

6\$789::<=>

@B ?@

ABCDEFGHIJ

! !"#%&'()\* @B +,-./0123456 " 34%

CC EFKLM%NOP3QR3SQTUVW@  
 XY #Z[ABCDEF \$DEF %] 6%G& ^\_  
 @`aYbc \$@B %?@ DEF KEFVdef  
 ghijk #]LI DEF V 'G HG 'S\$(& m  
 nopqr #@B stuvwxyz K\$† %zq  
 {}~• @B ?@ DEF €)V•,f„...•  
 \$NE %#† )††%Š(€)V[CE NE h•Ž  
 \$%Me•R (N e• 'S'(& 3%\$'• \$•[“R  
 %“4• \$RND %-“vwxy—Š•|~  
 •TMŠ)@ @B ?@ DEF €) &  
 "œ•žŸ @B jç£K @B ?@ DEF  
 €)¶Š<V|Š & "© #²op«¬ DEF [  
 @B ç£-z#€)V®˚±²³ ²(& " #•  
 µ€)K†, ¶Š< #¹⁰ DEF €)[V  
 @B ç£»¹¼½V¾¿ & À! #RND ÁÂ—" V—~ÄÄ @B ?@ DEF VÄÆÇÈ O  
 @B @I- ÉÊËËÍÍ \$NEU %hÏÏÑ  
 uò )ÉÉgÓ EV \$WV/ %ÑuÒ \$7A@B  
 jÔžŸÑuÒ %RLÖÖ @B 789;;  
 <ÑuÒ \$RUF %#)VØjQÜU ')( & Ú  
 xÛžŸÄÆÛáÝßß #Z[!à)ááääää  
 (\$%½æçU #èèèè #i WV/ ížžŸí  
 aivÁð @B jÔ' #... ñòó@ ðõ &  
 RUF á(ö÷øù #èè²á÷ú #ûü½  
 ýp RUF LÖÖÿ !" RUF YW TM)  
 RUFZY #ñ # '² \$% VžŸ &'()\* ý  
 p & "ª + ½,- d ./ "œö÷ )0 ø~ 1 ä  
 V @B ?@ DEF V=> 23 #4 —~ \* ýp  
 RUF LÖÖÿ !" V345 & 6\$789;;  
 < \$UF %56 ö÷øù )éé÷úâ( 78 #ýp  
 (Ž> 9 ÁÆvf@ '“( &ª ;; qr6\$ \$<=  
 > \*? ÖÖ %UF žŸ @B # NEU žŸ...ñU @V

d A @ '6B%(& û \*B V ;:CD 6\$ @BVF á  
 (ÁÆR EF !" \* d A #&' ôõV"œ@ G\*  
 B #H ü\$% @B 6\$ UF Vâ(R EF !" & Å  
 !'©Áª %HIJK ñÑ ' @B 6\$ UF á(  
 REF V\$% '2H\$S( #L §Umn=> @B ?@  
 DEF V"œ@Rª M @& Ž N Ö # ' @B ?@  
 DEF V=> > ( #[' OF PQ XY34G RS  
 TQ 9:'O %œñ UVW Â 'XY VmnR34  
 <GH #ôj %[ Z V &[\ R'O©Á CD V  
 op 7 õ #] µ 4 j # " ^ V @B ?@ DEF  
 6\$ UF =>Vâ( \_ REF !" #)a7Lb  
 GHIJ & ãJ c á6\$ UF žŸ @B ç£V  
 á( \_ REF !" ,ù d C e ¬ #Lfg f6\$  
 UF => @B ?@ DEF V &'(hi #\$\$%Ü  
 &'( Vâ( `j Rôõ EF #kl §U=>V"  
 œ@R-¼ m @& => @B ?@V DEF 3 n ü  
 ,d op —Â'H—"VÄÄÑuÒ,ù 'q #r  
 ?@ #s gžŽmn @B ?@ DEF €) #(Ž.  
 ,vwxyŠ<V 4tuv &  
 d )=> @B ?@ DEF V 4 ú%N  
 wª~ DEF x F™) yx F 7 hVEF #  
 t ñ9:34ÄÄV Bz ,ù6\$ @B žŸ 'S( \*  
 á~ wª DEF VB { ž!ã ,| ,ù @B =  
 > 'S'(& á~ \* z g f RUF ÄÄžŸ @B  
 V &'( #,|} —6\$ UF ,ù @B V=> &  
 † )9:läV!• ~ 4  
 \$8ã • k "ÇÈ =6 ± € lä ){ ž9:lä  
 RCD •, lä & ,{| ž!ã f Ó %,, #L...†  
 † VF9: #‰oq†^ 9:34ÄÄRhik &  
 3&ã Š g "Î 2 - tf<Š g \$'%1/ O %#  
 =6 ± €œ läX •ž• 2 H\$% , ± gŠ g &  
 } —" tV >G[ @ " "•—Š g —\*Š g —  
 Ó# w~™ 9:V šnt†^ \*läV Š g z ^Ž  
 )H6: Žú & 6\$9: >œ RÇ • &  
 ' &t ž "\$\$%ž žŸ@L 'H2 !, Žú \*\$3%ž

