 2.6 mg/L as determined by ELISA.

#### Dilution and Mixing

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primary antibody is optimally diluted for use on the BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system). Reconstitution, mixing, dilution or titration of this reagent is not required.

#### Materials Required But Not Provided

Refer to "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation for a complete list of materials required for specimen treatment and immunohistochemical staining using the BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system).

#### Storage and Stability

Store at 2–8 °C. Do not use after the expiration date indicated on the container label.

The signs indicating contamination and/or instability of Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) are: turbidity of the solution, odor development, and presence of precipitate.

Return to 2–8 °C immediately after use.

Storage conditions other than those specified above must be verified by the user<sup>1</sup>.

#### Precautions

- This product is intended for *in vitro* diagnostic use.
- The concentration of ProClin™ 950 is 0.35 %. It contains the active ingredient 2-methyl-4-isothiazolin-3-one, and may cause irritation to the skin, eyes, mucous membranes and upper respiratory tract. Wear disposable gloves when handling reagents.
- To obtain a copy of the Material Safety Data Sheet contact your local distributor or regional office of Leica Biosystems, or alternatively, visit the Leica Biosystems' Web site, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- Specimens, before and after fixation, and all materials exposed to them, should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions<sup>2</sup>. Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucous membranes with reagents or specimens. If reagents or specimens come in contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water. Seek medical advice.
- Consult Federal, State or local regulations for disposal of any potentially toxic components.
- Minimize microbial contamination of reagents or an increase in non-specific staining may occur.
- Retrieval, incubation times or temperatures other than those specified may give erroneous results. Any such change must be validated by the user.

## Instructions for Use

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primary antibody was developed for use on the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system) in combination with BOND Polymer Refine Detection. The recommended staining protocol for Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primary antibody is IHC Protocol F. Heat induced epitope retrieval is recommended using BOND Epitope Retrieval Solution 2 for 30 minutes.

## Results Expected

### Normal Tissues

Clone 5A4 detected Anaplastic Lymphoma Kinase protein in some neuroendocrine cells of the pituitary gland and small intestine, alveolar macrophages in lung and a proportion of prostatic stromal cells. All other tissues tested were negative. (Total number of normal cases evaluated = 130).

### Tumor Tissues

Clone 5A4 stained 5/27 anaplastic large cell lymphomas and 2/5 large cell carcinomas of the lung. No staining was observed in a variety of additional abnormal tissues evaluated, including lung tumours (0/68), breast tumours (0/5), thyroid tumours (0/5), tumours of the colon (0/4), liver tumours (0/4), metastatic tumours (0/4), tumours of the oesophagus (0/3), stomach (0/3), and head and neck (0/3), ovarian tumours (0/3), tumours of the adrenal gland (0/2), bladder tumours (0/2), brain tumours (0/2), tumours of the small intestine (0/2), rectal tumours (0/2), kidney tumours (0/2), tumours of the lymph node (0/2), salivary gland (0/2), testis (0/2), cervix (0/2) and endometrium (0/2), an osteosarcoma (0/1), a pancreatic adenocarcinoma (0/1), an adenocarcinoma of the prostate (0/1), a hyperplastic prostate, (0/1), a squamous cell carcinoma of the skin (0/1) and a melanoma (0/1). (Total number of abnormal tissues evaluated = 162).

**Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) is recommended to aid in the evaluation and expression of endogenous ALK and ALK fusion proteins, in normal and neoplastic tissues, as an adjunct to conventional histopathology using non-immunologic histochemical stains.**

## Product Specific Limitations

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) has been optimized at Leica Biosystems for use with BOND Polymer Refine Detection and BOND ancillary reagents. Users who deviate from recommended test procedures must accept responsibility for interpretation of patient results under these circumstances. The protocol times may vary, due to variation in tissue fixation and the effectiveness of antigen enhancement, and must be determined empirically. Negative reagent controls should be used when optimizing retrieval conditions and protocol times.

## Troubleshooting

Refer to reference 3 for remedial action.

Contact your local distributor or the regional office of Leica Biosystems to report unusual staining.

## Further Information

Further information on immunostaining with BOND reagents, under the headings Principle of the Procedure, Materials Required, Specimen Preparation, Quality Control, Assay Verification, Interpretation of Staining, Key to Symbols on Labels, and General Limitations can be found in "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation.

## Bibliography

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisaoka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## Date of Issue

30 November 2018

# Anticorps Primaire Prêt À L'emploi BOND™

## Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

### Référence: PA0831

#### Utilisation Prévue

Ce réactif est destiné au diagnostic *in vitro*.

L'anticorps monoclonal Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) est destiné à l'identification qualitative par microscopie optique des protéines endogènes ALK et de fusion ALK dans des tissus fixés au formol et enrobés de paraffine par marquage immunohistochimique à l'aide du système BOND automatisé (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III).

L'interprétation clinique de tout marquage ou de son absence doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et évaluée dans le contexte des antécédents cliniques du patient et des autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

#### Résumé et Explications

Des techniques immunohistochimiques peuvent être utilisées pour prouver la présence d'antigènes dans les tissus et les cellules (voir « Utilisation des réactifs BOND » dans la documentation utilisateur BOND). L'anticorps primaire Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) est un produit prêt à l'emploi qui a été spécialement optimisé pour une utilisation avec le système BOND Polymer Refine Detection. La présence des protéines endogènes ALK et de fusion ALK est démontrée en permettant d'abord la liaison de la Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) à la coupe, puis la visualisation de cette liaison en utilisant les réactifs fournis dans le système de détection. L'utilisation de ces produits avec le système BOND automatisé (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III) réduit la possibilité d'erreur humaine et la variabilité inhérente qui résulte de la dilution de réactifs individuels, du pipetage manuel et de l'application des réactifs.

#### Réactifs Fournis

La Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) est un anticorps monoclonal anti-humain de la souris produit comme un surnageant de culture tissulaire et conditionné dans une solution saline tamponnée au Tris avec protéine porteuse, contenant un conservateur constitué de 0,35 % de ProClin™ 950

Volume total = 7 mL.

#### Clone

5A4

#### Immunogène

Protéine recombinante procaryote correspondant à une région qui couvre le domaine catalytique de tyrosine-kinase et une partie du C-terminus du transcrit NPM-ALK (acides aminés 419-520).

#### Spécificité

La protéine humaine ALK et les protéines de fusion ALK et C-terminal contiennent la séquence cible immunisée

#### Classe d'Ig

IgG1

#### Concentration Totale en Protéine

Environ 10 mg/mL.

#### Concentration en Anticorps

Supérieure ou égale à 2,6 mg/L déterminée par ELISA.

#### Dilution et Mélange

L'anticorps primaire Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) est dilué de manière optimale pour une utilisation avec le système BOND (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III). Il n'est pas nécessaire de reconstituer, mélanger, diluer ou titrer ce réactif.

#### Matériel Nécessaire Mais Non Fournis

Consultez la section « Utilisation des réactifs BOND » de votre documentation utilisateur BOND pour obtenir la liste complète des matériaux requis pour le traitement et le marquage immunohistochimique des échantillons à l'aide du système BOND (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III).

#### Conservation et Stabilité

Stocker entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon.

Les signes indiquant une contamination ou une instabilité de la Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) sont les suivants : turbidité de la solution, développement d'une odeur et présence de précipité.

Remettre immédiatement entre 2 °C et 8 °C après utilisation.

Les conditions de conservation autres que celles qui sont spécifiées ci-dessus doivent faire l'objet d'une vérification par l'utilisateur\*.

#### Précautions

- Ce produit est conçu pour le diagnostic *in vitro*.
- La concentration de ProClin™ 950 est de 0,35 %. Contient du 2-méthyl-4-isothiazoline-3-one (principe actif) et peut entraîner des irritations de la peau, des yeux, des muqueuses et des voies aériennes supérieures. Porter des gants jetables lors de la manipulation des réactifs.
- Pour obtenir une copie de la fiche technique des substances dangereuses, contactez votre distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems, ou allez sur le site Web de Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- Les échantillons avant et après fixation, ainsi que tous les matériaux exposés à ces échantillons, doivent être traités comme s'ils étaient susceptibles de transmettre une infection et éliminés avec les précautions qui s'imposent<sup>2</sup>. Ne jamais pipeter les réactifs à la bouche et éviter le contact de la peau et des membranes muqueuses avec les réactifs ou les échantillons. Rincer abondamment à l'eau en cas de contact des réactifs ou des échantillons avec des zones sensibles. Consulter un médecin.
- Consulter les réglementations nationales, régionales ou locales relatives à l'élimination des composants potentiellement toxiques.
- Minimiser la contamination microbienne des réactifs afin d'éviter tout accroissement du marquage non spécifique.
- Les méthodes de récupération ou les durées ou températures d'incubation autres que celles précisées peuvent donner des résultats erronés. Tout changement de ce type doit être validé par l'utilisateur.

## Mode d'emploi

L'anticorps primaire Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) a été développé pour être utilisé sur le système BOND automatisé (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III), en combinaison avec le système BOND Polymer Refine Detection. Le protocole de marquage recommandé pour l'anticorps primaire Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) est l'IHC Protocol F. La récupération d'épitopes induite par la chaleur est recommandée avec le système BOND Epitope Retrieval Solution 2 durant 30 minutes.

## Résultats Attendus

### Tissus sains

Le clone 5A4 a détecté la protéine kinase du lymphome anaplasique dans certaines cellules neuroendocrines de l'hypophyse et de l'intestin grêle, les macrophages alvéolaires dans le poumon et une partie des cellules stromales de la prostate. Tous les autres tissus testés étaient négatifs. (Nombre total de cas normaux évalués = 130).

### Tissus tumoraux

Le clone 5A4 a marqué 5/27 lymphomes anaplasiques à grandes cellules et 2/5 carcinomes pulmonaires à grandes cellules. Aucun marquage n'a été observé dans divers tissus anormaux supplémentaires évalués, dont les tumeurs pulmonaires (0/68), les tumeurs du sein (0/5), les tumeurs de la thyroïde (0/5), les tumeurs du colon (0/4), les tumeurs du foie (0/4), les tumeurs métastatiques (0/4), les tumeurs de l'œsophage (0/3), de l'estomac (0/3), et de la tête et du cou (0/3), les tumeurs ovariennes (0/3), les tumeurs des glandes surrénales (0/2), les tumeurs de la vessie (0/2), les tumeurs du cerveau (0/2), les tumeurs de l'intestin grêle (0/2), les tumeurs rectales (0/2), les tumeurs rénales (0/2), les tumeurs du ganglion lymphatique (0/2), des glandes salivaires (0/2), des testicules (0/2), du col de l'utérus (0/2) et de l'endomètre (0/2), un ostéosarcome (0/1), un adénocarcinome du pancréas (0/1), un adénocarcinome de la prostate (0/1), une prostate hyperplasique (0/1), un carcinome à cellules squameuses de la peau (0/1) et un mélanome (0/1). (Nombre total de tissus anormaux évalués = 162).

**La Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) est recommandée pour aider à l'évaluation et à l'expression des protéines ALK et de fusion ALK endogènes dans les tissus normaux et néoplasiques, en complément à l'histopathologie traditionnelle utilisant des marqueurs histochimiques non immunologiques.**

## Limites Spécifiques du Produit

La Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) a été optimisée chez Leica Biosystems pour une utilisation avec le système BOND Polymer Refine Detection et les réactifs auxiliaires BOND. Les utilisateurs qui s'écartent des procédures de test recommandées doivent accepter la responsabilité de l'interprétation des résultats de patient dans ces circonstances. Les durées de protocole peuvent varier en raison de différences dans la fixation de tissu et de l'efficacité de l'amélioration de l'antigène, et doivent être déterminées de manière empirique. Des réactifs de contrôle négatifs doivent être utilisés lors de l'optimisation des conditions de récupération et des durées de protocole.

## Identification des Problèmes

Consultez la référence 3 pour les mesures correctives.

Contactez le distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems pour signaler un marquage inhabituel.

## Autres informations

De plus amples informations concernant l'immunomarquage avec les réactifs BOND sont présentes dans le guide « Utilisation des réactifs BOND » de la documentation utilisateur BOND, sous les rubriques Principes des modalités opératoires, Matériel nécessaire, Préparation de l'échantillon, Contrôle de qualité, Vérification d'analyse, Interprétation du marquage, Légendes des symboles sur les étiquettes, et Limites générales.

## Bibliographie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisaoka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## Date de Publication

30 novembre 2018

# Anticorpo Primario Pronto All'uso BOND™

## Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

### N. catalogo: PA0831

#### Uso Previsto

Questo reagente è per uso diagnostico *in vitro*.

L'anticorpo monoclonale Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) è destinato all'identificazione qualitativa in microscopia ottica delle proteine endogene ALK e di fusione ALK in tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina, sottoposti a colorazione immunostochimica con il sistema automatizzato BOND (che include i sistemi Leica BOND-MAX e Leica BOND-III).

L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione o della sua assenza deve essere completata da studi morfologici usando controlli appropriati e va valutata nel contesto della storia clinica del paziente e di qualsiasi altro test diagnostico da parte di un patologo qualificato.

#### Sommario e Speigazione

Grazie alle tecniche di immunostochimica è possibile dimostrare la presenza di antigeni nel tessuto e nelle cellule (vedere "Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND). L'anticorpo primario Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) è un prodotto di pronto uso, specificamente ottimizzato per l'impiego con BOND Polymer Refine Detection. La dimostrazione di proteine endogene ALK e di fusione ALK viene conseguita consentendo il legame della Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) alla sezione tissutale e, successivamente, visualizzando l'avvenuto legame tramite i reagenti forniti con il sistema. L'uso di questi prodotti, in combinazione con il sistema automatizzato BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III), riduce la possibilità di errore umano e variabilità inerente dovuti alla singola diluizione del reagente, al pipettamento manuale e all'applicazione del reagente.

#### Reagenti Forniti

La Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) è un anticorpo monoclonale anti-umano murino prodotto come surnatante di coltura tissutale e fornito in soluzione salina tamponata Tris con proteina carrier, contenente 0,35% di ProClin™ 950 come conservante.

Volume totale = 7 mL.

#### Clone

5A4

#### Immunogeno

Proteina ricombinante procariotica corrispondente a una regione estesa al dominio catalitico della tirosin-chinasi e a parte dell'estremità C-terminale del trascritto NPM-ALK (419-520 amino acidi).

#### Specificità

La proteina ALK umana e l'estremità C-terminale delle proteine di fusione ALK contengono la sequenza target di immunizzazione

#### Classe Ig

IgG1

#### Concentrazione Proteica Totale

Circa 10 mg/mL.

#### Concentrazione Dell'anticorpo

Superiore o uguale a 2,6 mg/L, determinata mediante ELISA.

#### Diluizione e Miscelazione

L'anticorpo primario Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) è diluito alla concentrazione ottimale per l'uso con il sistema BOND (che include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III). Questo reagente non necessita di ricostituzione, miscelazione, diluizione né titolazione.

#### Materiale Necessario Non Fornito

Fare riferimento a "Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente di BOND per l'elenco completo dei materiali necessari per il trattamento e la colorazione immunostochimica dei campioni con il Sistema BOND (che include i sistemi Leica BOND-MAX e Leica BOND-III).

#### Conservazione e Stabilità

Conservare a 2–8 °C. Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta del flacone.

I segni di contaminazione e/o di instabilità della Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) sono: torbidità della soluzione, sviluppo di odori e presenza di precipitato.

Immediatamente dopo l'uso, raffreddare di nuovo a 2–8 °C.

Condizioni di conservazione diverse da quelle specificate sopra devono essere verificate dall'utilizzatore<sup>1</sup>.

#### Precauzioni

- Il presente prodotto è destinato all'uso diagnostico *in vitro*.
- La concentrazione di ProClin™ 950 è pari allo 0,35%. Contiene il principio attivo 2-metil-4-isotiazolin-3-one, e può causare irritazione alla pelle, agli occhi, alle mucose e al tratto respiratorio superiore. Indossare guanti coibentati quando si maneggiano i reagenti.

- Per ottenere una copia della Scheda di sicurezza sui materiali, rivolgersi al distributore di zona o all'ufficio regionale di Leica Biosystems. In alternativa, visitare il sito Web di Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)
- I campioni, prima e dopo la fissazione, e tutti i materiali a essi esposti, devono essere manipolati come se fossero in grado di trasmettere infezioni e smaltiti con le dovute precauzioni<sup>2</sup>. Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare che i reagenti o i campioni vengano a contatto con la pelle o le mucose. Se i reagenti o i campioni biologici vengono a contatto con aree sensibili del corpo, lavare le parti interessate con abbondanti quantità d'acqua e consultare un medico.
- Per lo smaltimento di eventuali componenti potenzialmente tossici consultare i regolamenti nazionali, regionali o locali.
- Ridurre al minimo la contaminazione microbica dei reagenti, allo scopo di evitare un aumento di colorazione aspecifica.
- Tempi di recupero o incubazione o temperature diversi da quelli specificati possono generare risultati erronei. Qualsiasi cambiamento del genere deve essere convalidato dall'utilizzatore.

## Istruzioni per L'uso

L'anticorpo primario Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) è stato sviluppato per l'uso con i sistemi automatizzati BOND (che include i sistemi Leica BOND-MAX e Leica BOND-III) in combinazione con il BOND Polymer Refine Detection. Il protocollo di colorazione consigliato per l'anticorpo primario Chinasi del linfoma anaplastico (5A4) è IHC Protocol F. Si raccomanda il recupero dell'epitopo mediante calore con BOND Epitope Retrieval Solution 2 per 30 minuti.

## Risultati Attesi

### Tessuti normali

Il clone 5A4 ha rilevato la presenza della proteina chinasi del linfoma anaplastico in alcune cellule neuroendocrine della ghiandola ipofisaria e dell'intestino tenue, in macrofagi alveolari nel polmone e in una percentuale di cellule stromali prostatiche. Tutti i tessuti normali erano negativi. (Numero complessivo di casi normali valutati = 130).

### Tessuti neoplastici

Il clone 5A4 ha colorato 5/27 linfomi anaplastici a grandi cellule e 2/5 carcinomi polmonari a grandi cellule. Nessuna colorazione è stata osservata in una varietà di altri tessuti anomali sottoposti a valutazione, tra cui (0/68) tumori polmonari, (0/5) tumori della mammella, (0/5) tumori della tiroide, (0/4) tumori del colon, (0/4) tumori del fegato, (0/4) tumori metastatici, (0/4), tumori dell'esofago, (0/3) dello stomaco, e (0/3) della testa e del collo, (0/3) tumori ovarici, (0/2) tumori della ghiandola surrenale, (0/2) tumori della vescica, (0/2) tumori cerebrali, (0/2) tumori dell'intestino tenue, (0/2) tumori del retto, (0/2) tumori renali, (0/2) tumori del linfonodo, (0/2) tumori della ghiandola salivare, (0/2) tumori del testicolo, (0/2) tumori della cervice, e (0/2) tumore dell'endometrio, (0/1) osteosarcoma, (0/1) adenocarcinoma pancreatico, (0/1) adenocarcinoma della prostata, (0/1) iperplasia prostatica, (0/1) carcinoma a cellule squamose del pelle, e (0/1) e melanoma. (Numero totale di tessuti abnormi valutati = 162).

**L'uso della Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) è raccomandato per facilitare la valutazione e l'espressione delle proteine endogene ALK e di fusione ALK, in tessuti normali e neoplastici, in aggiunta alle tecniche istopatologiche convenzionali, utilizzando colorazioni istochimiche non-immunologiche.**

## Limitazioni Specifiche del Prodotto

La Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) è stata ottimizzata da Leica Biosystems per l'uso con BOND Polymer Refine Detection e i reagenti ausiliari BOND. Gli utenti che modificano le procedure raccomandate devono assumersi la responsabilità dell'interpretazione dei risultati relativi ai pazienti in tali circostanze. I tempi previsti dal protocollo possono variare in base alle differenze di fissazione tissutale e all'efficienza di potenziamento dell'antigene e, pertanto, devono essere definiti empiricamente. Durante l'ottimizzazione delle condizioni di riconoscimento e dei tempi del protocollo occorre utilizzare controlli negativi del reagente.

## Risoluzione dei problemi

Per le azioni di rimedio consultare il riferimento bibliografico n. 3.

Se si notano colorazioni inusuali, informarne il distributore di zona o l'ufficio regionale Leica Biosystems.

## Ulteriori Informazioni

Ulteriori informazioni sull'immunocolorazione con i reagenti BOND, sotto le intestazioni Principio della procedura, Materiali necessari, Preparazione del campione, Controllo qualità, Verifica del saggio, Interpretazione della colorazione, Legenda dei simboli sulle etichette e Limitazioni generali, possono essere reperite in "Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utilizzatore BOND.

## Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisaoka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## Data di Pubblicazione

30 novembre 2018



# Gebrauchsfertiger BOND™ -Primärantikörper Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

Bestellnr.: PA0831

## Verwendungszweck

Dieses Reagenz ist für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.