# "\$%&)(0123456789:;<=>?@A  
 &'()\* +,-, #3\$%&'(012345 876 "  
 9:2)(\$)&

片应尽快进行 @AB 检测,未染色的切片置于室温不宜超过)周,以防抗原丢失。

### 三、@AB 常规 #UF 检测

应当在有条件的实验室进行,实验室经过严格的内部和外部质量控制程序验证,建立完善的标准操作程序(E' L),并与权威机构批准的检测试剂盒进行比对,以保证检测结果的可靠性。实验室技术人员具备相关资质及经过培训合格。

3&常规 #UF 方法:检测方法根据实验室条件可以选择手工染色或使用免疫组织化学机染色。

3&建议可采用的手工染色方法:(\$)抗原修复:目前手工 #UF 常用的抗原修复方法主要有高温高压修复和微波修复方法两种,使用的修复液以弱酸性和碱性修复液为主。专家组对国内外研究文献和国内常用修复方法进行讨论,建议使用煮沸热修复方法,具体可以采用如下方法之一对抗原进行修复: " %N/\$, ; 8\*A 柠檬酸缓冲液(TU)N%, 修复 \$%, /1; # 7! W@缓冲液(TU6N%) 修复 2, /1; \$ 7! W@缓冲液(TU4N%) 修复', /1, 修复维持时间和冷却方式各实验室可以根据各自成熟的方法酌情使用。(3)过氧化物酶灭活:建议使用' G U<sub>3</sub>"<sub>3</sub> 孵育 \$%, /1 以灭活内源性过氧化物酶。(')抗体:共有三种抗体被报道过用于 @AB #UF, 它们分别是 @AB\$( ! - S<sub>1</sub> 公司), ! 2M (FRB E\ 1-81\ 公司)和 2@ ( @K+, 公司)。研究结果显示,在 DEFAF 中! 2M 抗体和 2@ 抗体检测 @AB 融合蛋白的敏感性和特异性较高, @AB\$ 抗体的敏感性较低<sup>[1,4]</sup>。结合研究报告和专家组成员的使用经验,建议使用! 2M 抗体(F-J)' )' )和 2@ 抗体(F-J-K\$( \$3( )用于 @AB 的初筛,建议使用的抗体稀释度为: ! 2M 抗体, \$^( \$%H 32%) 稀释; 2@ 抗体, \$^( 2%H\$%) 稀释(具体的抗体稀释度,可以根据各批次抗体的预实验结果确定)。抗体孵育常温 \$:, 或者 > \_ 过夜。抗体孵育后使用 TU(N LQE 洗涤' 次,每次 2, /1 以确保充分洗涤,始终保持切片潮湿。小样本实验显示新抗体 \$@ ( " I/ZRIR F-J W@6\$36( ) 的检测特异性敏感性均高于其他抗体,但目前该抗体的研究文献还很少。( > )二抗和后续染色过程:建议根据各实验室常规使用的二抗的稀释比率和孵育时间进行操作。使用非生物素化试剂盒和高质量的二氨基联苯胺(! @Q)显色液染色。

' N 使用免疫组织化学机染色:除了 ORIJ-1-@AB 检测试剂盒和免疫组织化学染色设备外,其他类型的免疫组织化学机染设备基本上都有配套的染

色和洗脱试剂,使用这些设备进行 @AB #UF 染色,一抗可以参考手工 #UF 一抗相关事宜,其余操作建议严格按照所用染色仪器的优化程序和 E' L 执行。

>&对照:无论采用何种 #UF 方法和抗体进行染色,建议每批次检测设立阳性对照、阴性对照和空白对照。有条件的最好采用一对一的阳性对照。阳性对照可采用已被证实 #UF 检测 @AB 阳性,且 #UF ' ` 的 DEFAF 组织;阴性对照,被检测切片上癌旁组织中正常的肺组织是很好的阴性内对照;以 LQE 代替一抗,作为空白对照。

2&结果判读和评分:(\$)观察程序:先在低倍镜下观察整张切片,判断染色是否满意。然后在较高倍数下观察着色部位。观察胞质着色癌细胞的比例和着色强度。研究表明,在大多数 @AB 阳性病例中,阳性信号都是均匀分布,在整个肿瘤中有着一致的强度。在少数病例中,信号在染色强度上存在较大的异质性<sup>[5]</sup>。(3)结果判读标准:目前,关于 @AB 染色结果的判读,多数研究采用 %到' ` 的评分系统,但具体的判读细则还未统一。综合国内外的研究结果和专家组的经验,考虑到本共识主要用于 @AB 的初筛,专家组建议采用已有文献研究结果、且在国内多家机构使用、检测结果确诊比较高的判读标准<sup>[25]</sup>,具体如下:#UF ' ` : a 2G 的肿瘤细胞呈现细胞质强着色(图 \$); #UF 3` : a 2G 的肿瘤细胞呈现中度细胞质着色(图 3); #UF \$` : a 2G 的肿瘤细胞呈现微弱或模糊的细胞质着色或 ≤ 2G 的肿瘤细胞有任何程度的着色(图'); #UF % 肿瘤细胞无明显着色。(')注意事项:#UF 判读和评分时需要注意,在正常黏膜上皮、肺泡巨噬细胞、肿瘤坏死组织、分泌黏液、淋巴细胞和神经组织中也会观察到一些强的背景染色,这种染色在 @AB 判读时应当排除。

### 四、@AB 阳性 DEFAF 的初筛和确诊流程

对于不能开展 FM @批准的 @AB 阳性 DEFAF 检测的实验室,应选用常规 #UF 法筛查 @AB 融合蛋白水平,具体的筛查和确诊流程见图 >。需要特别注意以下几点:

3&对于无条件行 ORIJ-1- #UF 检测的医疗机构或中心,常规 @AB #UF 可作为初筛方法。

3&所有含腺癌成分的 DEFAF,应在诊断时常规进行 @AB 融合蛋白免疫组织化学检测。

' &@AB 抗体使用推荐:常规 #UF 建议使用 ! 2M 抗体和 2@ 抗体。

>&常规 #UF 染色结果' ` , 3` , \$` 的样本,均

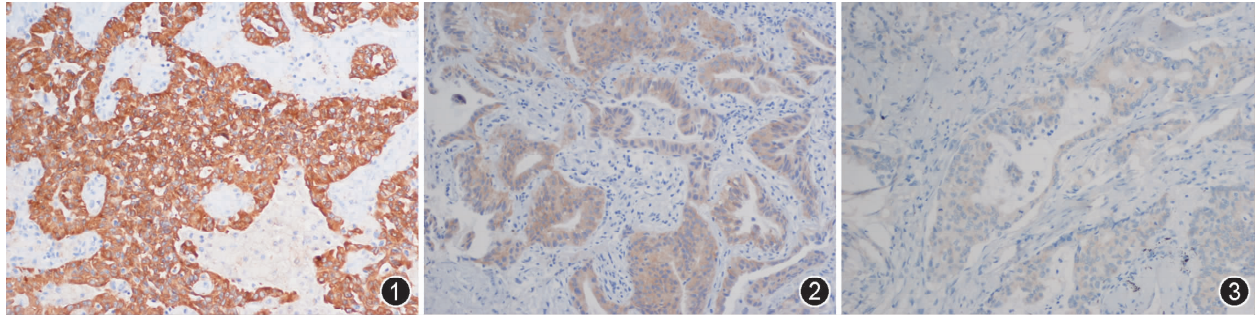


图 1~3 ALK 染色结果判读, 常规 IHC 染色结果判读, 图 1 IHC 3+, 肿瘤细胞呈现成簇的细胞质强着色; 图 2 IHC 2+, 肿瘤细胞呈现成簇的细胞质中度着色, 图 3 IHC 1+, 肿瘤细胞呈现微弱细胞质着色

需要使用 FDA 批准的 Ventana、Roche 或 Vysis IHC 技术三种方法中的一种进行确诊。

五、ALK 常规 IHC 检测报告包含的内容信息: 见表 1。

六、筛查的质控

ALK 常规 IHC 筛查应在内、外部质量控制良好和有能力的病理实验室进行, 以确保筛查结果的稳定性。

ALK 常规 IHC 必须在标本的采集、处理过程、IHC 检测和评判标准诸方面严格按照 FDA 要求执行。以保证结果可靠。

不具备 ALK 检测条件的单位应妥善处理 and 准备标本, 提供给有质量保证的病理实验室进行检测。

实验室内部质控、室间质评和实验室标准操作流程的主要要求: (1) 拟开展筛查的实验室应选

表 1 ALK 免疫组织化学检测报告应包括的内容

临床信息: 姓名、性别、年龄、门诊/住院号
送检医师和联系方式
检测日期
标本信息: 病理号/蜡块号
标本类型: 手术切除或活检
组织学类型/分级、临床分期/WHO
检测信息:
抗体信息 (克隆号/生产商)
判读结果: IHC 3+、2+、1+、0
如果 ALK 初筛阳性 (IHC 3+、2+、1+), 应建议进一步确诊 ALK 融合基因状态
检测人员: 技术员/病理医师

注: 本报告主要针对 ALK 检测信息, 其他信息如样本固定方法和时间, 肿瘤部位, 染色是否有异质性等内容, 各检测实验室可以根据各自情况决定是否包含在报告中

择 3 家已开展且有质量保证的实验室进行 32 例标本的比对验证 (应至少包含 2 例 ALK 阳性标本), 阳性和阴性结果的一致性应达到 40% 以上。(3) 实验室应积极参加有关外部质量控制活动, 外部质控每年应进行 3 次。(4) 实验室应建立完善的 FDA 文件, 并做好每次检测情况的记录和存档工作。(5) 任何改变操作程序和试剂的行为均应重新进行严格的验证。(6) 内部质控应包括同一组织不同批次染色结果的重复性分析。每次染色应设置阳性和阴性对照。(7) 定期总结和分析 ALK 阳性率等数据情况, 及时发现可能的质量问题。(8) 检测相关的仪器和设备需定期维护、校验<sup>[56]</sup>。关于 IHC 质控问题, 目前尚存在较大问题, 没有质控全程的质控品及措施, 尽快建立对每一次 ALK IHC 检测过程的检测质量监