Der monoklonale Antikörper Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) ist für den qualitativen lichtmikroskopischen Nachweis von endogenem ALK und ALK-Fusionsproteinen in formalinfixiertem, paraffineingebettetem Gewebe durch immunhistochemische Färbung mit dem automatisierten BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) vorgesehen.

Die klinische Interpretation jeglicher Färbungen oder das Ausbleiben dieser durch morphologische Studien und unter Anwendung geeigneter Kontrollen sollte ergänzt und unter Berücksichtigung der Krankengeschichte des Patienten sowie im Rahmen anderer diagnostischer Tests durch einen qualifizierten Pathologen bewertet werden.

## Zusammenfassung und Erläuterung

Immunhistochemische Methoden können dazu verwendet werden, die Anwesenheit von Antigenen in Geweben und Zellen zu demonstrieren (sehen Sie dazu „Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien“ in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch). Der Primärantikörper Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) ist ein gebrauchsfertiges Produkt, das speziell für den Gebrauch mit dem BOND Polymer Refine Detection optimiert wurde. Der Nachweis von endogenem ALK und ALK-Fusionsproteinen erfolgt durch Bindung von Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) an das Präparat mit nachfolgender Darstellung dieser Bindung mithilfe der im Detektionssystem enthaltenen Reagenzien. Die Verwendung dieser Produkte in Kombination mit dem automatisierten BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) reduziert die Wahrscheinlichkeit von menschlichem Versagen sowie die inhärente Variabilität, die aus der Verdünnung der einzelnen Reagenzien, der manuellen Pipettierung und der Anwendung der Reagenzien resultieren.

## Mitgelieferte Reagenzien

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) ist ein aus Zellkulturüberstand hergestellter monoklonaler Maus-Anti-Human-Antikörper, der in Tris-gepufferter Kochsalzlösung mit Trägerprotein geliefert wird und als Konservierungsstoff 0,35 % ProClin™ 950 enthält.

Gesamtvolumen = 7 mL.

## Klon

5A4

## Immunogen

Prokaryotisches rekombinantes Protein, das einer Region entspricht, die die katalytische Domäne der Tyrosinkinase und einen Teil des C-Terminus des NPM-ALK-Transkripts umspannt (419–520 Aminosäuren).

## Spezifität

Humanes ALK-Protein und C-terminale ALK-Fusionsproteine, die die immunisierte Zielsequenz enthalten.

## Ig-Klasse

IgG1

## Gesamtproteinkonzentration

Ungefähr 10 mg/mL.

## Antikörperkonzentration

Größer oder gleich 2,6 mg/L, bestimmt mit ELISA.

## Verdünnen und Mischen

Der Primärantikörper Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) weist eine optimale Verdünnung für die Verwendung mit dem BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) auf. Ein Rekonstituieren, Mischen, Verdünnen oder Titrieren dieses Reagenzes ist nicht erforderlich.

## Erforderliche, Aber Nicht Mitgelieferte Materialien

Bitte entnehmen Sie die vollständige Liste der für die Probenvorbereitung und immunhistochemische Färbung mithilfe des BOND-Systems (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) benötigten Materialien dem Kapitel „Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien“ in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch.

## Lagerung und Stabilität

Bei 2–8 °C lagern. Nach Ablauf des auf dem Behälteretikett angegebenen Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

Zeichen, die auf eine Kontamination und/oder Instabilität von Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) hinweisen, sind eine Trübung der Lösung, Geruchsentwicklung und das Vorhandensein von Präzipitat.

Nach Gebrauch sofort wieder bei 2–8 °C lagern.

Lagerbedingungen, die von den oben genannten Bedingungen abweichen, müssen vom Benutzer verifiziert werden<sup>1</sup>.

## Vorsichtsmaßnahmen

- Dieses Produkt ist zur *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
- Die Konzentration von ProClin™ 950 liegt bei 0,35 %. Das Produkt enthält den Wirkstoff 2-Methyl-4-isothiazolin-3-on und kann zur Reizung von Haut, Augen, Schleimhäuten und den oberen Atemwegen führen. Beim Umgang mit Reagenzien Einmalhandschuhe tragen.

- Ein Exemplar des Material-Sicherheitsdatenblatts erhalten Sie von Ihrem lokalen Vertriebspartner oder der regionalen Niederlassung von Leica Biosystems. Sie können auch die Website von Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com), besuchen.
- Proben vor und nach der Fixierung und alle mit ihnen in Kontakt kommenden Materialien sind wie infektiöses Material zu behandeln und mit den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen zu entsorgen<sup>2</sup>. Reagenzien dürfen niemals mit dem Mund pipettiert werden. Kontakt von Haut und Schleimhäuten mit Reagenzien oder Proben muss vermieden werden. Falls Reagenzien oder Proben mit empfindlichen Bereichen in Kontakt gekommen sind, müssen diese mit reichlich Wasser gespült werden. Ärztlichen Rat einholen.
- Hinsichtlich der Entsorgung potenziell giftiger Komponenten muss auf die jeweils geltenden Bestimmungen Bezug genommen werden.
- Die mikrobielle Verunreinigung von Reagenzien ist zu minimieren, da ansonsten eine erhöhte unspezifische Färbung auftreten kann.
- Eine von den angegebenen Spezifikationen abweichende Maskierung, Inkubationszeit oder Temperatur kann zu fehlerhaften Resultaten führen. Jegliche Abweichungen von den angegebenen Werten müssen vom Benutzer verifiziert werden.

## Gebrauchsanweisung

Der Primärantikörper Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) wurde für die Verwendung in dem automatisierten BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) in Kombination mit BOND Polymer Refine Detection entwickelt. Das empfohlene Färbeverfahren für den Primärantikörper Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) ist das IHC-Protokoll F. Empfohlen wird die hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER) mithilfe von BOND Epitope Retrieval Solution 2 für 30 Minuten.

## Erwartete Ergebnisse

### Normale Gewebe

Klon 5A4 wies das Protein Anaplastic Lymphoma Kinase in einigen neuroendokrinen Zellen der Hypophyse und des Dünndarms, alveolären Makrophagen der Lunge und einem Teil der Prostatastromazellen nach. Alle anderen getesteten Gewebe waren negativ. (Anzahl der insgesamt untersuchten Normalgewebeprobe(n) = 130).

### Tumorgewebe

Klon 5A4 färbte 5/27 anaplastisch-großzellige Lymphome und 2/5 großzellige Karzinome der Lunge. Bei einer Reihe weiterer untersuchter pathologischer Gewebe wurde keine Färbung nachgewiesen, darunter Lungentumoren (0/68), Mammatumoren (0/5), Tumoren der Schilddrüse (0/5), Darmtumoren (0/4), Lebertumoren (0/4), Tumoren metastatischen Ursprungs (0/4), Tumoren der Speiseröhre (0/3), des Magens (0/3), und des Halses und des Kopfs (0/3), Ovarialtumoren (0/3), Tumoren der Nebenniere (0/2), Blasen Tumoren (0/2), Hirntumoren (0/2), Dünndarmtumoren (0/2), Rektumtumoren (0/2), Nierentumoren (0/2), Tumoren des Lymphknotens (0/2), der Speicheldrüse (0/2), der Hoden (0/2), des Zervix (0/2) und des Endometriums (0/2) sowie einem Osteosarkom (0/1), einem Adenokarzinom des Pankreas (0/1), einem Adenokarzinom des Prostata (0/1), einer Prostatahyperplasie, (0/1), einem Plattenepithelkarzinom der Haut (0/1) und einem Melanom (0/1). (Anzahl der insgesamt untersuchten Proben anomaler Gewebe = 162).

**Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) wird zur Unterstützung der Evaluierung der Expression von endogenem ALK und ALK-Fusionsproteinen in normalem und neoplastischen Gewebe als zusätzliches Hilfsmittel zur herkömmlichen Histopathologie unter Verwendung nicht-immunologischer histochemischer Färbemittel empfohlen.**

## Produktspezifische Beschränkungen

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) wurde bei Leica Biosystems zur Verwendung mit den BOND Polymer Refine Detection- und zusätzlichen BOND-Reagenzien optimiert. Anwender, die andere als die empfohlenen Testverfahren verwenden, müssen unter diesen Umständen die Verantwortung für die Auswertung der Patientenergebnisse übernehmen. Die Protokollzeit kann aufgrund von Unterschieden in der Gewebefixierung und der Wirksamkeit der Antigenverstärkung variieren und muss empirisch bestimmt werden. Zur Optimierung der Demaskierungsbedingungen und Protokolllaufzeiten sollten Negativkontrollreagenzien verwendet werden.

## Fehlersuche und Behebung

Fehlerbehebungsmaßnahmen finden Sie in Referenz 3.

Falls Sie ungewöhnliche Färbegergebnisse beobachten, wenden Sie sich an Ihre örtliche Vertriebsfirma oder an die Regionalniederlassung von Leica Biosystems.

## Weitere Informationen

Weitere Informationen zur Immunfärbung mit BOND-Reagenzien finden Sie in den Abschnitten „Grundlegende Vorgehensweise“, „Erforderliches Material“, „Probenvorbereitung“, „Qualitätskontrolle“, „Assay-Verifizierung“, „Deutung der Färbung“, „Schlüssel der Symbole auf den Etiketten“ und „Allgemeine Einschränkungen“ in „Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien“ in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch.

## Bibliografie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 1163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisaoka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## Ausgabedatum

30 November 2018

# Anticuerpo Primario Listo Para Usar BOND™

## Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

### Catálogo N°.: PA0831

#### Indicaciones de Uso

Este reactivo es para uso diagnóstico *in vitro*.

El anticuerpo monoclonal Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) está indicado para su uso en la caracterización cualitativa por microscopía óptica de proteínas ALK endógenas y de fusión ALK en tejido fijado en formol y embebido en parafina mediante tinción inmunohistoquímica con el sistema automatizado BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III de Leica).

La interpretación clínica de toda tinción o de su ausencia deberá complementarse con estudios morfológicos que utilicen los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado deberá realizar su evaluación dentro del contexto de los antecedentes médicos del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

#### Resumen y Explicación

Las técnicas inmunohistoquímicas pueden ser utilizadas para detectar la presencia de antígenos en tejidos y células (véase "Uso de reactivos BOND" en la documentación del usuario del sistema BOND). El anticuerpo primario Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) es un producto listo para usar que se ha optimizado específicamente para su uso con BOND Polymer Refine Detection. La demostración de las proteínas ALK endógenas y de fusión ALK se consigue al permitir, en primer lugar, la unión de la Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) a la sección, y, a continuación, visualizando esta unión con los reactivos incluidos en el sistema de detección. El uso de estos productos, en combinación con el sistema automatizado BOND (incluye los sistemas Leica BOND-MAX y Leica BOND-III), reduce la posibilidad de error humano y la variabilidad inherente derivada de la dilución de reactivos, el pipeteado manual y la aplicación de reactivos.

#### Reactivos Suministrados

El Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) es un anticuerpo monoclonal antihumano de ratón que se produce como sobrenadante en cultivos de tejido, y se suministra en solución salina tamponada de Tris con proteína portadora, que contiene el 0,35 % de ProClin™ 950 como conservante.

Volumen total = 7 mL.

#### Clon

5A4

#### Inmunógeno

Proteína recombinante procarciógena correspondiente a una región que abarca el dominio catalítico de la tirosina cinasa y parte del extremo C-terminal de la transcripción de NPM-ALK (aminoácidos 419-520).

#### Especificidad

Proteína ALK humana y proteínas de fusión ALK en C-terminal que contienen la secuencia diana inmunizada.

#### Clase de Ig

IgG1

#### Concentración Total de Proteína

Aprox. 10 mg/mL.

#### Concentración de Anticuerpos

Mayor o igual a 2,6 mg/L según lo determinado por ELISA.

#### Dilución y Mezcla

El anticuerpo primario Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) se diluye de forma óptima para usarse en el sistema BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III). Este reactivo no requiere reconstitución, mezcla, dilución ni titulación.

#### Material Necesario Pero No Suministrado

Consulte "Uso de reactivos BOND" en su documentación del usuario del sistema BOND para ver un listado completo con los materiales necesarios para el tratamiento de las muestras y la tinción inmunohistoquímica mediante el sistema BOND (incluye los sistemas Leica BOND-MAX y Leica BOND-III).

#### Conservación y Estabilidad

Almacenar a 2-8°C. No utilizar después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del recipiente.

Los signos de contaminación y/o inestabilidad de la Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) son: turbidez de la solución, aparición de olor y presencia de precipitado.

Devolver a 2-8°C inmediatamente después de su uso.

Las condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario<sup>1</sup>.

#### Precauciones

- Este producto está indicado para uso diagnóstico *in vitro*.
- La concentración de ProClin™ 950 es de 0,35 %. Contiene el ingrediente activo 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, y puede provocar irritación en la piel, los ojos, las membranas mucosas y el tracto respiratorio superior. Deberán utilizarse guantes desechables al manipular los reactivos.

- Para obtener un ejemplar de la Ficha de datos de seguridad del material, póngase en contacto con su distribuidor local o con la sucursal regional de Leica Biosystems; también puede visitar el sitio web de Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)
- Las muestras, antes y después de ser fijadas, y todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como sustancias capaces de transmitir infecciones y eliminarse tomando las precauciones adecuadas<sup>2</sup>. Nunca pipetee reactivos con la boca; evite el contacto de la piel y las mucosas con reactivos o muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lávelas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.
- Consulte la normativa pertinente sobre la eliminación de componentes potencialmente tóxicos.
- Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.
- La recuperación, los tiempos de incubación y las temperaturas distintos a los especificados pueden dar lugar a resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.

## Instrucciones de Uso

El anticuerpo primario Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) se ha desarrollado para usarse en el sistema BOND automatizado (incluye el sistema Leica BOND MAX y el sistema Leica BOND-III) en combinación con la BOND Polymer Refine Detection. El protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo primario Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) es IHC Protocol F. Se recomienda la exposición de epítipos inducida por calor usando BOND Epitope Retrieval Solution 2 durante 30 minutos.

## Resultados Esperados

### Tejidos normales

El clon 5A4 detectó la proteína cinasa del linfoma anaplásico en ciertas células neuroendocrinas de la glándula pituitaria y el intestino delgado, los macrófagos alveolares en el pulmón y una parte de las células del estroma prostático.

El resto de los tejidos comprobados resultaron negativos. (Cifra total de casos normales evaluados = 130).

### Tejidos tumorales

El clon 5A4 tiñó 5/27 linfomas anaplásicos de células grandes y 2/5 carcinomas de células grandes del pulmón. No se observó tinción en diversos tejidos adicionales anormales evaluados, incluyendo tumores pulmonares (0/68), tumores mamaros (0/5), tumores tiroideos (0/5), tumores del colon (0/4), tumores hepáticos (0/4), tumores metastásicos (0/4), tumores esofágicos (0/3), estomacales (0/3) y de cabeza y cuello (0/3), tumores ováricos (0/3), tumores de la glándula suprarrenal (0/2), tumores de vejiga (0/2), tumores cerebrales (0/2), tumores del intestino delgado (0/2), tumores del recto (0/2), tumores renales (0/2), tumores del nódulo linfático (0/2), de las glándulas salivales (0/2), testiculares (0/2), del cuello uterino (0/2) y endometriales (0/2), un osteosarcoma (0/1), un adenocarcinoma pancreático (0/1), un adenocarcinoma prostático (0/1), una hiperplasia prostática (0/1), un carcinoma escamoso de piel (0/1) y un melanoma (0/1). (Número total de tejidos anormales evaluados = 162).

**Se recomienda la Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) como asistencia para la evaluación y expresión de las proteínas endógena ALK y de fusión ALK en tejidos normales y neoplásicos, como complemento de la histopatología tradicional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.**

## Limitaciones Específicas del Producto

La Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) se ha optimizado en Leica Biosystems para su uso con BOND Polymer Refine Detection y reactivos auxiliares BOND. Los usuarios que se aparten de los procedimientos de análisis recomendados deben asumir la responsabilidad de interpretar los resultados del paciente teniendo en cuenta estas circunstancias. Los tiempos del protocolo puede oscilar, debido a la variación en la fijación del tejido y la eficacia de la mejora del antígeno, y deben determinarse empíricamente. Se utilizarán controles de los reactivos negativos a la hora de optimizar las condiciones de la recuperación y los tiempos del protocolo.

## Resolución de Problemas

Consulte la referencia 3 para encontrar la acción correctora.

Póngase en contacto con su distribuidor local o con la sucursal regional de Leica Biosystems para notificar tinciones anormales.

## Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la inmunotinción con los reactivos BOND en los apartados Principio del procedimiento, Materiales necesarios, Preparación de las muestras, Control de calidad, Verificación del ensayo, Interpretación de la tinción, Explicación de los símbolos de las etiquetas y Limitaciones generales en la sección "Uso de los reactivos BOND" de la documentación del usuario del sistema BOND.

## Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisaoka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## Fecha de Publicación

30 de noviembre de 2018

# Anticorpo Primário Pronto a Usar BOND™

## Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

Nº de catálogo: PA0831

### Utilização Prevista

Este reagente destina-se à utilização em diagnóstico *in vitro*.

O anticorpo monoclonal Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) destina-se à identificação qualitativa por microscopia ótica das proteínas endógenas e de fusão ALK em tecidos embebidos em parafina e fixados em formalina por coloração imuno-histoquímica usando o sistema BOND automático (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III).

A interpretação clínica de qualquer coloração, ou da sua ausência, deve ser complementada por estudos morfológicos e os devidos controlos, avaliando-se no contexto da história clínica do doente e de outros exames de diagnóstico por um anatomopatologista qualificado.

### Resumo e Explicação

As técnicas de imuno-histoquímica podem ser usadas para demonstrar a presença de antígenos em tecidos e células (ver "Utilização dos Reagentes BOND" na documentação do utilizador BOND). O anticorpo primário Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) consiste num produto pronto a usar que foi especificamente otimizado para utilização com BOND Polymer Refine Detection. A demonstração das proteínas endógenas e de fusão ALK é alcançada ao permitir, pela primeira vez, a ligação do Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) à secção e, em seguida, observar esta ligação utilizando os reagentes fornecidos no sistema de deteção. A utilização destes produtos, em combinação com o sistema BOND automático (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III), reduz a possibilidade de erro humano e a variabilidade inerente resultante da diluição do reagente individual, da pipetagem manual e da aplicação do reagente.

### Reagentes Fornecidos

O Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) é um anticorpo monoclonal anti-humano de rato produzido como sobrenadante de cultura de tecidos e fornecido em soro fisiológico tamponado com Tris com uma proteína transportadora, contendo 0,35% de ProClin™ 950 como conservante.

Volume total = 7 mL.

### Clone

5A4

### Imunogénio

A proteína recombinante procariótica corresponde a uma região que abrange o domínio catalítico da tirosina quinase e parte da região terminal C da transcrição do NPM-ALK (aminoácidos 419-520).

### Especificidade

A proteína ALK humana e as proteínas de fusão da região terminal C contém a sequência alvo imunizada.

### Classe De Ig

IgG1

### Concentração de Proteínas Totais

Aproximadamente 10 mg/mL.

### Concentração de Anticorpos

Maior ou igual a 2,6 mg/L, conforme determinado por ELISA.

### Diluição e Mistura

O anticorpo primário Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) é idealmente diluído para utilização no sistema BOND (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III). Não é necessário reconstituir, misturar, diluir ou titular este reagente.

### MATERIAS Necessários Mas Não Fornecidos

Consulte "Utilização dos Reagentes BOND" na documentação do utilizador BOND para obter uma lista completa dos materiais necessários para o tratamento das amostras e a coloração imuno-histoquímica utilizando o sistema BOND (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III).

### Armazenamento e Estabilidade

Armazenar a 2–8 °C. Não utilizar após a data de validade indicada no rótulo do frasco.

Os sinais indicativos de contaminação e/ou instabilidade do Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) são: turvação da solução, desenvolvimento de odores e presença de precipitado.

Voltar a colocar entre 2 °C e 8 °C imediatamente após a utilização.

Outras condições de armazenamento além das especificadas anteriormente têm de ser verificadas pelo utilizador<sup>1</sup>.

### Precauções

- Este produto destina-se à utilização em diagnóstico *in vitro*.
- A concentração de ProClin™ 950 é 0,35%. Contém o ingrediente ativo 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, e pode causar irritação à pele, olhos, membranas mucosas e trato respiratório superior. Utilizar luvas descartáveis quando manusear o produto.
- Para obter uma cópia da Ficha de dados de segurança do material, contacte o seu distribuidor local, gabinete regional da Leica Biosystems ou, em alternativa, visite o site da Leica Biosystems [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- As amostras, antes e depois da fixação, bem como todos os materiais expostos a estas, devem ser manuseadas como se fossem capazes de transmitir doenças infecciosas e descartadas com as devidas precauções. Nunca pipete os reagentes com a boca e evite o contacto dos reagentes e das amostras com a pele e as mucosas. Se os reagentes ou as amostras entrarem em contacto com áreas sensíveis, lave com água abundante. Procure assistência médica.
- Consulte os regulamentos locais, nacionais ou internacionais relativamente à eliminação de eventuais componentes que possam ser tóxicos.
- Minimize a contaminação microbiana dos reagentes, caso contrário poderá ocorrer um aumento da coloração não específica.
- Recuperação, períodos de incubação ou temperaturas diferentes das especificadas podem originar resultados erróneos. Qualquer alteração deve ser validada pelo utilizador.

## Instruções de Utilização

O anticorpo primário Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) foi desenvolvido para utilização no sistema BOND automático (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III) em combinação com BOND Polymer Refine Detection. O protocolo de coloração indicado para o anticorpo primário Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) é o IHC Protocol F. Recomenda-se a recuperação de epítomos induzida por calor utilizando a Bond Epitope Retrieval Solution 2 durante 30 minutos.

## Resultados Esperados

### Tecidos normais

O clone 5A4 detetou Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) em algumas células neuroendócrinas da glândula pituitária e no intestino delgado, macrófagos alveolares nos pulmões e uma quantidade de células do estroma prostático. Todos os restantes tecidos testados estavam negativos. (Número total de casos normais avaliados = 130).

### Tecidos tumorais

O Clone 5A4 corou 5/27 linfomas anaplásicos de células grandes e 2/5 carcinomas de pulmão de células grandes. Não foi observada coloração numa variedade de tecidos anómalos avaliados, incluindo tumores pulmonares (0/68), tumores da mama (0/5), tumores da tireoide (0/5), tumores do cólon (0/4), tumores do fígado (0/4), tumores metastáticos (0/4), tumores do esófago (0/3), estômago (0/3), cabeça e pescoço (0/3), tumores dos ovários (0/3), tumores da glândula adrenal (0/2), tumores da bexiga (0/2), tumores cerebrais (0/2), tumores do intestino delgado (0/2), tumores retais (0/2), tumores renais (0/2), tumores do gânglio linfático (0/2), glândula salivar (0/2), testículos (0/2), colo do útero (0/2) glândula salivar (0/2), testículos (0/2), colo do útero (0/2), um osteossarcoma (0/1), um adenocarcinoma do pâncreas (0/1), um adenocarcinoma da próstata (0/1), um hiperplásico da próstata, (0/1), um carcinoma escamoso da pele (0/1) e um melanoma (0/1). (Número total de tecidos anómalos avaliados = 162).

**O Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) é recomendado para auxiliar na avaliação e expressão de proteínas endógenas e de fusão ALK em tecidos normais e neoplásicos, como um adjunto à histopatologia convencional através da utilização de corantes não-imunológicos histoquímicos.**

## Informações Específicas do Produto

O Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) foi otimizado pela Leica Biosystems para utilização com BOND Polymer Refine Detection e reagentes auxiliares BOND. Os utilizadores que se desviem dos procedimentos de teste recomendados devem assumir a responsabilidade pela interpretação dos resultados do paciente nestas circunstâncias. O tempo de protocolo poderá variar, devido à variação na fixação de tecido e na eficácia do reforço antigénico, e deve ser determinado empiricamente. Os controlos negativos de reagente deverão ser utilizados durante a otimização das condições de recuperação e dos tempos de protocolo.

## Resolução de Problemas

Consulte a referência 3 quanto a medidas corretivas.

Contacte o distribuidor local ou o gabinete regional da Leica Biosystems para comunicar colorações anormais.

## Mais informação

Pode encontrar mais informação sobre a ISH com reagentes BOND nas secções Princípio do procedimento, Materiais necessários, Preparação da amostra, Controlo de qualidade, Verificação do ensaio, Interpretação da coloração, Significado dos símbolos nos rótulos e Limitações gerais em "Utilização dos Reagentes BOND" na documentação de utilizador BOND.

## Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisaoka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## Data de Emissão

30 de Novembro de 2018

# BOND™ Primär Antikropp - Färdig Att Användas

## Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

Artikelnummer: PA0831

### Användningsområde

Detta reagens är avsett för *in vitro*-diagnostik.

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) monoklonal antikropp är avsedd att användas för kvalitativ identifiering genom ljusmikroskopi av endogent ALK och ALK-fusionsproteiner i formalinfixerade, paraffinbäddade vävnader med immunhistokemisk färgning med hjälp av det automatiska BOND-systemet (inkluderar Leica BOND-MAX-systemet och Leica BOND-III-systemet).

Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro kompletteras av morfologiska studier och korrekta kontroller, samt utvärderas mot bakgrund av patientens kliniska historia och andra diagnostiska tester av en kvalificerad patolog.

### Förklaring och Sammanfattning

Immunhistokemiska tekniker kan användas för att påvisa förekomsten av antigener i vävnader och celler (se "Användning av BOND-reagens" i din BOND-användardokumentation). Den primära antikroppen Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) är en bruksfärdig produkt som optimerats speciellt för användning med BOND Polymer Refine Detection. Påvisandet av endogent ALK och ALK-fusionsproteiner uppnås genom att först låta Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) bindas till snittet och därefter visualisera denna bindning med hjälp av de reagens som tillhandahålls i detektionssystemet. Om du använder dessa produkter i kombination med det automatiska BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III) minskar du risken för mänskliga misstag och de oundvikliga variationer som blir resultatet av individuell reagensutspädning och manuell pipettering och reagensanvändning.

### Ingående Reagenser

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) är en mus-anti-human monoklonal antikropp som producerats som en supernatant från vävnadskultur, och levereras i Tris-buffrad saltlösning med bärarprotein, innehållande 0,35 % ProClin™ 950 som konserveringsmedel.

Total volym = 7 mL.

### Klon

5A4

### Immunogen

Prokaryotiskt rekombinant protein motsvarande en region som sträcker sig över tyrosinkinasas katalytiska domän och delar av C-terminus på NPM-ALK-transkriptet (aminosyror 419-520).

### Specifitet

Humant ALK-protein och C-terminala ALK-fusionsproteiner innehållande den immuniserade målsekvensen.

### Ig-klass

IgG1

### Total Proteinkoncentration

Omkring 10 mg/mL.

### Antikropps-koncentration

Större än eller lika med 2,6 mg/L enligt bestämning med ELISA.

### Spädning och Blandning

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primär antikropp är optimalt spädd för användning med BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III). Detta reagens behöver varken rekonstitueras, blandas, spädas eller titreras.

### Nödvändig Materiel Som Ej Medföljer

Se "Användning av BOND-reagens" i BOND användardokumentation för en komplett lista över material som krävs för provbehandling och immunhistokemisk färgning med BOND-systemet (som innefattar Leica BOND-MAX- och Leica BOND-III-systemet).

### Förvaring och Stabilitet

Förvaras vid 2–8 °C. Använd inte efter det utgångsdatum som finns angivet på behållarens etikett.

De tecken som indikerar kontaminering och/eller instabilitet hos Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) är: grumling av lösningen, utveckling av odoer och närvaro av fällning.

Återgå till 2–8 °C direkt efter användning.

Förvaringsförhållanden som skiljer sig från de ovannämnda måste kontrolleras av användaren<sup>1</sup>.

### Försiktighetsåtgärder

- Produkten är avsedd för *in vitro*-diagnostik.
- Koncentrationen av ProClin™ 950 är 0,35 %. Det innehåller den aktiva beståndsdel 2-metyl-4-isotiazolin-3-on och kan orsaka irritation i huden, ögonen, slemhinnorna och övre luftvägarna. Bär engångshandskar vid hantering av reagens.
- Du kan få en kopia av materialsäkerhetsdatabladet genom att kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor eller också på Leica Biosystems webbplats, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- Prover, både före och efter fixering, samt all materiel som exponeras för dem, bör behandlas och avfallshanteras som potentiellt smittbärande material. Munpipettera aldrig reagens och undvik att hud eller slemhinnor kommer i kontakt med reagens eller prover. Om reagens eller prover skulle komma i kontakt med känsliga områden bör du tvätta dig med rikliga mängder vatten. Rådgör med läkare.
- Angående avfallshantering av potentiellt toxiska material hänvisar vi till gällande europeiska, nationella och lokala bestämmelser och förordningar.
- Minimera mikrobisk kontaminering av reagens annars kan en ökning av ospecifik färgning ske.
- Återvinning, inkubationstider eller temperaturer som avviker mot dem angivna kan ge felaktiga resultat. Alla sådana ändringar måste valideras av användaren.

## Instruktioner vid Användning

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primär antikropp har utvecklats för användning på det automatiserade BOND-systemet (som innefattar Leica BOND-MAX- och Leica BOND-III-system) i kombination med BOND Polymer Refine Detection. Det rekommenderade färgningsprotokollet för Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primär antikropp är IHC Protocol F. Värmeinducerad epitopåtervinning rekommenderas med användning av BOND Epitope Retrieval Solution 2 i 30 minuter.

## Förväntade Resultat

### Normala vävnader

Klon 5A4 detekterade anaplastiskt lymfkinasprotein i vissa neuroendokrina celler i hypofysen och tunntarmen, alveolära makrofager i lungan och en del prostata stromaceller. Alla andra testade vävnader var negativa. (Totalt antal utvärderade normalfall = 130).

### Tumörvävnader

Klon 5A4 färgade 5/27 anaplastiska storcellslymfom och 2/5 storcellskarcinom i lungan. Ingen färgning observerades i ett flertal ytterligare onormala vävnader som utvärderades, inklusive lungtumörer (0/68), brösttumörer (0/5), sköldkörteltumörer (0/5), tumörer i tjocktarmen (0/4), levertumörer (0/4), metastatiska tumörer (0/4), tumörer i esofagus (0/3), mage (0/3) och huvud och nacke (0/3), ovarietumörer (0/3), tumörer i binjurarna (0/2), tumörer i urinblåsan (0/2), hjärntumörer (0/2), tumörer i tunntarmen (0/2), rektala tumörer (0/2), njurtumörer (0/2), tumörer i lymfkörtlar (0/2), spottkörtlar (0/2), testis (0/2), livmoderhalsen (0/2) och endometrium (0/2), ett osteosarkom (0/1), ett pankreatiskt adenokarcinom (0/1), ett adenokarcinom i prostata (0/1), en hyperplastisk prostata (0/1), ett skivcellskarcinom (0/1) och ett melanom (0/1). (Totalt antal onormala vävnadsprover som utvärderades = 162).

**Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) rekommenderas som ett hjälpmedel för att utvärdera uttryck av endogen ALK och ALK-fusionsproteiner, i normala och neoplastiska vävnader, som ett komplement till konventionell histopatologi med användning av icke-immunologiska histokemiska infärgningar.**

## Produktspecifika Begränsningar

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) har optimerats hos Leica Biosystems för användning med BOND Polymer Refine Detection och BOND kompletterande reagens. Användare som avviker från rekommenderade testprocedurer måste ta ansvar för tolkningen av patientens resultat under sådana omständigheter. Protokolltiderna kan variera beroende på variation i vävnadsfixering och effektiviteten av antigenförstärkning och måste bestämmas empiriskt. Negativa reagenskontroller bör användas vid optimering av hämningsförhållanden och protokolltider.

## Felsökning

Se referens 3 för korrigerande åtgärder.

Kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor för att rapportera onormal infärgning.

## Mer information

Mer information om immunfärgning med BOND-reagens finns under rubrikerna Bakgrund till metoden, Nödvändiga materiel, Förbereda provet, Kvalitetskontroll, Verifiering av assayer, Tolka infärgningsresultat, Symbolförklaring för etiketter och Allmänna begränsningar i "Använda BOND-reagens" i din BOND användardokumentation.

## Litteraturförteckning

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisaoka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## Utgivningsdatum

30 november 2018



# Έτοιμο Για Χρήση Πρωτογενές Αντίσωμα BOND™

## Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

### Αρ. καταλόγου: PA0831

#### Χρήση για την οποία προορίζεται

Αυτό το αντιδραστήριο προορίζεται για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Το μονοκλωνικό αντίσωμα Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) προορίζεται για χρήση στην ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός ενδογενών πρωτεϊνών ALK και πρωτεϊνών σύντηξης ALK σε ιστό μονιμοποιημένο με φορμαλίνη και εμπιστευμένο με παραφίνη με ανοσοϊστοχημική χρώση, χρησιμοποιώντας το αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III).

Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται από μορφολογικές μελέτες και κατάλληλους μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

#### Σύνοψη και επεξήγηση

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ανοσοϊστοχημικές τεχνικές για την κατάδειξη της παρουσίας αντιγόνων σε ιστό και κύτταρα (βλ. «Χρήση αντιδραστηρίων BOND» στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND). Το πρωτογενές αντίσωμα Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) είναι ένα έτοιμο για χρήση προϊόν που έχει βελτιστοποιηθεί ειδικά για χρήση με το BOND Polymer Refine Detection. Η κατάδειξη των ενδογενών πρωτεϊνών ALK και των πρωτεϊνών σύντηξης ALK επιτυγχάνεται επιτρέποντας πρώτα τη δέσμευση της Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) στο τμήμα και κατόπιν οπτικοποιώντας αυτήν τη δέσμευση με χρήση των αντιδραστηρίων που παρέχονται στο σύστημα ανίχνευσης. Η χρήση αυτών των προϊόντων, σε συνδυασμό με το αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III), μειώνει την πιθανότητα του ανθρώπινου σφάλματος και την εγγενή ποικιλότητα που προκαλείται από αραίωση συγκεκριμένου αντιδραστήριου, χειροκίνητη αναρόφηση με πιπέτα και εφαρμογή αντιδραστήριου.

#### Παρεχόμενα Αντιδραστήρια

Η Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) είναι ένα μονοκλωνικό αντι-ανθρώπινο αντίσωμα ποντικού που παράγεται ως υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας και παρέχεται σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα Tris με πρωτεΐνη φορέα που περιέχει 0,35% ProClin™ 950 ως συντηρητικό. Συνολικός όγκος = 7 mL.

#### Κλώνος

5A4

#### Ανοσογόνο

Προκαρμωπτική ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη που αντιστοιχεί σε μια περιοχή που καλύπτει το καταλυτικό τμήμα της κινάσης τυροσίνης και μέρος του C-τελικού άκρου του μεταγραφώματος NPM-ALK (419-520 αμινοξέα).

#### Ειδικότητα

Ανθρώπινη πρωτεΐνη ALK και πρωτεΐνες σύντηξης C-τελικού άκρου που περιέχουν την ανοσοποιημένη αλληλουχία στόχο

#### Τάξη Ig

IgG1

#### Συνολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης

Περίπου 10 mg/mL.

#### Συγκέντρωση Αντισώματος

Μεγαλύτερη ή ίση με 2,6 mg/L, όπως προσδιορίζεται με ELISA.

#### Αραίωση Και Ανάμιξη

Το πρωτογενές αντίσωμα Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) έχει αραιωθεί ιδανικά για χρήση στο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III). Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμιξη, αραίωση ή πιλοδότηση αυτού του αντιδραστήριου.

#### Υλικά Που Απαιτούνται Αλλά Δεν Παρέχονται

Ανατρέξτε στο τμήμα «Χρήση αντιδραστηρίων BOND» στην τεκμηρίωση χρήσης του BOND για μια πλήρη λίστα των υλικών που απαιτούνται για την κατεργασία δειγμάτων και την ανοσοϊστοχημική χρώση με τη χρήση του συστήματος BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III).

#### Φύλαξη Και Σταθερότητα

Αποθηκεύεται στους 2–8 °C. Μη χρησιμοποιείτε μετά την ημερομηνία λήξης που υποδεικνύεται στην ετικέτα του περιέκτη.

Οι ενδείξεις που υποδηλώνουν μόλυνση ή/και αστάθεια της Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) είναι: θοαρότητα του διαλύματος, ανάπτυξη οσμής και παρουσία ιζημάτων.

Επαναφέρετε το προϊόν στους 2–8 °C αμέσως μετά τη χρήση.

Τυχόν συνθήκες φύλαξης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται παραπάνω πρέπει να επαληθεύονται από τον χρήστη<sup>1</sup>.

#### Προφυλάξεις

- Αυτό το προϊόν προορίζεται για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
- Η συγκέντρωση ProClin™ 950 είναι 0,35 %. Περιέχει τη δραστική ουσία 2-μεθυλ-4-ισοθειαζολίν-3-ένα, και μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό στο δέρμα, τα μάτια, τους βλεννογόνους και του ανώτερου αναπνευστικού. Φοράτε γάντια μιας χρήσης όταν μεταχειρίζεστε τα αντιδραστήρια.
- Για να λάβετε ένα αντίτυπο του δελτίου δεδομένων ασφαλείας υλικού, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα ή τα περιφερειακά γραφεία της Leica Biosystems ή, εναλλακτικά, επισκεφθείτε τον ιστότοπο της Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- Για να πάρτε αντίγραφο του φύλλου δεδομένων ασφάλειας υλικού, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διαπαικτεμένο ή το τοπικό γραφείο της Leica Biosystems, ή αναλκτικά, επισκευθείτε τον ιστότοπο της Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)
- Ο χειρισμός των δειγμάτων, πριν και μετά τη μονιμοποίηση, και όλων των υλικών που εκτίθενται σε αυτά, θα πρέπει να γίνεται ως ικανά μετάδοσης λοίμωξης και θα πρέπει να απορρίπτονται λαμβάνοντας κατάλληλες προφυλάξεις. Μην κάνετε ποτέ αναρρόφηση αντιδραστήριων με πιπέτα με το στόμα και αποφεύγετε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια ή δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έλθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονες ποσότητες νερού. Ζητήστε τη συμβουλή ιατρού.
- Συμβουλευτείτε τους ομοσπονδιακούς, πολιτειακούς ή τοπικούς κανονισμούς για την απόρριψη οποιονδήποτε δυνητικώς τοξικών συστατικών.
- Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιολογική μόλυνση των αντιδραστήριων, διότι ενδέχεται να συμβεί αύξηση μη ειδικής χρώσης.
- Ανάκτηση, χρόνοι ή θερμικρατικές πτώσεις διαφορετικές από αυτές που καθορίζονται ενδέχεται να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Οποιαδήποτε τέτοια αλλαγή πρέπει να επικυρώνεται από τον χρήστη.

## Οδηγίες Χρήσης

Το πρωτογενές αντίσωμα Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) αναπτύχθηκε για χρήση στο αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III) σε συνδυασμό με το σύστημα ανίχνευσης BOND Polymer Refine Detection. Το συνιστώμενο πρωτόκολλο χρώσης για το πρωτογενές αντίσωμα Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) είναι το IHC Protocol F. Συνιστάται ανάκτηση επιτόπου επαγόμενη με θερμότητα χρησιμοποιώντας το BOND Epitope Retrieval Solution 2 για 30 λεπτά.

## Αναμενόμενα Αποτελέσματα

### Φυσιολογικοί ιστοί

Η πρωτεΐνη Anaplastic Lymphoma Kinase εντοπίζεται με κλώνο 5A4 σε ορισμένα νευροενδοκρινικά κύτταρα της υπόφυσης και του λεπτού εντέρου, κυψελιδικά μακροφάγα στον πνεύμονα και ένα ποσοστό προστατικών στρωματικών κυττάρων. Όλοι οι άλλοι ιστοί που ελεγχθηκαν ήταν αρνητικοί. (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 130).

### Νεοπλασματικοί ιστοί

Ο κλώνος 5A4 παρουσίασε χρώση 5/27 αναπλαστικά μεγαλοκυτταρικά λεμφώματα κυττάρων και 2/5 μεγαλοκυτταρικά καρκινώματα του πνεύμονα. Δεν παρουσιάστηκε χρώση σε πολλούς επιπρόσθετους μη φυσιολογικούς ιστοί που εκτιμήθηκαν, συμπεριλαμβανομένων των όγκων των πνευμόνων (0/68), των όγκων των μαστών (0/5), των όγκων του θυρεοειδούς (0/5), των όγκων του κόλου (0/4), των όγκων του ήπατος (0/4), των μεταστατικών όγκων (0/4), των όγκων του σισαφάνου (0/3), του στομάχου (0/3), και της κεφαλής και του αυχένα (0/3), των όγκων των ωοθηκών (0/3), των όγκων του επινεφριδίου (0/2), των όγκων της ουροδόχου κύστης (0/2), των όγκων του εγκέφαλου (0/2), των όγκων του λεπτού εντέρου (0/2), των όγκων του ορθού (0/2), των όγκων των νεφρών (0/2), των όγκων των λεμφαδένων (0/2), του σιελόγόνου αδένου (0/2), των όρχων (0/2), του τραχήλου (0/2) και του ενδομητρίου (0/2), ενός οστεοσαρκώματος (0/1), ενός παγκρεατικού αδενοκαρκινώματος (0/1), ενός αδενοκαρκινώματος του προστάτη (0/1), μιας υπερπλασίας προστάτη, (0/1), ενός ακανθοκυτταρικού καρκινώματος του δέρματος (0/1) και ενός μελανώματος (0/1). (Συνολικός αριθμός μη φυσιολογικών ιστών που αξιολογήθηκαν = 162).