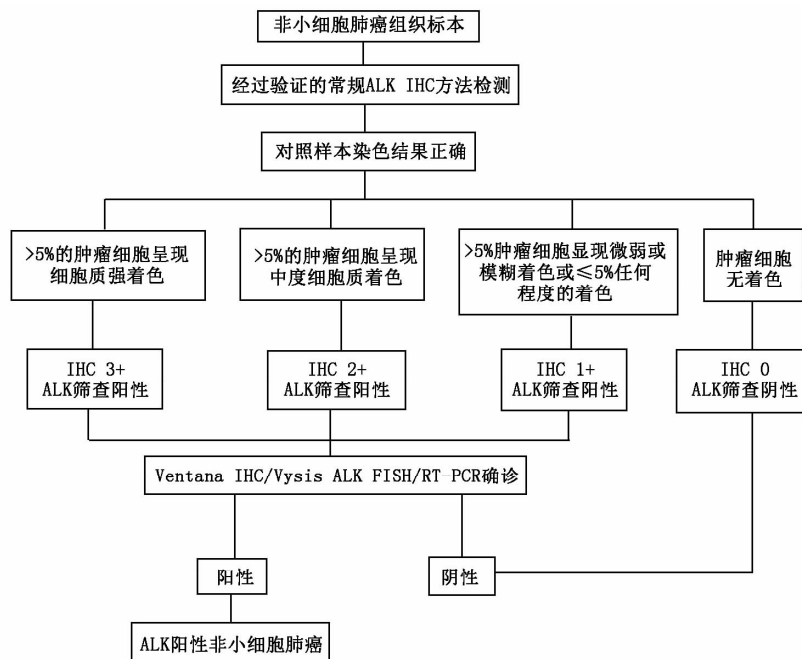


图 4C 中国 ALK 阳性 NSCLC 患者的初筛和确诊流程图

测,以实现 @AB #JF 检测的全程质控,包括质控品制作、切实可行的质控流程建立等。

对于初次开展 @AB 检测的实验室,建议在当地大医院借用阳性片、阴性片做对照,参照共识中的 E' L,结合自己的实验条件摸索自己的最适时间、浓度等等条件建立自己的 E' L,进行常规开展。

七、小结

本共识在国内外大量研究结果的基础上,结合我国临床检测的实际情况,提出了合理的 @AB 常规 #JF 初筛的规范化操作和判读流程。希望各检测实验室能根据各自实际情况,合理开展 @AB 阳性 DEFAF 患者的筛查。对于初筛阳性的患者,应迅速、及时地开展 MEU 或 VWLFV 或 ORIJ-1- #JF 检测确诊,并力争优化确诊流程,缩短确诊时间。

本专家共识将根据实际情况,定期更新,期望能为未来进一步优化 @AB 筛查提供指导。

免责声明:本共识只代表编写专家组的观点,仅供参考使用,不对因使用本共识而引起的直接或间接损失负任何责任。

专家组成员(按姓氏汉语拼音字母排序):步宏(四川大学华西医院),曹文枫(天津医科大学附属肿瘤医院),陈刚(福建省肿瘤医院),陈晓岩(福建省省立医院),笪冀平(中日友好医院),邓永键(南方医科大学南方医院),邓云特(湖北省肿瘤医院),丁伟(浙江大学医学院附属第一医院),顾霞(广州医科大学附属第一医院),何向蕾(浙江省人民医院),金梅(浙江大学医学院附属邵逸夫医院),柯昌庶(华中科技大学同济医学院附属同济医院),孔令非(河南省人民医院),来茂德(中国药科大学),李代强(中南大学湘雅二医院),李桂梅(解放军第八一医院),李挺(北京大学第一医院),李向红(北京大学肿瘤医院),刘月平(河北医科大学第四医院),梅金红(南昌大学附属第一医院),孟刚(安徽医科大学附属第一医院),孟凡青(南京大学医学院附属鼓楼医院),齐晓薇(无锡市第四人民医院),石怀银(解放军总医院),孙青(山东省千佛山医院),孙文勇(浙江省肿瘤医院),王哲(第四军医大学附属西京医院),王晋芬(山西省肿瘤医院),王则胜(武汉大学人民医院),王征(北京医院),武春燕(同济大学附属上海市肺科医院),郗彦凤(山西省肿瘤医院),肖华亮(第三军医大学大坪医院),徐如君(杭州市第一人民医院),阎晓初(第三军医大学西南医院),杨桂芳(武汉大学中南医院),殷于磊(复旦大学附属华东医院),余英豪(南京军区福州总医院),云径平(中山大学附属肿瘤医院),张博(军事医学科学院附属 % 医院),张波(北京大学第三医院),张冠军(西安交通大学附属第一医院),张海萍(厦门大学附属第一医院),张祥宏(河北医科大学第二医院),张智弘(江苏省人民医院),郑雄伟(福建省肿瘤医院),周建华(中南大学湘雅医院),周晓军(南京军区南京总医院),朱翔(北京大学第三医院)