**H Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) συνιστάται για την εκτίμηση και έκφραση των ενδογενών πρωτεϊνών ALK και πρωτεϊνών σύντηξης ALK σε φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς ιστοί, ως συμπλήρωμα της συμβατικής ιστοπαθολογίας, χρησιμοποιώντας μη ανοσολογικές ιστοχημικές χρώσεις.**

## Περιορισμοί Που Αφορούν Σιδικά Το Προϊόν

Το Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) έχει βελτιστοποιηθεί στην Leica Biosystems για χρήση με το BOND Polymer Refine Detection και τα βοηθητικά αντιδραστήρια BOND. Εάν ο χρήστης παρεκκλίνει από τις προτεινόμενες διαδικασίες διεξαγωγής της δοκιμίας, αναλαμβάνει την ευθύνη για την ευθύνη των αποτελεσμάτων του ασθενούς υπό τις δεδομένες συνθήκες. Οι χρόνοι πρωτοκόλλου ενδέχεται να διαφέρουν, λόγω διακύμανσης στη μονιμοποίηση των ιστών και στην αποτελεσματικότητα της αύξησης αντιγόνων, και πρέπει να προσδιορίζεται εμπειρικά. Κατά τη βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάκτησης και των χρόνων των πρωτοκόλλων πρέπει να χρησιμοποιούνται αντιδραστήρια ως αρνητικοί μάρτυρες.

## Αντιμετώπιση Προβλημάτων

Για τις διορθωτικές ενέργειες, ανατρέξτε στην παραπομπή 3.

Επικοινωνήστε με τον τοπικό διαπαικτεμένο ή το τοπικό γραφείο της Leica Biosystems για να αναφέρετε ασυνήθιστη χρώση.

## Πρόσθετες Πληροφορίες

Μπορείτε να βρείτε πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με την ανοσολογική χρώση με αντιδραστήρια BOND, στις παραγράφους με τίτλο «Αρχή της διαδικασίας», «Απαιτούμενα υλικά», «Προετοιμασία δείγματος», «Ποιοτικός έλεγχος», «Επαλήθευση προσδιορισμού», «Ερμηνεία της χρώσης», «Υπόμνημα για τα σύμβολα στις ετικέτες» και «Γενικοί περιορισμοί» στην ενότητα «Χρήση αντιδραστήριων BOND» στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND.

## Βιβλιογραφία

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisaoka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## Ημερομηνία Έκδοσης

30 Νοεμβρίου 2018

# BOND™ Brugsklart Primaert Antistof Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

Katalognummer.: PA0831

## Tilsigtet Anvendelse

Dette reagens er til *in vitro*-diagnostik.

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) monoklonalt antistof er beregnet til brug til kvalitativ identifikation ved hjælp af lysmikroskopi af endogene ALK- og ALK-fusionsproteiner i formalinfixeret, paraffinindstøbt væv ved immunhistokemisk farvning ved anvendelse af det automatiske BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Den kliniske tolkning af farvning eller fravær deraf skal komplementeres af morfologiske undersøgelser og passende kontroller og skal bedømmes inden for konteksten af patientens kliniske anamnese og andre diagnostiske test foretaget af en kvalificeret patolog.

## Oversigt og Forklaring

Immunhistokemiske teknikker kan anvendes til at påvise tilstedeværelse af antigener i væv og celler (se "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen). Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primært antistof er et brugsklart produkt, som er blevet optimeret specielt til brug sammen med BOND Polymer Refine Detection. Demonstrationen af endogene ALK- og ALK-fusionsproteiner opnås ved først at tillade bindingen af Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) til sektionen for derefter at visualisere denne binding ved hjælp af reagenser, som anvendes i detektionssystemet. Anvendelse af disse produkter sammen med det automatiske BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) nedsætter muligheden for menneskelige fejl og iboende variabilitet som følge af individuel fortynding af reagenser, manuel pipettering og tilsætning af reagenser.

## Leverede Reagenser

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) er et muse-anti-humant monoklonalt antistof produceret som en vævskultursupernatant og leveret i Tris-buffertet saltvand med bæreprøtein og indeholdende 0,35 % ProClin™ 950 som konserveringsmiddel.

Total volumen = 7 mL.

## Klon

5A4

## Immunogen

Prokaryot, rekombinant protein svarende til et område, der spænder over tyrosinkinens katalytiske domæne og en del af C-terminalen af NPM-ALK-transkriptet (419-520 aminosyrer).

## Specificitet

Fusionsproteiner af humant ALK-protein og C-terminal ALK indeholdende den immuniserede målsekvens.

## Ig-klasse

IgG1

## Total Proteinkoncentration

Ca. 10 mg/mL.

## Antistofkoncentration

Større end eller lig med 2,6 mg/L som bestemt med ELISA.

## Fortynding og Blanding

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primært antistof fortyndes optimalt til brug på BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-system og Leica BOND-III-system). Rekonstituering, blanding, fortynding eller titrering af dette reagens er ikke nødvendig.

## Nødvendige Materialer, der ikke Medfølger

Se "Using BOND Reagents" (Anvendelse af BOND-reagenser) i BOND-brugerdokumentationen vedrørende en komplet liste over de materialer, der skal anvendes til prøvebehandling og immunhistokemisk farvning ved brug af BOND-systemet (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

## Opbevaring og Stabilitet

Opbevar ved 2-8 °C. Må ikke anvendes efter udløbsdatoen, der er angivet på beholderens etiket.

Tegn, der tyder på kontamination og/eller ustabilitet af Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) er: Turbiditet af opløsningen, lugt udvikling og tilstedeværelse af præcipitat.

Sættes tilbage til opbevaring ved 2-8 °C umiddelbart efter brug.

Andre opbevaringsforhold end dem, der er specificeret herover, skal verificeres af brugeren<sup>1</sup>.

## Forholdsregler

- Dette produkt er beregnet til *in vitro*-diagnostik.
- Koncentrationen af ProClin™ 950 er 0,35 %. Det indeholder den aktive ingrediens 2-metyl-4-isotiazolin-3-on og kan forårsage irritation på hud, øjne, slimhinder og øvre luftveje. Brug engangshandsker ved håndtering af reagenser.
- Hvis du ønsker et eksemplar af sikkerhedsdatabladet, kan du kontakte din lokale forhandler eller regionskontoret til Leica Biosystems, eller du kan besøge Leica Biosystems' hjemmeside på [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- Prøver, før og efter fiksering samt alle materialer, der eksponeres for disse, skal håndteres som potentielt smittefarlige og bortskaffes under passende forholdsregler. Pipetter ikke reagenser med munden, og undgå, at reagenser eller præparater kommer i kontakt med hud og slimhinder. Hvis reagenser eller præparater kommer i kontakt med følsomme områder, skal disse vaskes med rigelige mængder vand. Søg lægehjælp.
- Bortskaffelse af potentielt toksiske komponenter skal ske i henhold til statslig eller lokal lovgivning.
- Mikrobiel kontamination af reagenser skal minimeres for at undgå en øget ikke-specifik farvning.
- Genfindning, inkubationstider eller temperaturer, der afviger fra de specificerede, kan give fejlagtige resultater. Enhver sådan forandring skal valideres af brugeren.

## Brugsanvisning

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primært antistof er udviklet med henblik på brug i det automatiske BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) sammen med BOND Polymer Refine Detection. Den anbefalede farvningsprotokol for Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primært antistof er IHC Protocol F. Varmeinduceret epitopgenfindning anbefales ved hjælp af BOND Epitope Retrieval Solution 2 i 30 minutter.

## Forventede Resultater

### Normala væv

Klon 5A4 detekterer anaplastisk lymfomkinaseprotein i nogle neuroendokrine celler i hypofysen og tyndtarmen, alveolære makrofager i lungerne og en andel prostatastromaceller. Alle andre testede væv var negative. (Samlet antal normale tilfælde, der blev evalueret = 130).

### Tumorer

Klon 5A4 farvning 5/27 anaplastisk storcellet lymfomer og 2/5 storcellet lungekræft. Der blev ikke observeret nogen farvning i en række yderligere usædvanlige væv, som blev evalueret, herunder lungetumorer (0/68), brysttumorer (0/5), thyroideatumorer (0/5), tumorer i tyktarmen (0/4), levertumorer (0/4), metastaserende tumorer (0/4), tumorer i spiserøret (0/3), mave (0/3) og hoved og hals (0/3), ovarietumorer (0/3), tumorer i binyrerne (0/2), blæretumorer (0/2), hjernetumorer (0/2), tumorer i tyndtarmen (0/2), rektale tumorer (0/2), nyretumorer (0/2), tumorer i lymfeknuder (0/2), spytkirtler (0/2), testis (0/2), livmoderhalsen (0/2) og endometrium (0/2), et osteosarkom (0/1), et pankreasadenokarcinom (0/1), et adenokarcinom i prostata (0/1), en hyperplastisk prostata (0/1), et hudpladescellekarcinom (0/1) og et melanom (0/1). (Samlet antal evaluerede abnorme væv = 162).

**Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) anbefales til evaluering og ekspresion af endogene ALK- og ALK-fusionsproteiner i normale og neoplastiske væv som et supplement til konventionel histopatologi ved anvendelse af ikke-immunologiske histokemiske farvninger.**

## Produktspecifikke Begrænsninger

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) er blevet optimeret af Leica Biosystems til brug med BOND Polymer Refine Detection og BOND-hjælperagenser. Brugere, der afviger fra de anbefalede testprocedurer, er selv ansvarlige for tolkningen af patientresultater under disse omstændigheder. Protokolliderne kan variere pga. variationer i vævsfiksering og effektiviteten af antigenforstærkningen og skal bestemmes empirisk. Der skal anvendes negative reagenskontroller ved optimering af genfindingsforhold og protokollider.

## Fejlfinding

Se reference 3 for afhjælpende foranstaltninger.

Kontakt den lokale forhandler eller Leica Biosystems' regionale kontor for at rapportere usædvanlig farvning.

## Yderligere Oplysninger

Yderligere oplysninger om immunfarvning med BOND-reagenser kan findes under overskrifterne Proceduremæssige principper, Nødvendige materialer, Præparatklargøring, Kvalitetskontrol, Analyseverifikation, Tolkning af farvning, Nøgle til symboler på etiketter og Generelle begrænsninger i "Anvendelse af BOND-reagenser" i brugerdokumentationen til BOND-systemet.

## Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisaoka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## Udgivelsesdato

30 november 2018

# BOND™ Klaar Voor Primaire Antilichaam te Gebruiken

## Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

Catalogusnummer.: PA0831

### Beoogd Gebruik

Dit reagens is voor gebruik bij *in-vitro*diagnostiek.

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) monokonaal antilichaam is bedoeld voor gebruik bij de kwalitatieve identificatie door middel van lichtmicroscopie van endogene ALK en ALK fusie-eiwitten in met formaline gefixeerd, in paraffine ingebed weefsel, door immunohistochemische kleuring met gebruik van het automatische BOND-systeem (inclusief het Leica BOND MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem).

De klinische interpretatie van een kleuring of de afwezigheid hiervan moet worden aangevuld met morfologische studies en de juiste controles. Ook moeten er evaluaties worden uitgevoerd binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests uitgevoerd door een bevoegd patholoog.

### Samenvatting en Toelichting

Immunohistochemische technieken kunnen gebruikt worden om de aanwezigheid van antigenen in weefsel en cellen aan te tonen (zie "Using BOND Reagents" (BOND-reagentia gebruiken) in de gebruikersdocumentatie van BOND). Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primair antilichaam is een gebruiksklaar product dat speciaal voor gebruik met BOND Polymer Refine Detection is geoptimaliseerd. Het bewijzen van de aanwezigheid van endogene ALK en ALK fusie-eiwitten wordt bereikt door eerst Anaplastic Lymphoma Kinase(5A4) aan het deel te laten binden, en die verbinding daarna te visualiseren met behulp van de reagentia die met het detectiesysteem zijn meegeleverd. Het gebruik van deze producten in combinatie met het geautomatiseerde BOND-systeem (inclusief het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem) verkleint de kans op menselijke fouten en de daaraan inherente variabiliteit als gevolg van het afzonderlijk verdunnen van reagentia, het handmatig pipetteren en het handmatig toevoegen van reagentia.

### Geleverde Reagentia

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) is een anti-humaan monokonaal muizenantilichaam dat wordt geproduceerd als een weefselweeksupernatant en wordt geleverd in een Tris-gebufferde zoutoplossing met dragereiwit, met 0,35 % ProClin™ 950 als conserveermiddel.

Totaal volume = 7 mL.

### Kloon

5A4

### Immunogeen

Prokaryotisch recombinant-eiwit overeenstemmend met een gebied dat zich uitstrekt over het katalytische domein van tyrosinekinase en een deel van de C-terminus van het NPM-ALK transcript (419-520 aminozuren).

### Specificiteit

Humaan ALK-eiwit en C-terminale ALK fusie-eiwitten die de geïmmuniseerde doelsequentie bevatten.

### Ig-klasse

IgG1

### Totale Proteïneconcentratie

Ca. 10 mg/mL.

### Antilichaamconcentratie

Groter dan of gelijk aan 2,6 mg/L zoals bepaald door ELISA.

### Verdunning en Menging

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primair antilichaam is optimaal verdund voor gebruik op het BOND-systeem (inclusief het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem). Het is niet nodig om dit reagens te reconstitueren, te mengen, te verdunnen of te titreren.

### Niet Meegeleverde Vereiste Materialen

Zie "Using BOND Reagents" (BOND-reagentia gebruiken) in de gebruikersdocumentatie van BOND voor een volledige lijst van de materialen die nodig zijn voor monsterbehandeling en immunohistochemische kleuring met het BOND-systeem (inclusief het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem).

### Opslag en Stabiliteit

Bewaren bij 2-8 °C. Niet gebruiken na de vervaldatum die op het label van de container staat.

De tekenen die duiden op verontreiniging en/of instabiliteit van Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) zijn: vertroebeling van de oplossing, geurontwikkeling en aanwezigheid van precipitaat.

Direct na gebruik weer bij 2-8 °C opslaan.

Andere dan de hierboven genoemde opslagcondities moeten door de gebruiker worden geleverd<sup>1</sup>.

### Voorzorgsmaatregelen

- Dit product is bedoeld voor gebruik bij *in-vitro*diagnostiek.
- De concentratie ProClin™ 950 is 0,35 %. Het bevat het werkzame bestanddeel 2-methyl-4-isothiazolin-3-one en kan irritatie van de huid, ogen, slijmvliezen en bovenste luchtwegen veroorzaken. Draag wegwerphandschoenen bij het hanteren van reagentia.
- Neem voor het bijbehorende veiligheidsinformatieblad contact op met uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems, of ga naar de website van Leica Biosystems: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- Specimens, zowel voor als na de fixatie, en alle materialen die eraan worden blootgesteld, moeten worden behandeld als potentiële overdragers van infecties en met inachtneming van de juiste voorzorgsmaatregelen worden afgevoerd. Pipetteer reagentia nooit met de mond en vermijd contact van de huid en slijmvliezen met reagentia of monsters. Indien reagentia of monsters in aanraking komen met gevoelige gebieden, spoel deze dan overvloedig met water. Raadpleeg een arts.
- Raadpleeg de nationale, regionale en plaatselijke voorschriften voor de afvoer van alle potentieel giftige stoffen.
- Minimaliseer de kans op microbiële contaminatie van reagentia, want dit kan de niet-specifieke kleuring verhogen.
- Andere hersteltijden, incubatietijden of temperaturen dan vermeld, kunnen onjuiste resultaten opleveren. Dergelijke wijzigingen moeten worden geëvalueerd door de gebruiker.

## Gebruiksaanwijzing

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primair antilichaam is ontwikkeld voor gebruik met het geautomatiseerde BOND-systeem (inclusief het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III systeem) in combinatie met BOND Polymer Refine Detection. Het aanbevolen kleuringprotocol voor Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primaire antilichaam is IHC-protocol F. Door warmte-geïnduceerd epitoopherstel wordt aanbevolen, met gebruik van BOND Epitope Retrieval Solution 2 gedurende 30 minuten.

## Verwachte Resultaten

### Normale weefsels

Kloon 5A4 gedetecteerde Anaplastic Lymphoma Kinase eiwit in enkele neuroendocriene cellen van de hypofyse en de dunne darm, alveolaire macrofagen in de long en een deel van de stromale prostaatcellen. Alle andere geteste normale weefsels waren negatief. (Totaal aantal normale gevallen dat werd geëvalueerd = 130).

### Tumorweefsels

Kloon 5A4 5/27 gekleurde anaplastische grote cel lymfomen en 2/5 grote cel longcarcinoom. Geen verkleuring werd geconstateerd in een verscheidenheid aan beoordeelde additionele abnormale weefsels, betreffende longtumoren (0/68), borsttumoren (0/5), schildkliertumoren (0/5), darmtumoren (0/4), levertumoren (0/4), uitgezaaide tumoren (0/4), slokdarmtumoren (0/3), maag (0/3), en hoofd en nek (0/3), eierstoktumoren (0/3), bijnierstumoren (0/2), blaastumoren (0/2), hersentumoren (0/2), dunne darmtumoren (0/2), rectumtumoren (0/2), niertumoren (0/2), lymfkliertumoren (0/2), speekselklier (0/2), zaadbal (0/2), baarmoederhals (0/2) en baarmoederslijmvlies (0/2), een osteosarcoom (0/1), een adenocarcinoom van de alvleesklier (0/1), een adenocarcinoom van de prostaat (0/1), een hyperplastische prostaat (0/1), een plaveiselcel huidcarcinoom (0/1) en een melanoom (0/1). (Totaal aantal beoordeelde afwijkende weefsels = 162).

**Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) wordt aanbevolen om te helpen bij de evaluatie en expressie van endogene ALK- en ALK-fusie-eiwitten, in normale en neoplastische weefsels, als aanvulling op conventionele histopathologie met behulp van niet-immunologische histochemische kleuringen.**

## Productspecifieke Beperkingen

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) is geoptimaliseerd door Leica Biosystems voor gebruik met BOND Polymer Refine Detection en BOND-hulpreagentia. Gebruikers die afwijken van de aanbevolen testprocedures moeten de verantwoordelijkheid aanvaarden voor de interpretatie van patiëntresultaten verkregen onder deze omstandigheden. Protocoltijden kunnen variëren door variatie in weefselcondities en de effectiviteit van antigeenversterking, en moeten empirisch worden bepaald. Bij het optimaliseren van de herstelcondities en de protocoltijden moeten negatieve reagenscontroles worden gebruikt.

## Probleemoplossing

Raadpleeg referentie 3 voor herstelacties.

Neem contact op met uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems om ongebruikelijke kleuring te melden.

## Overige Informatie

Meer informatie over immunokleuring met BOND-reagentia vindt u onder de titels Principle of the procedure (Principe van de procedure), Materials required (Benodigde materialen), Specimen preparation (Monsterpreparatie), Quality control (Kwaliteitscontrole), Assay verification (Verificatie van de assay), Interpretation of staining (Interpretatie van de kleuring), Key to symbols on labels (Verklaring van symbolen op etiketten) en General limitations (Algemene beperkingen) in "Using BOND Reagents" (BOND-reagentia gebruiken) in de gebruikersdocumentatie van BOND.

## Literatuurlijst

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisaoka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## Publicatiedatum

30 november 2018

# BOND™ Primært Antistoff Klart til Bruk

## Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

Katalognummer: PA0831

### Tiltent Bruk

Denne reagensen er til *in vitro*-diagnostisk bruk.

Det monoklonale antistoffet Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) er beregnet på kvalitativ identifisering ved lysmikroskoping av endogene ALK og ALK-fusjonsproteiner i formalinfiksert, parafininnstøpt vev ved hjelp av immunhistokjemisk farging med det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Den kliniske tolkningen av enhver farging eller fravær av farging skal understøttes av morfologiske studier og gode kontroller og skal evalueres i sammenheng med pasientens sykehistorie og andre diagnostiske tester av en kvalifisert patolog.

### Oppsummering og Forklaring

Immunhistokjemiske teknikker kan brukes til å vise tilstedeværelse av antigener i vev og celler (se "Bruk av BOND-reagenser" i brukerdokumentasjonen for BOND-systemet). Det primære antistoffet Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) er et produkt som er klart for bruk og spesielt optimalisert for bruk sammen med BOND Polymer Refine Detection. Påvisningen av endogene ALK og ALK-fusjonsproteiner oppnås ved først å la Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) binde seg til snittet, for deretter å visualisere bindingsprosessen ved hjelp av reagensene som brukes i deteksjonssystemet. Ved å bruke disse produktene i kombinasjon med det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) reduseres muligheten for menneskelig feil og iboende variabilitet som følge av individuell reagensfortynning, manuell pipettering og reagenspåføring.