备注:几个相关定义。

\$&ORIJ-1- #JF:通过 FM @注册的 ORIJ-1- @AB 免疫组织试剂盒和 ORIJ-1- 全自动染色仪配套进行的 @AB 检测;

3&常规 #JF:除上述 ORIJ-1- #JF 以外的手工或在染色仪上进行的 @AB 检测;

' &初筛 @AB 阳性 DEFAF 患者(也称疑似 @AB 阳性):指经常规

#JF 检测为 @AB 阳性的 DEFAF 患者。这些患者接受克唑替尼治疗前需进一步使用经目前国家批准的诊断试剂盒进行验证;

>N 临床 @AB 阳性 DEFAF 患者:经国家批准的诊断试剂盒检测为 @AB 阳性的患者,可接受克唑替尼治疗。

参考文献

[1] E-+SRB Ic V7, O;I- X, X-P-8B, RJ-8 @ABIRII-1\ R RIJ -1c JQJ1\ , RI ;c0/1 1;15Q -8 +R8 &1\ +1+R; - IR/Re [[ ]& ZRIRF-1+R, 3%\$,2(\$5);\$55&
[3] L-1 f, g;-1\ f, A f, RJ-8 @AB, V" E\$ -1c V7Wb0;10/1 \$\$ 4 &1\ -cRI;+I+1; , -0: - +; TIR RI0dR QkcP ;b +; , ;1 -1c b0;1 T-JR15JTR+/+ +81/+;T-J;8\+; :/QJ 8\+ -1c +R J 8\+ +IR-JIR0 [[ ]&<1\ F-1+R, 3%\$,6>(3);\$3\$53) &
[' ] E-e @V B/ , ! h, D-S\ -e- B, RJ -8 FI/9 J1/K dR0-0 +R ;J R-TP/1 -cd-1+Rc @AB5;0JdR&1\ +1+R [[ ]&D 71\ 8[ X R, 3%\$, ' )6(32) ;3' 625' 4>&
[>] E 8, ;1 Q, X;S W B/ , ! h, RJ -8MI05B1R+H/9 J1/K dR0-0 +R ;J R-TP/1 @AB5;0JdR &1\ +1+R [[ ]&D 71\ 8[ X R, 3%\$, '( \$ (3' ) :3\$) (\$5) ( &
[2] Q8+S-8 MJ, LRRIO E, QKRIc;Ib A, RJ -8 LIR+8R-1c +81/+8; <J; , R0 bI T-JR1J e/J @AB5;0JdRIR+Rc QJ\ R#J ##-cRI;+I+1; , - : IR0&D b; , J R7<;TR 1 W;I-+/" 1+8\ P L&JbI, A<1\ 0+TR LI; .R+J [[ ]&[ F81 " 1+; 8, 3%\$, ' 3(32) : 3(6)6(6) &
[ ] f /1 [ , Z< A, i /< W RJ -8! /-1; Q/+ d-8R ;b- 1; dR b&P -<; -Jc /, ; <1; +R /QJ P -0P bI cRR+J; 1 ; b @AB IRII-1\ R RIJ/1 TI, -IP &1\ -cRI;+I+1; , - [[ ]& @1 " 1+; 8, 3%\$, 3>(\$%) ;3264524' &
([ ) X/1;BRICQ 1 X, F:/R+ AV, A-e B, RJ -8 @ ; dR : \: P ORIOJR-1JK cP-8 e0 bI J RI; <J1R cRR+J; 1 ; b @ABIRII-1\ R &1\ -cRI;+I+1; , -0 KP QJ1c-lc /, ; <1; : /QJ +R /QJ P [[ ]&F81 F-1+R VR, 3%\$%) (2) ;\$2) \$52) \$&
[6] g; < [ , g-; [ , E<1 B, RJ -8 @+<-J-R-1c R; 1; , /+8 cRR+J; 1 ; b @AB T;0JdR &1\ -cRI;+I+1; , - e/J Q R /j <1JJJdR /, ; <1; : /QJ +R /+80HRR/1\ [[ ]&LA; E " 1R, 3%\$, 4(') :R3636&
[4] U-1 YU, g-1\ DD, X- A, RJ -8 # , <1; : /QJ +R /QJ PIR- K&P cRR+J @AB IRII-1\ R RIJ/1 T-JR1J e/J -cd-1+Rc ;1;15Q -8 +R8 &1\ +1+R; +; IIRB; 1 e/J b; IR0+R+R/1 0Jc : R1/c/9J; 1 [[ ]& [ W; I-+ " 1+; 8, 3%\$, ) (' ) :> ) :26' 524&
[%] L-/S [U, F; ;RZ, B/ , U, RJ -8 E+HRR/1\ ; b-1-T8 Q/+ P; T; ; , - S/1-ORIRII-1\ R RIJ KP /, ; <1; : /QJ +R /QJ P /1 1;15Q -8 +R8 &1\ +1+R; +; IIRB; 1 e/J b; IR0+R+R/1 0Jc : R1/c/9J; 1 [[ ]& [ W; I-+ " 1+; 8, 3%\$, ) (' ) :> ) :5-(3&
[\$\$] F<D [F, FI-cc; +S B [ , W18 S; d+ 7, RJ -8 F-1-c/-1 -1-T8 Q/+ P; T; ; , - S/1-OR QkcP: - ; ; cR8 bI , <8/RIJR QJ1c-lc/9J; 1 -1c ;TJ, /9J; 1 ; b @AB JQJ1\ /1 &1\ +1+R [[ ]& [ W; I-+ " 1+; 8, 3%\$, 4(4) ;\$32253) ' &
[3] 国家卫生和计划生育委员会&原发性肺癌诊疗规范(3%2 年版) [[ ]&中华肿瘤杂志, 3%2, '( (\$) ;\$53&
[' ] DFFD&D; 1E -8FRBA<1\ F-1+R&OR0; 1 >&3%2, ' \$&
[>] 杜祥,周晓燕,吕宁,等&免疫组织化学染色在诊断间变性淋巴瘤激酶阳性非小细胞肺癌中的应用 [[ ]&中华病理学杂志, 3%\$, >3(\$3) :6265) %&
[2] 王旭洲,陈炜生,余英豪&非小细胞肺癌患者 7XA-5@AB 融合基因突变研究 [[ ]&中国肺癌杂志, 3%2, \$6(3) :6%6>&
[5] 张绪超,陆舜,张力,等&中国间变性淋巴瘤激酶(@AB) 阳性非小细胞肺癌诊断专家共识(3%6 版) [[ ]&中华病理学杂志, 3%6, >3( ) :>85-% &
[ \$ ] W <1\ ORI 7, Q<KRIC; Ib A, ! /R8 X, RJ -8 7XA-5@AB JQJ1\ /1 1;15Q -8 +R8 +I+1; , -0 ; b J R &1; - IR/Re e/J IR; , , RIc-J; 10 [[ ]&O/+; e0 @+; , 3%\$, >) \$ (' ) :>252( &
[6] 《胃癌 U7V3 检测指南》编写组&胃癌 U7V3 检测指南 [[ ]&中华病理学杂志, 3%\$, >%(6) :22' 52( &

(收稿日期:3%25%536) (本文编辑:常秀青)