### Medfølgende Reagenser

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) er et antihumant monoklonalt antistoff fra mus som er produsert som vevskultur-supernatant, og leveres i tris-bufret saltvann med bærerprotein og 0,35 % ProClin™ 950 som konserveringsmiddel.

Totalt volum = 7 mL.

### Klon

5A4

### Immunogen

Prokaryotisk rekombinant protein svarende til en region som omfatter det katalytiske tyrosinkinasedomenet og en del av C-terminalen av NPM-ALK-transkriptet (419-520 aminosyrer).

### Spesifisitet

Humant ALK-protein og C-terminale ALK-fusjonsproteiner som inneholder vaksinert målsekvens.

### Ig-klasse

IgG1

### Totalproteinkonsentrasjon

Cirka 10 mg/mL.

### Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller tilsvarende 2,6 mg/L i henhold til ELISA.

### Fortynning og Blanding

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primært antistoff er optimalt fortynnet til bruk på BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet). Rekonstitusjon, blanding, fortynning eller titrering av denne reagensen er ikke nødvendig.

### Nødvendige Materialer Som Ikke Følger Med

Se "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerdokumentasjonen for å finne en fullstendig liste over materialer som trengs for prøvebehandling og immunhistokjemisk farging ved bruk av BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

### Oppbevaring og Stabilitet

Oppbevares ved 2–8 °C. Må ikke brukes etter utløpsdatoen angitt på beholderens etikett.

Tegnene som indikerer forurensetning og/eller ustabilitet i Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) er: turbiditet i løsningen, utvikling av lukt og tilstedeværelse av bunnfall.

Returner til 2–8 °C umiddelbart etter bruk.

Andre oppbevaringsforhold enn de som er angitt ovenfor må verifiseres av brukeren'.

### Forholdsregler

- Dette produktet er beregnet for *in vitro*-diagnostisk bruk.
- Konsentrasjonen av ProClin™ 950 er 0,35 %. Det inneholder den aktive ingrediensen 2-metyl-4-isotiazolin-3-on, og kan forårsake irritasjon på hud, øyne, slimhinner og øvre luftveier. Bruk engangshansker ved håndtering av reagenser.
- Hvis du ønsker et eksemplar av sikkerhetsdatatabladet, kan du kontakte din lokale forhandler eller regionkontoret til Leica Biosystems, eller du kan besøke Leica Biosystems' nettsted på [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- Prøver, før og etter fiksering, og alle materialer som er utsatt for dem, skal behandles som om de kan overføre smitte og avhendes med riktige forholdsregler. Reagenser skal aldri pipetteres med munnen, og unngå at reagenser eller prøvematerialer kommer i kontakt med hud eller slimhinner. Hvis reagenser eller prøvematerialer kommer i kontakt med følsomme områder, skyll med rikelige mengder vann. Oppsøk lege.
- Se lokale, regionale eller statlige forskrifter for avfallshåndtering av eventuelle potensielle giftkomponenter.
- Minimer mikrobiell kontaminering av reagenser, ellers kan det forekomme en økning i uspesifikk farging.
- Demaskering, inkuberingstider eller temperaturer annet enn det som er angitt, kan gi unøyaktige resultater. Enhver slik forandring må være valideres av brukeren.

## Bruksanvisning

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primært antistoff er optimalt utviklet til bruk på det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) i kombinasjon med BOND Polymer Refine Detection. Anbefalt fargingsprotokoll for Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primært antistoff er IHC Protocol F. Det anbefales varmeindusert epitop demaskering ved bruk av BOND Epitope Retrieval Solution 2 i 30 minutter.

## Forventede resultater

### Normalt vev

Klon 5A4 påviste anaplastisk lymfom kinase-protein i enkelte nevroendokrine celler i hypofysen og tynntarmen, alveolare makrofager i lungen og en del av prostatisk stromalceller. Alle andre testede vev var negative. (Totalt antall normale tilfeller evaluert = 130.)

### Tumorvev

Klon 5A4 farget 5/27 anaplastiske storcellede lymfomer og 2/5 storcellede karsinomer i lungen. Ingen farging ble observert i en rekke andre abnorme vev som ble vurdert, inkludert lungetumorer (0/68), brysttumorer (0/5), tyroidthumorer (0/5), tumorer i tykktarmen (0/4), levertumorer (0/4), metastatiske tumorer (0/4), tumorer i spiserøret (0/3), magen (0/3) og hodet og nakken (0/3), eggstokktumorer (0/3), tumorer i binyrene (0/2), urinblæretumorer (0/2), hjernetumorer (0/2), tumorer i tynntarmen (0/2), rektale tumorer (0/2), nyretumorer (0/2), tumorer i lymfenoder (0/2), spyttkjertel (0/2), testikkel (0/2), livmorhalsen (0/2) og endometrium (0/2), en osteosarkom (0/1), en pankreatisk adenokarsinom (0/1), en adenokarsinom i prostata (0/1), en hyperplastisk prostata, (0/1), en skiveepitelkarsinom på huden (0/1) og en melanom (0/1). (Totalt antall evaluerte abnorme vev = 162).

**Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) anbefales for bruk i vurdering og antigenuttrykk av endogene ALK og ALK-fusjonsproteiner, i normale og neoplastiske vev, som et supplement til konvensjonell histopatologi med ikke-immunologisk histokjemisk farging.**

## Produktspesifikke Begrensninger

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) har blitt optimalisert hos Leica Biosystems til bruk med BOND Polymer Refine Detection og BOND hjelpeagenser. Brukere som avviker fra de anbefalte testprosedyrene, må ta ansvaret for tolkningen av pasientresultatene under disse forholdene. Protokolltidene kan variere pga. variasjon i vevsfiksering og effektiviteten til antigenforsterkningen, og må fastslås empirisk. Det skal brukes negative reagenskontroller når demaskeringsforhold og protokolltider optimeres.

## Feilsøking

Se referanse 3 for utbedringstiltak.

Kontakt din lokale forhandler eller regionale kontor for Leica Biosystems for rapportering av uvanlig misfarging.

## Mer informasjon

Mer informasjon om immunfarging med BOND-reagenser, under overskriftene Prinsipp for prosedyren, Nødvendige materialer, Prøvepreparering, Kvalitetskontroll, Analyseverifisering, Tolkning av farging, Symbolforklaring på etiketter og Generelle begrensninger, finner du under "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerdokumentasjonen.

## Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisaoka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ Lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## Utgivelsesdato

30 november 2018



# BOND™ Kullanıma Hazır Primer Antikor

## Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

### Katalog No: PA0831

#### Kullanım Amacı

Bu reagent, *in vitro* diagnostik kullanımı içindir.

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) monoklonal antikor, otomatik BOND sistemini (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemi dahil) kullanarak immünohistokimyasal boyama ile formalinle fikse edilmiş, parafin bloklarda saklanan dokulardaki endojen ALK ve ALK füzyon proteinlerinin ışık mikroskopisi ile nitel tanımlanmasında kullanım için tasarlanmıştır.

Herhangi bir boyamanın mevcut olması veya olmaması ile ilgili klinik yorumlama, morfolojik çalışmalarla ve uygun kontrollerle tamamlanmalıdır ve hastanın klinik geçmişi ve diğer diagnostik testler kapsamında kalifiye bir patolojist tarafından değerlendirilmelidir.

#### Özet ve Açıklama

Dokular ve hücrelerde antijenlerin varlığını göstermek için immünohistokimyasal teknikler kullanılabilir (BOND kullanıcı dokümantasyonunuzdaki "BOND Reagent'larının Kullanılması" bölümüne bakınız). Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primer antikor, BOND Polymer Refine Detection ile kullanım için spesifik olarak optimize edilmiş kullanıma hazır bir üründür. Endojen ALK ve ALK füzyon proteinlerinin gösterimi, öncelikle kesite Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) bağlanmasının sağlanması ve ardından tespit sisteminde veriler reaktifler kullanılarak bu bağlanmanın görüntülenmesiyle elde edilir. Bu ürünlerin otomatik BOND sistemi (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemi) ile birlikte kullanılması bağımsız reaktif seyreltme, manuel pipetleme ve reaktif uygulama işlemlerinde meydana gelebilecek insan hataları ve değişken sonuçlar olasılığını düşürür.

#### Sağlanan Reagent'lar

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4), doku kültürü süpernatantı olarak üretilmiş bir fare anti-insan monoklonal antikordur ve koruyucu olarak % 0,35 ProClin™ 950 içeren, taşıyıcı proteinle Tris tamponlu salinde tedarik edilir.

Toplam hacim = 7 mL.

#### Clone

5A4

#### İmmünojen

Tirozin kinaz katalizator alanı ve NPM-ALK suretinin (419-520 amino asitler) C ucunun bir kısmına uzanan bir bölgeye karşılık gelen prokaryotik rekombinant protein.

#### Spesifite

Bağışıklıklı hedef sıralamasını içeren insan ALK proteini ve C-terminali ALK füzyon proteinleri.

#### Ig Sınıfı

IgG1

#### Toplam Protein Konsantrasyonu

Yaklaşık 10 mg/mL.

#### Antikor Konsantrasyonu

ELISA tarafından belirlendiği gibi 2,6 mg/L'ye eşit veya bu değerden yüksek.

#### Seyreltme ve Karıştırma

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primer antikorunu BOND sisteminde (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemini içeren) kullanılmak üzere optimum olarak seyreltilmiştir. Bu reaktif için sulandırma, karıştırma, seyreltme veya titrasyon gerekli değildir.

#### Gereken Ancak Sağlanmayan Materyaller

BOND sistemini (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemini içerir) kullanarak numune muamelesi ve immünohistokimyasal boyama için gerekli materyallerin tam bir listesi için BOND belgelerinizdeki "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" bölümüne başvurun.

#### Saklama ve Stabilite

2-8°C'de saklayın. Kaptaki etikette belirtilen son kullanma tarihi geçtiyse kullanmayın.

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) kontaminasyona ve/veya instabiliteye işaret eden belirtiler şunlardır: çözeltide bulanıklık, koku gelişimi ve presipitat oluşumu.

Kullanımdan hemen sonra 2-8°C'ye geri alın.

Yukarıda belirtilenler dışındaki saklama koşulları kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

#### Önlemler

- Bu ürün, *in vitro* diagnostik kullanım içindir.
- ProClin™ 950 konsantrasyonu %0,35'tir. Etkin madde olarak 2-metil-4-izotiazolin-3-bir içerir ve ciltte, gözlerde, mukoza membranlarında ve üst solunum yolunda iritasyona neden olabilir. Reaktifleri kullanırken tek kullanımlık eldiven takın.
- Malzeme Güvenlik Bilgileri Formunun bir kopyası için yerel distribütörünüzle veya Leica Biosystems bölge ofisiyle iletişime geçebilir ya da bunun yerine Leica Biosystems'in Web sitesini ziyaret edebilirsiniz: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- Fiksasyondan önce ve sonra örnekler ve bunlara maruz kalmış bütün materyaller, enfeksiyon yayabileceği gibi işlem görmelidir ve gerekli önlemler alınarak imha edilmelidir. Reaktifleri hiçbir zaman ağıza pipetlemeyin. Cildin ve mukoz membranların reaktifler ve örneklerle temas etmesini önleyin. Reaktifler veya örnekler hassas bölgelere temas ederse bol miktarda suyla yıkayın. Tıbbi yardım isteyin.
- Potansiyel olarak toksik bileşenlerin atılmasıyla ilgili yerel, ulusal veya bölgesel düzenlemeleri dikkate alın.
- Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonunu minimize edin, aksi takdirde spesifik olmayan boyamada artış meydana gelebilir.
- Belirtilenler dışındaki geri kazanım, inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlara neden olabilir. Her türlü değişikliğinin kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

## Kullanım Talimatları

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primer antikorunu BOND Polymer Refine Detection ile birlikte otomatik BOND sisteminde (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemini içerir) kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) primer antikor için önerilen boyama protokolü IHC Protocol F'tir. BOND Epitope Retrieval Solution 2 kullanılarak 30 dakika ısı indüklü epitop alımı önerilir.

## Öngörülen Sonuçlar

### Normal Dokular

Hipofiz bezinin bazı nöroendokrin hücreleri ve ince bağırsak, akciğerdeki alveolar makrofajlar ve prostatik stromal hücrelerinin bir bölümünde 5A4 klonu tespit edilen Anaplastic Lymphoma Kinase. Tüm diğer dokular negatif sonuçlanmıştır. (Değerlendirilen toplam normal olgu sayısı = 130).

### Tümörlü Dokular

Klon 5A4, akciğerdeki 5/27 anaplastik büyük hücreli lenfomaları ve 2/5 büyük hücre karsinomları boyamıştır. Akciğer tümörleri (0/68), meme tümörleri (0/5), tiroid tümörleri (0/5), kolon tümörleri (0/4), karaciğer tümörleri (0/4), metastatik tümörler (0/4), özofagus tümörleri (0/3), mide (0/3), baş ile boyun (0/3), over tümörleri (0/3), böbreküstü bezi tümörleri (0/2), mesane tümörleri (0/2), beyin tümörleri (0/2), ince bağırsak tümörleri (0/2), rektal tümörler (0/2), böbrek tümörleri (0/2), lenf nodu tümörleri (0/2), tükürük bezi tümörleri (0/2), testis (0/2), serviks (0/2) ve endometriyum (0/2), bir osteosarkom (0/1), bir pankreas adenokarsinom (0/1), bir prostat adenokarsinomu (0/1), bir hiperplastik prostat (0/1), bir skuamöz hücreli cilt karsinomu (0/1) ve bir melanom (0/1) dahil değerlendirilen çeşitli anormal dokularda herhangi bir boyama gözlemlenmemiştir. (Değerlendirilen toplam anormal doku sayısı = 162).

**Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4), immünojenik olmayan histokimyasal boyalar kullanılan geleneksel histopatolojiye tamamlayıcı olarak normal ve neoplastik dokulardaki endojen ALK ve ALK füzyon proteinleri ekspresyonunun değerlendirilmesinde ve tanımlanmasında yardımcı olmak üzere önerilir.**

## Ürüne Özel Sınırlamalar

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4), BOND Polymer Refine Detection'la ve BOND yardımcı reaktiflerle kullanılmak üzere Leica Biosystems'ta optimize edilmiştir. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar bu şartlar altında hasta sonuçlarının yorumlanmasında sorumluluğunu almamalıdır. Doku fiksasyonu ve antijen alımının etkinliğindeki değişkenlikler nedeniyle protokol süreleri değişiklik gösterebilir ve bu süreler ampirik olarak belirlenmelidir. Geri kazanım koşulları ve protokol süreleri optimize edilirken negatif reaktif kontrolleri kullanılmalıdır.

## Sorun Giderme

İyleştirici işlem için referans 3'e bakın.

Olağan dışı bir boyamayı bildirmek için yerel distribütörünüzle veya Leica Biosystems bölge ofisiyle iletişime geçin.

## Daha Fazla Bilgi

BOND reaktifleri ile immün-boyama hakkında daha fazla bilgi BOND kullanıcı belgelerinizde "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" bölümündeki Principle of the Procedure (İşlem Prensipleri), Materials Required (Gereken Materyaller), Specimen Preparation (Numune Hazırlama), Quality Control (Kalite Kontrol), Assay Verification (Tahil Doğrulama), Interpretation of Staining (Boyanmanın Yorumlanması), Key to Symbols on Labels (Etiketlerdeki Semboller için Anahtar) ve General Limitations (Genel Sınırlamalar) başlıkları altında bulunabilir.

## Kaynakça

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Haisaka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## Yayın tarihi

30 Kasım 2018

PA0831

Page 25

# Готово за употреба първично антиятло BOND™

## Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

Каталожен №: PA0831

### Предназначение

Този реагент е за употреба при *in vitro* диагностика.

Моноклоналното антиятло Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) е предназначено за качествена идентификация чрез оптична микроскопия на ендогенни ALK и ALK фузионни протеини във фиксирана с формалин и вградена в парафин тъкан чрез имунохистохимично оцветяване с помощта на автоматизираната система BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III).

Клиничната интерпретация на което и да е оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания с помощта на подходящи средства за контрол и да се оценява в контекста на клиничната анамнеза на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

### Кратко описание и обяснение

Могат да бъдат използвани имунохистохимични техники за показване на наличието на антигени в тъканта и клетките (вж. „Употреба на реагенти BOND“ във вашата документация за потребителя на BOND). Първичното антиятло Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) е готов за употреба продукт, който е специално оптимизиран за използване с BOND Polymer Refine Detection. Показването на ендогенни ALK и ALK фузионни протеини се постига, като първо се позволява свързването на Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) с участъка, след което това свързване се визуализира, като се използват реагентите, предоставени в системата за откриване. Употребата на тези продукти заедно с автоматизираната система BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III) намалява вероятността от човешка грешка и присъщата изменчивост в резултат на отделно разреждане на реагенти, ръчно пипетиране и прилагане на реагенти.

### Предоставени реагенти

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) е мише античовешко моноклонално антиятло, получено като супернатант от тъканна култура и доставено в триметамин-буфериран физиологичен разтвор с протеинов носител, съдържащ 0,35% ProClin™ 950 като консервант.

Общ обем = 7 ml.

### Клонинг

5A4

### Имуноген

Прокариотен рекомбинантен протеин, съответстващ на регион, който обхваща каталитичния домен на тирозин киназата и част от C-края на NPM-ALK транскрипта (аминокиселини 419-520).

### Специфичност

Човешки ALK протеин и C-терминални ALK фузионни протеини, съдържащи имунизираната прицелна последователност.

### Имуноглобулинов клас

IgG1

### Концентрация на общ протеин

Приблизително 10 mg/mL.

### Концентрация на антиятла

По-висока или равна на 2,6 mg/L, както е определено от ELISA.

### Разреждане и смесване

Първичното антиятло Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) е оптимално разреждено за употреба със системата BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III). Не се изисква възстановяване, смесване, разреждане или титриране на този реагент.

### Необходими, но непредоставени материали

Вижте „Употреба на реагенти BOND“ във вашата документация за потребителя на BOND за пълен списък от материали, необходими за третиране на спесимени и имунохистохимично оцветяване с помощта на системата BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III).

### Съхранение и стабилност

Да се съхранява при температура 2 – 8°C. Не използвайте след срока на годност, указан на етикета на контейнера.

Признаците за контаминация и/или нестабилност на Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) са: мътност на разтвора, поява на мирис и наличие на утайка.

Да се върне на температура 2 – 8°C веднага след употреба.

Другите условия на съхранение, освен посочените по-горе, трябва да бъдат проверени от потребителя<sup>1</sup>.

## Предпазни мерки

- Този продукт е предназначен за *in vitro* диагностика.
- Концентрацията на ProClin™ 950 е 0,35%. Съдържа активната съставка 2-метил-4-изотиазолин-3-он и може да причини дразнене на кожата, очите, лигавиците и горните дихателни пътища. При работа с реагентите да се носят ръкавици за еднократна употреба.
- За да получите копие на Информационния лист за безопасност на материалите, се свържете с вашия местен дистрибутор или регионален офис на Leica Biosystems или посетете уеб сайта на Leica Biosystems [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)
- Спесимените преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тяхното влияние, трябва да бъдат третирани като способни да предадат инфекция и да бъдат изхвърлени, прилагайки съответните предпазни мерки. Никога не пипетирайте реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагенти или спесимени. При контакт на реагенти или спесимени с чувствителни зони измийте зоните с обилно количество вода. Потърсете медицинска помощ.
- Консултирайте се с федералните, държавните или местните регламенти относно изхвърлянето на потенциално токсични компоненти.
- Свеждайте до минимум микробната контаминация на реагентите, в противен случай може да се появи увеличаване на неспецифичното оцветяване.
- Извличането, инкубационните времена или температури, различни от посочените, могат да доведат до погрешни резултати. Всяка подобна промяна трябва да бъде валидирана от потребителя.

## Инструкции за употреба

Първичното анти тяло Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) е разработено за употреба с автоматизираната система BOND (включваща системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III) в комбинация с BOND Polymer Refine Detection. Препоръчителният протокол за оцветяване за първичното анти тяло Анапластична лимфом киназа (5A4) е IHC Protocol F. Термично индуцирано извличане на епитот се препоръчва да се извършва с помощта на BOND Epitope Retrieval Solution 2 в продължение на 30 минути.

## Очаквани резултати

### Нормални тъкани

Клонинг 5A4 открива анапластична лимфом киназа протеин в някои невроендокринни клетки на хипофизната жлеза и тънките черва, алвеоларни макрофаги в белия дроб и част от простатни стромални клетки. Всички останали тествани тъкани са негативни. (Общ брой на оценените нормални случаи = 130).

### Туморни тъкани

Клонинг 5A4 оцветява 5/27 анапластични едроклетъчни лимфома и 2/5 едроклетъчни карцинома на белия дроб. Не се наблюдава оцветяване в оценени различни допълнителни абнормални тъкани, включително белодробни тумори (0/68), тумори на млечната жлеза (0/5), тумори на щитовидната жлеза (0/5), тумори на ободното черво (0/4), тумори на черния дроб (0/4), метастатични тумори (0/4), тумори на хранопровода (0/3), стомаха (0/3), главата и врата (0/3), тумори на яйчиците (0/3), тумори на надбъбречната жлеза (0/2), тумори на пикочния мехур (0/2), мозъчни тумори (0/2), тумори на тънките черва (0/2), ректални тумори (0/2), тумори на бъбреците (0/2), тумори на лимфните възли (0/2), слюнчената жлеза (0/2), тестисите (0/2), цервикса (0/2) и ендометриума (0/2), остеосаркоми (0/1), аденокарциноми на панкреаса (0/1), аденокарциноми на простатата (0/1), хиперплазии на простатата (0/1), плоскоклетъчни карциноми на кожата (0/1) и меланоми (0/1). (Общ брой на оценените абнормни тъкани = 162).

**Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) се препоръчва като помощно средство при оценката и експресията на ендогенни ALK и ALK фuzioni протеини в нормални и неопластични тъкани като допълнение към конвенционалната хистопатология с използване на неимунологични хистохимични оцветявания.**

## Специфични ограничения на продукта

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) е оптимизиран от Leica Biosystems за употреба с BOND Polymer Refine Detection и спомагателните реагенти BOND. Потребителите, които се отклоняват от препоръчаните процедури за тестване, трябва да поемат отговорност за интерпретацията на резултатите на пациентите при тези обстоятелства. Времетраенето на протоколите може да варира поради вариацията във фиксацията на тъканта и ефективността на усилването на антигена и трябва да се определи емпирично. Трябва да се използват негативни контроли на реагентите при оптимизиране на условията на извличане и времетраенето на протоколите.

## Отстраняване на неизправности

Разгледайте референция 3 за коригиращи действия.

Свържете се с вашия местен дистрибутор или с регионалния офис на Leica Biosystems, за да съобщите за необичайно оцветяване.

## Допълнителна информация

Допълнителна информация за имунооцветяване с реагенти BOND можете да намерите в „Употреба на реагенти BOND“ във вашата документация за потребителя на BOND под заглавията „Принцип на процедурата“, „Необходими материали“, „Приготвяне на спесимен“, „Контрол на качеството“, „Потвърждаване на анализа“, „Интерпретация на оцветяването“, „Легенда на символите на етикетите“ и „Общи ограничения“.

## **Библиография**

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisaoka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## **Дата на издаване**

30 Ноември 2018

# BOND™ azonnal használható elsődleges antitest

## Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

Katalógusszám: PA0831

### Alkalmazási terület

Ez a reagens *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál.

Az Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) monoklonális antitest az endogén ALK és ALK fúziós fehérjék fénymikroszkóppal történő kvalitatív azonosítására szolgál formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövetben, immunhisztokémiai festés útján, automata BOND rendszer (így a Leica BOND-MAX rendszer vagy a Leica BOND-III rendszer) használatával.

Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

### Összefoglalás és magyarázat

Az immunhisztokémiai módszerek antigének jelenlétének kimutatására szolgálnak szövetekben és sejtekben (lásd a „BOND reagensek használata” című részt a BOND felhasználói dokumentációban). Az Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) elsődleges antitest használatra kész termék, amely kifejezetten a BOND Polymer Refine Detection kittel való használatra lett optimalizálva. Az endogén ALK és ALK fúziós fehérjék kimutatása úgy történik, hogy előbb lehetővé kell tenni az Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) kötődését a metszethez, majd ez a kötődés megjeleníthető a detektáló rendszerben található reagensekkel. Ha ezeket a termékeket automata BOND rendszerrel együtt használják (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel), csökken az emberi hibák lehetősége, és mérsékelhető az egyes reagensek hígításából, a manuális pipettázásból és a reagensek alkalmazásából származó eredendő eltérések.

### Biztosított reagensek

Az Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) egér eredetű, antihumán monoklonális antitest, amelyet szövettenyésztet felülüzöként állítanak elő. Kiszerezése: tris-pufferelt sóoldatban, hordozófehérjével és tartósítószerként 0,35% ProClin™ 950-nel.

Teljes mennyiség = 7 ml.

### Klón

5A4

### Immunogén

A tirozin-kináz katalitikus doménjére és részben az NPM-SLK transzkriptum C-terminálisra (419–520. aminosav) kiterjedő régióinak megfelelő prokarióta eredetű rekombináns fehérje.

### Specifititás

Az immunizált célszkekvenciát tartalmazó humán ALK protein és C-terminális ALK fúziós fehérjék.

### Ig-osztály

IgG1

### Összfehérje-koncentráció

Kb. 10 mg/mL.

### Antitest-koncentráció

Legalább 2,6 mg/L ELISA módszerrel meghatározva.

### Hígítás és elegyítés

Az Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) elsődleges antitest hígítása optimális a BOND rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel) való használatához. Nem szükséges a reagens feloldása, elegyítése, hígítása vagy titrálása.

### Szükséges, de nem biztosított anyagok

A minta kezeléséhez és a BOND rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel) végzett immunhisztokémiai festéshez szükséges anyagok teljes listáját lásd a BOND felhasználói dokumentáció „BOND reagensek használata” című részében.

### Tárolás és stabilitás

2–8 °C-on tárolandó. Ne használja fel a tartály címkéjén feltüntetett lejárati dátum után.

Az Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) szennyezettségére és/vagy instabilitására utaló jelek a következők: az oldat zavarossága, szag kialakulása és csapadék jelenléte.

Felhasználás után azonnal tegye vissza 2–8 °C közötti hőmérsékletre.

A fentiekben előírtaktól eltérő tárolási feltételeket a felhasználónak ellenőriznie kell<sup>1</sup>.

### Óvintézkedések

- Ez a termék *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál.
- A ProClin™ 950 koncentrációja 0,35%. A termék 2-metil-4-izotiazolin-3-on hatóanyagot tartalmaz, amely a bőr, a szem, a nyálkahártyák és a felső légutak irritációját okozhatja. A reagens kezeléséhez viseljen egyszer használatos kesztyűt.
- Az anyagbiztonsági adatlap igényléséhez forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához, vagy keresse fel a Leica Biosystems weboldalát a [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) címen.

- A mintákat fixálás előtt és után, valamint a velük érintkező összes anyagot fertőzések terjesztésére képes anyagként kell kezelni, és megfelelő körülményekkel kell ártalmatlanítani. Soha ne pipettázza szájjal a reagenseket, továbbá kerülje a bőr és a nyálkahártyák érintkezését a reagensekkel és a mintákkal. Ha a reagensek vagy minták érzékeny területtel érintkeznek, bő vízzel mossa le az érintett területet. Forduljon orvoshoz.
- Minden potenciálisan toxikus összetevő ártalmatlanításával kapcsolatban kövesse a szövetségi, állami és helyi előírásokat.
- Minimálisra kell csökkenteni a reagensek mikrobiális szennyeződését, különben megnövekedhet a nem specifikus festődés.
- A megadottaktól eltérő feltárási körülmények, inkubációs idők és hőmérsékletek hibás eredményekhez vezethetnek. Az ilyen változtatásokat a felhasználónak validálnia kell.

## Használati útmutató

Az Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) elsődleges antitest automata BOND rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel) és a BOND Polymer Refine Detection kittel való együttes használatra lett kifejlesztve. Az Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) elsődleges antitesthez javasolt festési protokoll az „F” IHC-protokoll. A hőindukált epitópfeltáráshoz BOND Epitope Retrieval Solution 2 oldat 30 percig tartó alkalmazása javasolt.

## Várható eredmények

### Normális szövetek

Az 5A4 klón kimutatta az anaplasztikus limfóma kináz proteint az agyalapi mirigy és a vékonybél néhány neuroendokrin sejtjében, a tüdőben alveoláris makrofágokban és a prosztata sztrómasejtjeinek egy részében. Az összes többi vizsgált szövet negatív volt. (Vizsgált normál esetek összesített száma = 130).

### Tumorszövetek

Az 5A4 klón a tüdő 5/27 anaplasztikus nagy sejt limfómáját és 2/5 nagy sejt karcinómáját festette meg. Semmilyen megfestést nem figyeltek meg sokféle további értékelt abnormális szövetnél, beleértve a tüdőtumort (0/68), emlőtumort (0/5), pajzsmirigyumort (0/5), vastagbélumort (0/4), májtumort (0/4), metasztázisos tumort (0/4), nyelőcsőumort (0/3), gyomortumort (0/3), fej-nyakumort (0/3), petefészekumort (0/3), mellékvesetumort (0/2), húgyhólyagumort (0/2), agytumort (0/2), vékonybélumort (0/2), végbélumort (0/2), vesetumort (0/2), nyirokcsomótumort (0/2), nyálmirigyumort (0/2), heretumort (0/2), méhnyakumort (0/2), endometriumumort (0/2), oszteosarcomát (0/1), hasnyálmirigy-adenokarcinómát (0/1), prosztata-adenokarcinómát (0/1), prosztata hiperpláziát (0/1), lapphámsejtes bőrkarcinómát (0/1) és melanómát (0/1). (Vizsgált kóros szövetek összesített száma = 162).

**Az Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) az endogén ALK és ALK fúziós fehérjék értékelésének és expressziójának segítésére ajánlott normális és tumoros szövetekben, a nem immunológiai hisztokémiai festést használó hagyományos kórszövettani eljárások kiegészítéseként.**

## Terméspecifikus korlátozások

Az Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) terméket a Leica Biosystems a BOND Polymer Refine Detection kittel és a BOND segédreagensekkel való használatra optimalizálta. A tesztelési eljárásoktól való eltérés esetén a felhasználó felelőssége a betegeredmények értelmezése az adott körülmények között. A protokoll végrehajtásához szükséges idő a szövet fixálásának és az antigén-erősítés hatékonyságának eltérései miatt változó lehet, ezért tapasztalati alapon történő meghatározást igényel. A feltárási körülmények és a protokollok optimalizálásakor negatív reagenskontrollokat kell használni.

## Hibaelhárítás

A javító intézkedéseket lásd a 3. hivatkozásban.

Szokatlan festődés bejelentéséhez forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához.

## További információk

A BOND reagensekkel végzett immunfestésre vonatkozó további információkat a BOND felhasználói dokumentáció „BOND reagensek használata” című részében talál a következő szakaszokban: Az eljárás elve, Szükséges anyagok, A minták előkészítése, Minőség-ellenőrzés, A teszt ellenőrzése, A festődés értelmezése, A címkéken szereplő szimbólumok magyarázata és Általános korlátozások.

## Bibliográfia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Haisaka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## Kiadás dátuma

30 november 2018

# Anticorpul primar gata de utilizare BOND™

## Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

Nr. catalog: PA0831

### Utilizare prevăzută

Acest reactiv este destinat utilizării pentru diagnosticare *in vitro*.

Anticorpul monoclonal Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) este destinat utilizării pentru identificarea calitativă, prin intermediul microscopiei optice, a proteinelor endogene ALK și ALK de fuziune în țesut fixat în formalină, încorporat în parafină, prin colorare imunohistochimică utilizând sistemul automat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III).

Interpretarea clinică a oricărei colorații sau a absenței acesteia trebuie verificată prin studii morfologice, folosind proceduri de control adecvate, și trebuie evaluată în contextul istoricului clinic al pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

### Rezumat și explicație

Pot fi utilizate tehnici imunohistochimice pentru a demonstra prezența antigenilor în țesut și celule (a se vedea „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația de utilizare BOND). Anticorpul primar Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) este un produs gata de utilizare care a fost optimizat în mod specific pentru utilizarea cu BOND Polymer Refine Detection. Demonstrarea proteinelor endogene ALK și ALK de fuziune este realizată mai întâi prin permiterea legării Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) la secțiune și apoi prin vizualizarea acestei legări utilizând reactivii furnizați în sistemul de detecție. Utilizarea acestor produse, în combinație cu sistemul automat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III), reduce posibilitatea producerii erorii umane și variabilitatea inerentă care rezultă din diluția individuală a reactivului, pipetarea manuală și aplicarea reactivului.

### Reactivi furnizați

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) este un anticorp monoclonal anti-uman de soarece produs ca supernatant de cultură tisulară și furnizat în soluție salină tamponată cu trometamină cu proteină purtătoare, care conține 0,35 % ProClim™ 950 drept conservant.

Volu total = 7 ml.

### Clonă

5A4

### Imunogen

Proteină procariotică recombinantă corespunzând unei regiuni care se întinde pe domeniul catalitic kinazei de tirozină și face parte din C-terminus al transcripției NPM-ALK (aminoacizi 419-520).

### Specificitate

Proteină ALK umană și proteine ALK de fuziune C-terminale conținând secvența țintă imunizată.

### Clasa Ig

IgG1

### Concentrație proteină totală

Aproximativ 10 mg/mL.

### Concentrație anticorpi

Mai mare sau egală cu 2,6 mg/L, așa cum este determinată prin ELISA.

### Diluare și amestecare

Anticorpul primar Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) este diluat în mod optim pentru utilizare pe sistemul BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III). Reconstituirea, amestecarea, diluarea sau titrarea acestui reactiv nu sunt necesare.

### Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

Consultați „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația dumneavoastră de utilizare a sistemului BOND pentru o listă completă a materialelor necesare pentru tratarea specimenelor și colorația imunohistochimică utilizând sistemul BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III).

### Depozitare și stabilitate

A se depozita la 2–8 °C. A nu se utiliza după data expirării indicată pe eticheta recipientului.

Semnele care indică contaminarea și/sau instabilitatea Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) sunt: turbiditatea soluției, formarea de miroșuri și prezența precipitatului.

A se readuce la 2–8 °C imediat după utilizare.

Alte condiții de depozitare decât cele specificate mai sus trebuie verificate de către utilizator<sup>1</sup>.

### Precauții

- Acest produs este destinat utilizării pentru diagnosticare *in vitro*.
- Concentrația de ProClim™ 950 este 0,35 %. Acesta conține ingredientul activ 2-metil-4-izotiazolin-3-ona și poate cauza iritarea pielii, ochilor, membranelor mucoase și tractului respirator superior. Purtați mănuși de unică folosință atunci când manipulați reactivii.
- Pentru a obține o copie a fișei tehnice de securitate a materialului, luați legătura cu distribuitorul dvs. local sau cu biroul regional al Leica Biosystems sau, ca alternativă, vizitați site-ul web al Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



- Specimenele, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manipulate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate luând măsurile de precauție adecvate. Nu pipetați niciodată reactivii cu gura și evitați contactul reactivilor și speciemenelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau speciemenele vin în contact cu suprafețe sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.
- Consultați regulamentele naționale, județene sau locale pentru informații privind eliminarea la deșeuri a oricăror componente cu potențial toxic.
- Reduceți la minimum contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorației nespecifice.
- Timpii sau temperaturile de recuperare, incubajie care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificare trebuie să fie validată de utilizator.

## Instrucțiuni de utilizare

Anticorpii primar Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) a fost dezvoltat pentru utilizarea pe sistemul automat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III) în combinație cu BOND Polymer Refine Detection. Protocolul de colorare recomandat pentru anticorpii primar Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) este IHC Protocol F. Se recomandă recuperarea indusă de căldură a epitopilor utilizând BOND Epitope Retrieval Solution 2 timp de 30 de minute.

## Rezultate așteptate

### Tesuturi normale

Clona 5A4 a detectat proteina Anaplastic Lymphoma Kinase în unele celule neendocrine ale glandei pituitare și ale intestinului subțire, macrofage alveolare în plămân și o porțiune de celule stromale prostatice. Toate celelalte țesuturi testate au fost negative. (Numărul total al cazurilor normale evaluate = 130).

### Tesuturi tumorale

Clona 5A4 a colorat 5/27 limfoame anaplastice cu celule mari și 2/5 carcinoame pulmonare cu celule mari. Nu s-a observat colorație într-o varietate de alte țesuturi anormale evaluate, incluzând tumori pulmonare (0/68), tumori mamare (0/5), tumori tiroidiene (0/5), tumori ale colonului (0/4), tumori hepatice (0/4), tumori metastatice (0/4), tumori ale esofagului (0/3), stomacului (0/3) și capului și gâtului (0/3), tumori ovariene (0/3), tumori ale glandei suprarenale (0/2), tumori vezicale (0/2), tumori cerebrale (0/2), tumori ale intestinului subțire (0/2), tumori rectale (0/2), tumori renale (0/2), tumori ale ganglionului limfatic (0/2), glandei salivare (0/2), testiculului (0/2), colului uterin (0/2) și endometrului (0/2), un osteosarcom (0/1), un adenocarcinom pancreatic (0/1), un adenocarcinom al prostatei (0/1), o hiperplazie de prostată, (0/1), un carcinom al pielii cu celule scuamoase (0/1) și un melanom (0/1). (Numărul total al țesuturilor anormale evaluate = 162).

**Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) este recomandată pentru a ajuta la evaluarea și expresia proteinelor endogene ALK și ALK de fuziune, în tesuturi normale și neoplazice, ca adjuvant la histopatologia convențională utilizând colorații histochemice non-immunologice.**

## Restricții specifice produsului

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) a fost optimizat la Leica Biosystems pentru utilizarea cu BOND Polymer Refine Detection și cu reactivii auxiliari BOND. Utilizatorii care se abat de la procedurile de testare recomandate trebuie să accepte responsabilitatea pentru interpretarea rezultatelor pacientului în aceste circumstanțe. Timpii protocolului pot varia, datorită variației în fixarea țesutului și eficacității intensificării antigenului, și trebuie să fie determinați empiric. Atunci când se optimizează condițiile de recuperare și timpii protocolului, trebuie să fie utilizați reactivi de control negativ.

## Rezolvarea problemelor

Consultați referința 3 pentru acțiuni de remediere.

Contactați distribuitorul dumneavoastră local sau biroul regional al Leica Biosystems pentru raportarea colorării neobișnuite.

## Informații suplimentare

Informații suplimentare referitoare la imunocolorarea cu reactivii BOND, sub titlurile Principiul procedurii, Materiale necesare, Pregătirea specimenului, Controlul calității, Verificarea analizei, Interpretarea colorării, Codul simbolurilor de pe etichete și Limitări generale pot fi găsite în „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația dumneavoastră de utilizare a sistemului BOND.

## Bibliografie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisaoka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## Data publicării

30 noiembrie 2018

# Готовое к применению первичное антитело BOND™

## Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

### Номер по каталогу: PA0831

#### Назначение

Этот реактив предназначен для диагностики *in vitro*.

Моноклональные антитела к Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) предназначены для качественного определения эндогенной КАЛ и слитых белков КАЛ методом световой микроскопии в фиксированных формалином и залитых в парафин образцах тканей после иммуногистохимического окрашивания в автоматизированной системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica).

Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащими контрольными исследованиями и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

#### Краткое изложение и пояснение

Имуногистохимические методы могут использоваться для выявления антигенов в тканях и клетках (смотрите монографию «Применение реактивов BOND» в документации пользователя BOND). Первичное антитело к Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) является готовым к использованию препаратом, специально оптимизированным для применения в системе BOND Polymer Refine Detection. Подтверждение присутствия эндогенной КАЛ и слитых белков КАЛ достигается, во-первых, за счет связывания Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) со срезом ткани с последующей визуализацией участка связывания, что осуществляется с использованием реактивов, которые предусмотрены системой обнаружения. Применение этих продуктов в сочетании с автоматизированной системой BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica) снижает вероятность человеческой ошибки и вариабельность, присущую процессам разведения отдельных реактивов, ручного пипетирования и внесения реактивов.

#### Реактивы, входящие в комплект поставки

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) представляет собой препарат моноклональных антител мыши к антигенам человека, который выпускается в форме супернатанта культуры ткани и поставляется в трис-солевом буферном растворе, содержащем белок-носитель, а также 0,35 % ProClin™ 950 в качестве консерванта.

Общий объем = 7 млб.

#### Клон

5A4

#### Иммуноген

Рекомбинантный белок из прокариотических клеток, соответствующий участку, который охватывает каталитический домен тирозинкиназы и часть С-концевой области транскрипта генов нуклеофозмина и киназы анапластической лимфомы (аминокислоты 419-520).

#### Специфичность

Белок КАЛ человека и С-концевая область слитных белков КАЛ, содержащие иммунизированную последовательность-мишень.

#### Класс иммуноглобулинов

IgG1

#### Общая концентрация белка

Примерно 10 мг/млб.

#### Концентрация антитела

Концентрация выше или эквивалентна 2,6 мг/л при определении методом ИФА.

#### Разведение и смешивание

Первичное антитело Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) имеет оптимальное разведение для применения в системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica). Этот реактив не нуждается в восстановлении, смешивании, разведении или титровании.

#### Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

Полный список материалов, необходимых для обработки и иммуногистохимического окрашивания образцов в системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica) имеется в разделе «Применение реактивов BOND» документации пользователя системы BOND.

#### Хранение и стабильность

Хранить при температуре 2–8 °С. Не использовать после указанной на этикетке контейнера даты истечения срока годности.

Признаками, которые указывают на контаминацию и/или нестабильность Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4), являются: помутнение раствора, появление запаха и наличие осадка.

Немедленно после применения вернуть на хранение при 2–8 °С.

Условия хранения, отличающиеся от указанных выше, должны быть верифицированы пользователем<sup>1</sup>.

## Меры предосторожности

- Данная продукция предназначена для диагностики *in vitro*.
- Концентрация раствора ProCliIn™ 950 составляет 0,35 %. Продукт содержит в качестве активного ингредиента 2-метил-4-изотиазолин-3-он, и может вызывать раздражение глаз, кожи, слизистых оболочек и органов верхних дыхательных путей. При работе с реактивами надевайте одноразовые перчатки.
- Для получения копии паспорта безопасности химической продукции обратитесь к местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems либо посетите веб-сайт компании Leica Biosystems: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)
- С образцами (до и после фиксации) и всеми материалами, на которые они воздействуют, следует обращаться как с потенциально способными к передаче инфекции и утилизировать, соблюдая соответствующие меры предосторожности<sup>2</sup>. Никогда не набирайте реактивы в пипетку ртом. Избегайте контакта реактивов и образцов с кожей и слизистыми оболочками. В случае контакта реактивов или образцов с чувствительными зонами промойте их большим количеством воды. Обратитесь за медицинской помощью.
- По вопросам утилизации любых возможно токсических компонентов выполняйте требования федеральных, региональных или местных нормативных документов.
- Сводите к минимуму микробное загрязнение реактивов во избежание усиления неспецифического окрашивания.
- Нарушение указанных в инструкции правил демаскировки, времени инкубации и термической обработки может привести к ошибочным результатам. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

## Инструкция по применению

Первичное антитело Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) было разработано для использования в автоматизированной системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica) в сочетании с системой обнаружения BOND Polymer Refine Detection. Рекомендуемым протоколом иммуногистохимического окрашивания (ИГХ) с использованием Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) является протокол IHC Protocol F. Тепловую демаскировку эпитопа рекомендуется выполнять с применением восстанавливающего раствора BOND Epitope Retrieval Solution 2 в течение 30 минут.

## Ожидаемые результаты

### Нормальные ткани

Клон 5A4 выявил белок киназы анапластической лимфомы в некоторых нейроэндокринных клетках гипофиза и тонкого кишечника, альвеолярных макрофагах в легком и частично в стромальных клетках простаты. Для других протестированных тканей были получены отрицательные результаты. (Общее число исследованных нормальных тканей = 130).

### Ткани опухолей

Клон 5A4 окрасил 5/27 случаев анапластической крупноклеточной лимфомы и 2/5 случая крупноклеточной карциномы в легком. Не обнаружено окрашивания в различных других измененных тканях, в том числе при опухолях легких (0/68), опухолях груди (0/5), опухолях щитовидной железы (0/5), опухолях кишечника (0/4), опухолях печени (0/4), метастатических опухолях (0/4), опухолях пищевода (0/3), желудка (0/3), головы и шеи (0/3), опухолях яичников (0/3), опухолях надпочечников (0/2), опухолях мочевого пузыря (0/2), опухолях мозга (0/2), опухолях тонкого кишечника (0/2), опухолях прямой кишки (0/2), опухолях почек (0/2), опухолях лимфатических узлов (0/2), слюнной железы (0/2), яичек (0/2), шейки матки (0/2) и эндометрия (0/2), при остеосаркоме (0/1), панкреатической аденокарциноме (0/1), аденокарциноме простаты (0/1), гиперплазии простаты, (0/1), плоскоклеточной карциноме кожи (0/1) и меланоме (0/1). (Общее число образцов измененных тканей, которые были исследованы = 162).

**Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) рекомендована как вспомогательное средство для оценки и экспрессии эндогенной КАЛ и слитых белков КАЛ в нормальных и пораженных новообразованиями тканях, в качестве дополнения к стандартным гистопатологическим исследованиям с применением неиммунного гистохимического окрашивания.**

## Ограничения, специфичные для этого продукта

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) оптимизирован компанией Leica Biosystems для применения с системой обнаружения BOND Polymer Refine Detection и дополнительными реактивами BOND. Пользователи, отклоняющиеся от рекомендованных процедур анализа, должны брать на себя ответственность за интерпретацию результатов исследований пациентов, выполненных в таких условиях. Продолжительность выполнения протокола должна быть определена опытным путем и может различаться в связи с вариативностью фиксации ткани и эффективности усиления антигена. При оптимизации условий демаскировки и длительности протокола следует использовать отрицательные контроли реактивов.

## Поиск и устранение неисправностей

Действия по устранению неполадок описаны в (3).

С сообщениями о необычном окрашивании обращайтесь к своему местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems.

## Дополнительная информация

Дополнительная информация по иммуногистохимическому окрашиванию с использованием реактивов BOND содержится в рубриках «Принцип метода», «Необходимые материалы», «Контроль качества», «Проверка достоверности анализа», «Интерпретация окрашивания», «Значения символов в маркировке продукции» и «Ограничения общего характера» раздела «Применение реактивов BOND» документации пользователя системы BOND.

## Список литературы

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisoaka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721

5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. *Journal of Thoracic Oncology*. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. *Lung Cancer*. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. *Virchows Archiv: an international journal of pathology*. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. *Journal of Molecular Endocrinology*. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. *Cancer Biology and Therapy*. 2015; 16(12):1691-701

**Дата выпуска**

30 Ноябрь 2018

# Gotowe do użycia przeciwciało BOND™

## Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

Nr katalogowy: PA0831

### Przeznaczenie

Ten odczynnik jest przeznaczony do diagnostyki *in vitro*.

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) Przeciwciało monoklonalne służy do identyfikacji jakościowej z zastosowaniem mikroskopii świetlnej endogennej ALK oraz białek fuzyjnych ALK w tkance utrwalonej w formalinie i zatopionej w parafinie za pomocą barwienia immunohistochemicznego przy użyciu automatycznego systemu BOND (w tym systemów Leica BOND-MAX i Leica BOND-III).

Kliniczną interpretację wybarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

### Podsumowanie i objaśnienie

W celu wykazania obecności antygenów w tkankach i komórkach (zob. „Korzystanie z odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika BOND) można skorzystać z technik immunohistochemicznych. Przeciwciało pierwszorzędowe Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) jest gotowym do użycia produktem, który został specjalnie zoptymalizowany pod kątem użycia z BOND Polymer Refine Detection. Obecność endogennej ALK oraz białek fuzyjnych ALK jest wykazywana w pierwszej kolejności przez umożliwienie wiązania Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) ze skrawkiem, a następnie wizualizację tego wiązania za pomocą odczynników dostarczonych w systemie detekcji. Używanie tych produktów, w połączeniu z automatycznym systemem BOND (obejmuje Leica BOND-MAX system i Leica BOND-III system), redukuje możliwość wystąpienia błędów człowieka i właściwej zmienności wynikającej z indywidualnego rozcieńczania odczynników, ręcznego pobierania pipetą i stosowania odczynników.

### Odczynniki znajdujące się w zestawie

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) jest myślim anty-ludzkim przeciwciałem monoklonalnym, produkowanym jako oczyszczony supernatant hodowli tkankowej i dostarczonym w roztworze soli fizjologicznej buforowanej odczynnikiem Tris z białkiem nośnikowym, konserwowanym 0,35 % ProClin™ 950.

Łączna objętość = 7 ml.

### Klon

5A4

### Immunogen

Prokariotyczne białko rekombinowane odpowiada regionowi, który obejmuje katalityczną domenę kinazy tyrozynowej oraz część C-końca transkrypcji NPM-ALK (aminokwasy 419-520).

### Swoistość

Ludzkie białko ALK oraz białka fuzyjne ALK z C-końcem zawierające immunizowaną sekwencję docelową

### Klasa Ig

IgG1

### Całkowite stężenia białka

Okolo 10 mg/mL.

### Stężenie przeciwciał

Większe lub równe 2,6 mg/L oznaczone za pomocą testu ELISA.

### Rozcieńczanie i mieszanie

Przeciwciało pierwszorzędowe Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) jest optymalnie rozcieńczone pod kątem użycia w systemie BOND (w tym systemów Leica BOND-MAX i Leica BOND-III). W przypadku tego odczynnika nie jest konieczne dodawanie wody, mieszanie, rozcieńczanie ani miareczkowanie.

### Wymagane materiały niedołączone do zestawu

Aby uzyskać pełną listę materiałów potrzebnych do przygotowania próbek i barwienia immunohistochemicznego za pomocą systemu BOND (w tym systemów Leica BOND-MAX i Leica BOND-III) zob. „Korzystanie z odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika BOND.

### Przechowywanie i trwałość

Przechowywać w temperaturze 2-8°C. Nie używać po upływie daty ważności podanej na etykiecie pojemnika.

Oznaki skażenia i/lub niestabilności przeciwciała Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) są następujące: zmętnienie roztworu, pojawienie się zapachu i obecność osadu.

Niewzłoczyć po użyciu ponownie umieścić w temperaturze 2-8°C.

Przechowywanie w warunkach innych od wskazanych powyżej wymaga weryfikacji użytkownika<sup>1</sup>.

### Środki ostrożności

- Ten odczynnik jest przeznaczony do diagnostyki *in vitro*.
- Stężenie ProClin™ 950 wynosi 0,35 %. Zawiera składnik czynny, metyloizotiazolinon, który może powodować podrażnienie skóry, oczu, błon śluzowych i górnych dróg oddechowych. Podczas pracy z odczynnikami należy nosić rękawice jednorazowego użytku.

- Aby uzyskać egzemplarz karty charakterystyki, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub regionalnym biurem Leica Biosystems lub odwiedzić stronę internetową Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)
- Próbkę przed i po utwaleniu oraz wszelkie materiały narażone na kontakt z nimi należy traktować jako materiały potencjalnie zakaźne i należy je utylizować z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności. Podczas pobierania pipetą nie wolno zasysać odczynników ustami i należy unikać kontaktu odczynników i preparatów ze skórą oraz błonami śluzowymi. W razie kontaktu odczynników lub próbek ze szczególnie narażonymi miejscami przemycić miejsce kontaktu dużą ilością wody. Należy zasięgnąć porady lekarza.
- Wszelkie potencjalnie toksyczne składniki należy utylizować zgodnie z krajowymi lub lokalnymi przepisami.
- Chronić odczynnik przed skażeniem drobnoustrojami, ponieważ może ono doprowadzić do zwiększonego barwienia niespecyficznego.
- Zastosowanie czasów odmaskowywania, inkubacji lub temperatur innych niż podano w instrukcji może spowodować błędne wyniki. Wszelkie zmiany tego typu muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.

## Instrukcja stosowania

Przeciwciała pierwszorzędowe Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) zostało opracowane z myślą o zastosowaniu w automatycznym systemie BOND (obejmującym systemy Leica BOND-MAX i Leica BOND-III system) w połączeniu z BOND Polymer Refine Detection. Zalecany protokół barwienia dla przeciwciała pierwszorzędowego Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) to IHC (badanie immunohemiczne Protocol F. Zaleca się ciepłe odmaskowywanie epitopu przy użyciu roztworu BOND Epitope Retrieval Solution 2 przez 30 minut.

## Oczekiwane wyniki

### Tkanki prawidłowe

Klon 5A4 wykrył obecność białka kinazy chłoniaka anaplastycznego w niektórych komórkach neuroendokrynnych przysadki i jelita cienkiego, makrofagach pęcherzykowych w płucach i w części komórek zrębu prostaty. Wszystkie inne badane tkanki były negatywne. (Łączna liczba ocenionych prawidłowych przypadków = 130).

### Tkanki guza

Klon 5A4 wybrał 5/27 chłoniaków anaplastycznych i 2/5 wielkokomórkowych raków płuc. Nie zaobserwowano barwienia w przypadku wielu dodatkowych nieprawidłowych ocenianych tkanek, w tym w przypadku guzów płuc (0/68), guzów piersi (0/5), guzów tarczycy (0/5), guzów okrężnicy (0/4), guzów wątroby (0/4), guzów przerzutowych (0/4), guzów przetyku (0/3), żółtaka (0/3) oraz głowy i szyi (0/3), guzów jajnika (0/3), guzów nadnerczy (0/2), guzów pęcherza moczowego (0/2), guzów mózgu (0/2), guzów jelita cienkiego (0/2), guzów odbytnicy (0/2), guzów nerek (0/2), guzów węzłów chłonnych (0/2), ślinianki (0/2), jądra (0/2), szyjki macicy (0/2) i endometrium (0/2), kostniakomięsaka (0/1), gruczolakoraka trzustki (0/1), gruczolakoraka prostaty (0/1), rozrostu gruczołu krokowego, (0/1), raka płaskonabłonkowego skóry (0/1) i czerniaka (0/1). (Całkowita liczba zbadanych nieprawidłowych tkanek = 162).

**Zaleca się stosowanie Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) do oceny pomocniczej i ekspresji endogennej ALK i białek fuzyjnych ALK w tkankach prawidłowych i nowotworowych jako dodatek do konwencjonalnej histopatologii przy użyciu nieimmunologicznych barwień histologicznych.**

## Szczególne ograniczenia dla produktu

Przeciwciała Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) zostało zoptymalizowane w Leica Biosystems pod kątem stosowania z BOND Polymer Refine Detection i odczynnikami pomocniczymi BOND. W tych okolicznościach użytkownicy, którzy postępują niezgodnie z zalecanymi procedurami testowymi muszą wziąć odpowiedzialność za interpretację wyników chorego. Czasy protokołu mogą być różne w związku ze zróżnicowaniem w zakresie utwalenia tkanek i skuteczności wzmocnienia przez przeciwciała i należy je określić doświadczalnie. Odczynnik kontroli ujemnej należy stosować podczas optymalizacji warunków odmaskowywania i czasów protokołu.

## Rozwiązywanie problemów

W celu uzyskania dalszych informacji dot. działań zaradczych zob. odsyłacz 3.

W celu zgłoszenia nietypowego barwienia należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub z regionalnym biurem firmy Leica Biosystems.

## Dodatkowe informacje

Dodatkowe informacje dotyczące immunobarwienia przy użyciu odczynników BOND opisanego w rozdziałach „Zasady postępowania”, „Wymagane materiały”, „Przygotowanie próbek”, „Kontrola Jakości”, „Weryfikacja testu”, „Interpretacja barwienia”, „Objaśnienie symboli na etykietach” i „Ograniczenia ogólne” można znaleźć w punkcie „Stosowanie odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika systemu BOND.

## Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisaoka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540

8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. *Journal of Molecular Endocrinology*. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. *Cancer Biology and Therapy*. 2015; 16(12):1691-701

**Data publikacji**

30 listopada 2018

# Primarno protitelo BOND™ pripravljeno za uporabo Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

Kataloška št.: PA0831

## Predvidena uporaba

Ta reagent je namenjen diagnostični uporabi *in vitro*.

Monoklonsko protitelo Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) je namenjeno kvalitativni identifikaciji molekule endogenega proteina ALK in fuzijskih proteinov ALK s svetlobno mikroskopijo v tkivih, fiksiranih s formalinom in vstavljenih v parafin, z imunohistokemijskim barvanjem z uporabo avtomatiziranega sistema BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III).

Klinično razlago kakršnega koli obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopolnjevati morfološke študije in ustrezni kontrolni vzorci, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

## Povzetek in razlaga

Imunohistokemijske tehnike se lahko uporabijo za prikaz prisotnosti antigenov v tkivih in celicah (glejte »Uporaba reagentov BOND« v priloženi dokumentaciji za uporabnike sistema BOND). Primarno protitelo Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) je izdelek, pripravljen za uporabo, ki je bil posebej optimiziran za uporabo s sistemom za zaznavanje BOND Polymer Refine Detection. Prikaz endogenega proteina ALK in fuzijskih proteinov ALK se doseže tako, da se najprej dovoli vezava protitelesa Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) na rezino, nato pa se ta vezava prikaže z uporabo reagentov v sistemu za zaznavanje. Uporaba teh izdelkov, skupaj z avtomatiziranim sistemom BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III), zniža možnost človeške napake in variabilnosti, ki sama po sebi izhaja iz redčenja posameznega reagenta, ročnega pipetiranja in nanosa reagenta.

## Priloženi reagenti

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) je mišje monoklonsko protitelo proti humanim antigenom, ki je izdelano kot supernatant tkivne kulture in dobavljeno v fiziološki raztopini s pufrom tris, nosilno beljakovino in 0,35 % konzervansa ProClin™ 950.

Skupna prostornina = 7 ml.

## Klon

5A4

## Imunogen

Prokarionski rekombinantni protein, ki ustreza fragmentu in zajema katalitično domeno tirozin kinaze ter del C-terminalnega konca transkripta NPM-ALK (aminokislina 419–520).

## Specifičnost

Humani protein ALK in fuzijski proteini ALK C-terminalnega konca, ki vključujejo imunizirano ciljno sekvenco.

## Razred Ig

IgG1

## Skupna koncentracija beljakovin

Približno 10 mg/mL.

## Koncentracija protiteles

Višja ali enaka 2,6 mg/L, določena s testom ELISA.

## Redčenje in mešanje

Primarno protitelo Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) je optimalno razredčeno za uporabo na sistemu BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III). Rekonstitucija, mešanje, redčenje ali titracija tega reagenta niso potrebni.

## Potrebni materiali, ki niso priloženi

Glejte »Uporaba reagentov BOND« v priloženi dokumentaciji BOND za uporabnika za popoln seznam materialov, ki so potrebni za obdelavo vzorcev in imunohistokemijsko barvanje pri uporabi sistema BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III).

## Shranjevanje in stabilnost

Hraniti pri temperaturi 2–8 °C. Ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti, navedenem na oznaki na vsebniku.

Znaki, ki kažejo kontaminacijo in/ali nestabilnost protitelesa Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4), so: motnost raztopine, prisotnost vonja in oborine.

Takoj po uporabi ohladite na temperaturo 2–8 °C.

Uporabnik mora potrditi ustreznost pogojev shranjevanja, če se ti razlikujejo od zgoraj navedenih<sup>1</sup>.

## Previdnosti ukrepi

- Ta izdelek je namenjen za diagnostično uporabo *in vitro*.
- Koncentracija konzervansa ProClin™ 950 je 0,35 %. Vsebuje aktivno učinkovino 2-metil-4-izotiazolin-3-on in lahko povzroči draženje kože, oči, sluznice ter zgornjih dihalnih poti. Kadar delate z reagenti, nosite rokavice za enkratno uporabo.
- Kopijo varnostnega lista lahko dobite pri lokalnem distributerju ali regionalni pisarni družbe Leica Biosystems ali na spletnem mestu [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



- Z vzorci, pred fiksiranjem in po njem, in vsemi materiali, s katerimi so prišli v stik, morate rokovati, kot da bi lahko prenašali okužbe, in pri njihovem odstranjevanju upoštevati ustrezne previdnostne ukrepe. Nikoli ne pipetirajte reagentov skozi usta; pazite, da reagenti in vzorci ne pridejo v stik s kožo ali sluznicami. Če reagenti ali vzorci pridejo v stik z občutljivimi deli, jih izperite z obilo vode. Poiščite zdravniško pomoč.
- Sledite zveznim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerih koli morebitno strupenih sestavin.
- Pazite, da ne pride do mikrobnе okužbe reagentov, saj lahko povzroči nespecifično barvanje.
- Če uporabite čas ali temperature pridobivanja in inkubacije, ki se razlikujejo od navedenih, lahko pridobite napačne rezultate. Uporabnik mora validirati morebitne spremembe.

## Navodila za uporabo

Primarno protitelo Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) je bilo razvito za uporabo na avtomatiziranem sistemu BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III) skupaj s sistemom BOND Polymer Refine Detection. Priporočeni protokol barvanja za primarno protitelo Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) je IHC Protocol F. Za toplotno pridobivanje epitopa se priporoča uporaba raztopine BOND Epitope Retrieval Solution 2 za 30 minut.

## Pričakovani rezultati

### Normalna tkiva

Klon 5A4 je zaznal protein Anaplastic Lymphoma Kinase v nekaterih nevroendokrinih celicah hipofize in tankega črevesa, alveolarne makrofage v pljučih in delu stromalnih celic prostate. Vsa druga testirana tkiva so bila negativna. (Skupno število ocenjenih normalnih primerov = 130).

### Tumorska tkiva

Klon 5A4 je obarval 5/27 anaplastičnih velikoceličnih limfomov in 2/5 velikoceličnih karcinomov pljuč. Obarvanja niso opazili pri različnih drugih ocenjenih nenormalnih tkivih, vključno s tumorji pljuč (0/68), tumorji dojke (0/5), tumorji ščitnice (0/5), tumorji kolona (0/4), tumorji jeter (0/4), metastatskimi tumorji (0/4), tumorji požiralnika (0/3), želodca (0/3), glave in vratu (0/3), tumorji na jajčnikih (0/3), tumorji nadledvične žleze (0/2), tumorji sečnega mehurja (0/2), možganskimi tumorji (0/2), tumorji tankega črevesa (0/2), rektalnimi tumorji (0/2), tumorji ledvic (0/2), tumorji bezgavk (0/2), slinavk (0/2), testisov (0/2), materničnega vratu (0/2) in endometrija (0/2), osteosarkomom (0/1), adenokarcinomom trebušne slinavke (0/1), adenokarcinomom prostate (0/1), hiperplastično prostato (0/1), ploščatoceličnim karcinomom kože (0/1) in melanomom (0/1). (Skupno število ocenjenih tkiv z nepravilnostmi = 162).

**Protitelo Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) se uporablja kot pomoč pri ocenjevanju in izražanju endogenega proteina ALK in fuzijskih proteinov ALK v normalnih in neoplastičnih tkivih kot dodatna analiza konvencionalni histopatologiji z uporabo neimunoloških histokemičnih barvil.**

## Specifične omejitve izdelka

Družba Leica Biosystems je protitelo Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) optimizirala za uporabo s sistemom BOND Polymer Refine Detection in pomožnimi reagenti BOND. Uporabniki, ki odstopijo od priporočenih preizkusnih postopkov, morajo prevzeti odgovornost za razlago bolnikovih rezultatov pod temi pogoji. Trajanje protokola se lahko spremeni zaradi razlik pri fiksiranju tkiv in učinkovitosti izboljšave antigena ter se mora določiti empirično. Uporabiti morate negativne kontrole reagente, kadar optimizirate pogoje pridobivanja in trajanje protokola.

## Odpravljanje težav

Glejte 3. navedbo za ukrep za odpravljanje napake.

Če želite poročati o nenavadnem obarvanju, se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali regionalno pisarno družbe Leica Biosystems.

## Dodatne informacije

Dodatne informacije o imunološkem barvanju z reagenti BOND lahko najdete v priloženi dokumentaciji za uporabnike sistema BOND »Uporaba reagentov BOND« v poglavjih Načelo postopka, Potrebni materiali, Priprava vzorcev, Kontrola kakovosti, Verifikacija testa, Tolmačenje obarvanja, Legenda za simbole na oznakah in Splošne omejitve.

## Literatura

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisaoka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## Datum izdaje

30 november 2018

# BOND™ Primární protilátka připravená k použití

## Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

Kat. č.: PA0831

### Zamýšlené použití

Tato reagensie je určena k diagnostickému použití *in vitro*.

Monoklonální protilátka Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) je určena k použití při kvalitativním stanovení endogenní ALK a fúzních proteinů ALK světelnou mikroskopií ve tkáni fixované formalínem a zalité v parafínu imunohistochemickým barvením pomocí automatického systému BOND (zahrnujícího systém Leica BOND-MAX a systém Leica BOND-III).

Klinickou interpretaci jakéhokoliv barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfologickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

### Souhrn a vysvětlení

Imunohistochemické techniky lze použít k průkazu přítomnosti antigenů ve tkáni a v buňkách (viz „Použití reagensí BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND). Primární protilátka Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) je produkt připravený k použití, který byl specificky optimalizován k použití se soupravou BOND Polymer Refine Detection. Průkazu endogenní ALK a fúzních proteinů ALK se dosáhne tím, že se nejprve umožní vazba produktu Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) na řez, a poté se tato vazba vizualizuje pomocí reagensí dodaných v detekčním systému. Použití těchto produktů v kombinaci s automatickým systémem BOND (včetně systému Leica BOND-MAX a systému Leica BOND-III) snižuje možnost lidské chyby a inherentní variability v důsledku ředění jednotlivých reagensí, manuálního pipetování a aplikace reagensí.

### Dodávané reagensie

Produkt Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) je myší monoklonální protilátka proti lidským antigenům vyráběná jako supernatant z tkáňové kultury a dodávaná ve tris pufovaném fyziologickém roztoku s peněšejícím proteinem, obsahující jako konzervační prostředek 0,35 % látky ProClin™ 950.

Celkový objem = 7 ml.

### Klon

5A4

### Imunogen

Prokaryotický rekombinantní protein odpovídající oblasti, která pokrývá katalytickou doménu tyrozinkinázy a část C-konce transkriptu NPM-ALK (aminokyseliny 419–520).

### Specifita

Lidský protein ALK a C-koncové fúzní proteiny ALK, které obsahují imunizovanou cílovou sekvenci.

### Třída Ig

IgG1

### Koncentrace celkového proteinu

Přibližně 10 mg/mL.

### Koncentrace protilátek

Vyšší nebo rovna 2,6 mg/L, stanovená metodou ELISA.

### Ředění a míchání

Produkt Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) je primární protilátka optimálně naředěná k použití v systému BOND (včetně systému Leica BOND-MAX a systému Leica BOND-III). Rekonstituce, míchání, ředění ani titrace této reagensie nejsou nutné.

### Potřebný materiál, který není součástí dodávky

Úplný seznam materiálů potřebných ke zpracování vzorku a k imunohistochemickému barvení pomocí systému BOND (včetně systému Leica BOND-MAX a systému Leica BOND-III) je uveden v bodě „Použití reagensí BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND.

### Skladování a stabilita

Uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na štítku nádoby.

Známky signalizující kontaminaci nebo nestabilitu produktu Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) jsou: zkalení roztoku, vznik zápachu a přítomnost precipitátu.

Okamžitě po použití vraťte do prostředí s teplotou 2–8 °C.

Podmínky skladování jiné než výše uvedené musí uživatel validovat.

### Bezpečnostní opatření

- Tento produkt je určen pro diagnostické použití *in vitro*.
- Koncentrace přípravku ProClin™ 950 je 0,35 %. Obsahuje aktivní složku 2-methyl-4-isothiazolin-3-on a může způsobit podráždění kůže, očí, sliznic a horních cest dýchacích. Při manipulaci s reagensiemi používejte rukavice na jedno použití.
- Výřisk bezpečnostního listu materiálu získáte od místního distributora nebo oblastní kanceláře společnosti Leica Biosystems, nebo můžete navštívit webovou stránku Leica Biosystems: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- Se vzorky, před fixací i po fixaci, a se všemi materiály, které s nimi přišly do kontaktu, je nutno zacházet, jako by mohly přenášet infekci, a zlikvidovat je s použitím příslušných bezpečnostních opatření<sup>2</sup>. Nikdy reagencie nepipetujte ústy a zabraňte kontaktu reagencí a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagencie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody. Vyhleďte lékařskou pomoc.
- Údaje o likvidaci jakýchkoli potenciálně toxických komponent prostudujte ve federálních, státních nebo místních nařízeních.
- Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagencí, mohlo by dojít ke zvýšení výskytu nespecifického barvení.
- Odmaskování, inkubační doby nebo teploty jiné než specifikované mohou vést k chybným výsledkům. Jakákoliv změna musí být validována uživatelem.

## Návod k použití

Primární protilátka Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) byla vyvinuta k použití v automatickém systému BOND (včetně systému Leica BOND-MAX a systému Leica BOND-III) v kombinaci se soupravou BOND Polymer Refine Detection. Protokol doporučeného barvení primární protilátkou Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) je imunohistochemický (IHC) protokol F. Teplem indukované odmaskování epitopu se doporučuje s použitím odmaskovacího roztoku BOND Epitope Retrieval Solution 2 po dobu 30 minut.

## Očekávané výsledky

### Normální tkáň

Klon 5A4 detekoval kinázu anaplastického lymfomu v některých neuroendokrinních buňkách hypofýzy a tenkého střeva, alveolárních makrofázích v plicích a části stromálních buněk prostaty. Všechny ostatní testované tkáně byly negativní. (Celkový počet normálních vyšetřených případů = 130).

### Nádorové tkáň

Klon 5A4 obarvil 5/27 anaplastických velkobuněčných lymfomů a 2/5 velkobuněčných karcinomů plic. V množství dalších abnormálních hodnocených tkáních nebylo pozorováno žádné barvení. Tyto tkáně zahrnovaly: nádory plic (0/68), nádory prsu (0/5), nádory štítné žlázy (0/5), nádory tlustého střeva (0/4), nádory jater (0/4), metastatické nádory (0/4), nádory jícnu (0/3), žaludku (0/3) a hlavy a krku (0/3), nádory vaječníků (0/3), nádory nadledvinek (0/2), nádory močového měchýře (0/2), nádory mozku (0/2), nádory tenkého střeva (0/2), nádory konečníku (0/2), nádory ledvin (0/2), nádory lymfatických uzlin (0/2), slinných žláz (0/2), varlat (0/2), děložního krčku (0/2) a endometria (0/2), osteosarkom (0/1), adenokarcinom slinivky břišní (0/1), adenokarcinom prostaty (0/1), hyperplastickou prostatu, (0/1), dladřicobuněčný karcinom kůže (0/1) a melanom (0/1). (Celkový počet vyšetřených abnormálních tkání = 162).

**Produkt Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) se doporučuje jako pomůcka při vyhodnocení a expresi endogenní ALK a fúzních proteinů ALK v normálních a neoplastických tkáních, jako doplněk ke konvenčním histopatologií s použitím neimunologických histochemických nátěrů.**

## Omezení specifická pro tento produkt

Produkt Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) byl společností Leica Biosystems optimalizován pro použití se soupravou BOND Polymer Refine Detection a s pomocnými reagencemi BOND. Uživatelé, kteří se při vyšetření odchýlí od doporučeného postupu, musí za těchto okolností přijmout odpovědnost za interpretaci výsledků u pacienta. Doby uvedené v protokolu se mohou lišit v důsledku odchylek při fixaci tkání a účinnosti při zvýraznění antigenu a musí být stanoveny empiricky. Při optimalizaci podmínek pro odmaskování a pro doby v protokolu musí být použity reagencie pro negativní kontrolu.

## Řešení problémů

Nápravné opatření je uvedeno v odkazu 3.

S hlášením neobvyklého barvení kontaktujte místního distributora nebo oblastní kancelář společnosti Leica Biosystems.

## Další informace

Další informace o imunobarvení reagencemi BOND naleznete pod názvy Princip metody, Potřebné materiály, Příprava vzorku, Kontrola kvality, Ověření testů, Interpretace barvení, Vysvětlení symbolů na štítcích a Obecná omezení v uživatelské dokumentaci BOND, v bodě „Použití reagencí BOND“.

## Literatura

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisaoka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumors: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savic S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savic S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## Datum vydání

30 listopad 2018

# BOND™ primárna protilátka na priame použitie

## Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4)

### Katalógové č.: PA0831

#### Zamýšľané použitie

Toto činidlo je určené na diagnostické použitie *in vitro*.

Monoklonálna protilátka Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) je určená na použitie pri kvalitatívnej identifikácii endogénneho ALK a fúzných proteínov ALK svetelnou mikroskopiou v tkanive fixovanom formalínom a zaliatom do parafínu prostredníctvom imunohistochemického farbenia použitím automatizovaného systému BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III).

Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami a zodpovedajúcimi kontrolami. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a ďalších diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom.

#### Zhrnutie a vysvetlenie

Imunohistochemické techniky možno použiť na preukázanie prítomnosti antigénov v tkanivách a bunkách (pozrite si časť „Používanie činidiel BOND“ v používateľskej dokumentácii k systému BOND). Primárna protilátka Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) je produkt pripravený na okamžité použitie, ktorý bol špecificky optimalizovaný na použitie so systémom BOND Polymer Refine Detection. Preukázanie endogénneho ALK a fúzných proteínov ALK sa vykonáva tak, že najprv sa umožní väzba prípravku Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) na rez a táto väzba sa následne vizualizuje pomocou činidiel poskytnutých v detekčnom systéme. Použitie týchto produktov v spojitosti s automatizovaným systémom BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) znižuje možnosť ľudskej chyby a inhereentnej variability vyplývajúcej z individuálneho nariadenia činidiel, manuálneho pipetovania a aplikácie činidiel.

#### Dodané činidlá

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) je myšia anti-ľudská monoklonálna protilátka vyprodukovaná ako supernatant bunkových kultúr a dodávaná v tris pufovanom fyziologickom roztoku s transportným proteínom, obsahujúca 0,35 % prípravku ProClin™ 950 ako konzervačnej látky.

Celkový objem = 7 ml.

#### Klon

5A4

#### Imunogén

Prokaryotický rekombinantný proteín zodpovedajúci oblasti, ktorá zahŕňa katalytickú doménu tyrozínkinázy a časť C-konca transkriptu NPM-ALK (aminokyseliny 419-520).

#### Špecifita

Ľudský ALK proteín a C-koncový ALK fúzny proteín obsahujúci imunizovanú cieľovú sekvenciu.

#### Trieda Ig

IgG1

#### Celková koncentrácia proteínov

Cca 10 mg/ml.

#### Koncentrácia protilátok

Vyššia alebo rovná 2,6 mg/l podľa ELISA.

#### Riedenie a miešanie

Primárna protilátka Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) je optimálne zriedená na použitie v systéme BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III). Rekonštitúcia, miešanie, riedenie ani titrácia tohto činidla nie sú potrebné.

#### Požadovaný nedodaný materiál

Úplný zoznam materiálov potrebných na prípravu vzorky a imunochemické zafarbenie pomocou systému BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) si pozrite v časti „Používanie činidiel BOND“ v používateľskej dokumentácii k systému BOND.

#### Uskladnenie a stabilita

Skladujte pri teplote 2 – 8 °C. Nepoužívajte po uplynutí dátumu expirácie uvedeného na štítku zásobníka.

Známky signalizujúce kontamináciu alebo nestabilitu prípravku Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) sú: zakalenosť roztoku, vznik zápachu a prítomnosť zrazeniny.

Okamžite po použití vráťte do teploty 2 – 8 °C.

Iné než vyššie uvedené podmienky skladovania si vyžadujú validáciu používateľom<sup>1</sup>.

#### Bezpečnostné opatrenia

- Tento produkt je určený na diagnostické použitie *in vitro*.
- Koncentrácia produktu ProClin™ 950 je 0,35 %. Obsahuje aktívnu zložku 2-metyl-4-izotiazolín-3-ón a môže spôsobiť podráždenie kože, očí, slizníc a horných dýchacích ciest. Pri manipulácii s činidlami používajte jednorazové rukavice.
- Kartu bezpečnostný údajov materiálov vám poskytne miestny distribútor alebo regionálna pobočka spoločnosti Leica Biosystems, prípadne navštívte webovú lokalitu spoločnosti Leica Biosystems [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

- So vzorkami pred fixáciou a po nej a všetkými materiálmi, ktoré s nimi prišli do kontaktu, je nutné manipulovať ako s potenciálne infekčnými a zlikvidovať ich pri dodržaní zodpovedajúcich bezpečnostných opatrení<sup>2</sup>. Činidlá nikdy nepipetujte ústami a zabráňte kontaktu činidiel a vzoriek s kožou a sliznicami. Ak sa činidlá alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblasťami, umyte ich veľkým množstvom vody. Vyhladajte lekársku pomoc.
- Likvidáciu prípadných potenciálne toxických súčastí definujú federálne, štátne alebo miestne predpisy.
- Minimalizujte mikrobiálnu kontamináciu činidiel. V opačnom prípade môže dôjsť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia.
- Nedodržanie predpísaných dôb záchytu, inkubačných dôb alebo teplôt môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom.

## Návod na použitie

Primárna protilátka Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) bola vytvorená na použitie v automatizovanom systéme BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) v spojitosti so systémom BOND Polymer Refine Detection. Odporúčany protokol farbenia pre primárnu protilátku Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) je IHC Protocol F. Záchyt epitopov s tepelnou indukciou sa odporúča s použitím roztoku Bond Epitope Retrieval Solution 2 na 30 minút.

## Očakávané výsledky

### Normálne tkanivá

Klon 5A4 detegoval proteín Anaplastic Lymphoma Kinase v niektorých neuroendokrinných bunkách hypofýzy a tenkého čreva, alveolárnych makrofágoch v pľúcach a v časti stromálnych buniek prostaty. Všetky ostatné testované tkanivá boli negatívne. (Celkový počet normálnych vyšetrených prípadov = 130).<sub>..</sub>

### Nádorové tkanivá

Klon 5A4 zafarbil 5/27 anaplastických veľkobunkových lymfómov a 2/5 veľkobunkových karcinómov v pľúcach. V rôznych ďalších hodnotených abnormálnych tkanivách nebolo pozorované žiadne zafarbenie vrátane nádorov pľúc (0/68), nádorov prsníka (0/5), nádorov štítnej žľazy (0/5), nádorov hrubého čreva (0/4), nádorov pečene (0/4), metastatických nádorov (0/4), nádorov pažeráka (0/3), žalúdka (0/3) a hlavy a krku (0/3), nádorov vaječníkov (0/3), nádorov nadobličiek (0/2), nádorov močového mechúra (0/2), nádorov mozgu (0/2), nádorov tenkého čreva (0/2), rektálnych nádorov (0/2), nádorov obličiek (0/2), nádorov lymfatických uzlín (0/2), slinnej žľazy (0/2), semenníkov (0/2), krčka maternice (0/2) a endometria (0/2), osteosarkómu (0/1), adenokarcinómu pankreasu (0/1), adenokarcinómu prostaty (0/1), hyperplastické prostaty (0/1), skvamocelulárneho karcinómu kože (0/1) a melanómu (0/1). (Celkový počet abnormálnych vyšetrených tkanív = 162).

**Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) sa odporúča na pomoc pri hodnotení a expresii endogénneho ALK a fúzných proteínov ALK v normálnych a neoplastických tkanivách ako doplnok konvenčnej histopatológie za použitia neimunologických histochemických farbení.**

## Špecifické obmedzenia pre tento výrobok

Anaplastic Lymphoma Kinase (5A4) bol v spoločnosti Leica Biosystems optimalizovaný na použitie so systémom BOND Polymer Refine Detection a pomocnými činidlami BOND. Používatelia, ktorí sa odchyli od odporúčaných testovacích postupov, musia akceptovať zodpovednosť za interpretáciu výsledkov pacienta za týchto okolností. Časy podľa protokolu sa môžu líšiť z dôvodu odchýlok vo fixácii tkaniva a účinnosti zvyraznenia antigénu a musia sa zistiť empiricky. Pri optimalizácii podmienok záchytu a časov podľa protokolov je potrebné použiť negatívne kontroly činidlom.

## Riešenie problémov

Pri náprave môže byť nápomocná referencia 3.

Neobvyklé zafarbenie ohlásť miestnemu distribútorovi alebo regionálnej pobočke spoločnosti Leica Biosystems.

## Ďalšie informácie

Ďalšie informácie o imunofarbení s činidlami BOND nájdete v častiach Princíp postupu, Požadované materiály, Príprava vzorky, Kontrola kvality, Overenie testu, Interpretácia zafarbenia, Legenda k symbolom na označení a Všeobecné limitácie v používateľskej dokumentácii k systému BOND „Používanie činidiel BOND“.

## Literatúra

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 1163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Li XQ, Hisaoka M, Shi DR et al. Expression of anaplastic lymphoma kinase in soft tissue tumours: an immunohistochemical and molecular study of 249 cases. Human Pathology. 2004; 35:711-721
5. Savić S, Bode B, Diebold J et al. Detection of ALK-positive non-small-cell lung cancers on cytological specimens: high accuracy of immunocytochemistry with the 5A4 clone. Journal of Thoracic Oncology. 2013; 8(8):1004-11
6. Savić S, Diebold J, Zimmermann AK et al. Screening for ALK in non-small cell lung carcinomas: 5A4 and D5F3 antibodies perform equally well, but combined use with FISH is recommended. Lung Cancer. 2015; 89 (2):104-9
7. Williams AS, Greer W, Bethune D et al. ALK+ lung adenocarcinoma in never smokers and long-term ex-smokers: prevalence and detection by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridisation. Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2016; 469(5):533-540
8. Barreca A, Lasorsa E, Riera L et al. Anaplastic lymphoma kinase in human cancer. Journal of Molecular Endocrinology. 2011; 47(1):R11-R23
9. Zhao Z, Verma V. and Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. Cancer Biology and Therapy. 2015; 16(12):1691-701

## Dátum vydania

30 november 2018

Leica Biosystems Newcastle Ltd  
Balliol Business Park  
Benton Lane  
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW  
United Kingdom  
☎ +44 191 215 4242



Leica Biosystems Canada  
71 Four Valley Drive  
Concord, Ontario L4K 4V8  
Canada  
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Inc  
1700 Leider Lane  
Buffalo Grove IL 60089  
USA  
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Melbourne  
Pty Ltd  
495 Blackburn Road  
Mt Waverley VIC 3149  
Australia  
☎ +61 2 8870 3500