

AmoyDx® ROS1 Gene Fusions Detection Kit

Instruction for Use



REF 8.01.23201X012H

For Stratagene Mx3000P™, ABI7500, LightCycler480 II,
Bio-Rad CFX 96, Rotor-Gene Q/6000 (72 wells), SLAN-96S



Background

ROS1 is a receptor tyrosine kinase of insulin receptor family. ROS1 gene fusions define a unique molecular subset of non-small-cell lung cancer (NSCLC). The ROS1 fusion partners include SLC34A2, CD74, SDC4, EZR etc. These fusions lead to constitutive kinase activity and activation of downstream pathways, such as JAK/STAT, PI3K/AKT, RAS/MAPK etc., leading to carcinogenesis. It has been reported that the presence of the ROS1 rearrangement is correlated with the efficacy of TKI therapy.

Based on analysis of tumor messenger RNA, ROS1 gene fusions can be detected by real-time PCR method.

Intended Use

The AmoyDx® ROS1 Gene Fusions Detection Kit is an *in vitro* nucleic acid amplification test intended for qualitative detection of 14 ROS1 gene fusions in human formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tumor tissue RNA. The kit is intended to be used to assess ROS1 gene status in NSCLC patients and to aid the clinician in identifying NSCLC patients who may respond to ROS1 inhibitor therapy, such as Xalkori® (crizotinib).

The kit is to be used by physicians, clinical researchers and trained professionals in a laboratory environment.

Kit Contents

This kit contains the following materials:

- 3) The ROS1 Positive Control contains recombinant gene with ROS1 gene fusions.
- 4) The ROS1 Enzyme Mix contains the Taq DNA polymerase for PCR amplification and uracil-N-glycosylase which works at room temperature to prevent PCR amplicon carryover contamination.

Storage and Stability

The kit requires shipment on frozen ice packs. All contents of the kit should be stored immediately upon receipt at -20±5°C and protected from light.

The shelf-life of the kit is twelve months. The recommend maximum freeze-thaw cycle is five cycles.

Materials Required but Not Supplied

- 1) Compatible PCR instruments:
Stratagene Mx3000P™, ABI7500, LightCycler480 II, Bio-Rad CFX96, Rotor-Gene Q/6000 (72 wells), or SLAN-96S.
- 2) RNA extraction kit: we recommend use of AmoyDx RNA extraction kit (AmoyDx® FFPE RNA Kit, Cat No.: 8.02.24101X036G, for paraffin embedded specimens).
- 3) Spectrophotometer for measuring RNA concentration.
- 4) Mini centrifuge with rotor for centrifuge tubes.
- 5) Mini centrifuge with rotor for PCR tubes.
- 6) Nuclease-free centrifuge tubes.

Table 1 Kit Contents

Tube No.	Content	Main Ingredients	Quantity	Fluorescent signal
①	ROS1 Reaction Mix ①	Primers, Probes, Mg ²⁺ , dNTPs,	550 µL/tube ×1	FAM
②	ROS1 Reaction Mix ②	Primers, Probes, Mg ²⁺ , dNTPs,	550 µL/tube ×1	FAM
③	ROS1 Reaction Mix ③	Primers, Probes, Mg ²⁺ , dNTPs,	550 µL/tube ×1	FAM
④	ROS1 Reaction Mix ④	Primers, Probes, Mg ²⁺ , dNTPs,	550 µL/tube ×1	FAM, HEX/VIC
⑤	ROS1 RT Reaction Mix	Primers, Mg ²⁺ , dNTPs	300 µL/tube ×1	/
⑥	ROS1 Reverse Transcriptase	Reverse Transcriptase	10 µL/tube ×1	/
⑦	ROS1 Enzyme Mix	Taq DNA Polymerase, Uracil-N-Glycosylase	30 µL/tube ×1	/
/	ROS1 Positive Control	Plasmid DNA	150 µL/tube ×1	/

Principles of the Procedure

The kit is based on two major processes: 1) **Reverse Transcription**: extracted RNA from FFPE tumor tissue is employed in this step, reverse transcription of target RNA enables complementary DNA (cDNA) synthesis with the action of reverse transcriptase and specific primers. 2) **PCR Amplification**: the specific primers are designed for amplification of ROS1 variant cDNA, and mutant amplicon is detected by fluorescent probes labeled with FAM, while reference gene amplicon is detected by fluorescent probe labeled with HEX.

The kit is composed of ROS1 RT Reaction Mix, ROS1 Reaction Mix, sufficient positive control and enzyme mix.

- 1) The ROS1 RT Reaction Mix contains primers specific for reverse transcription of both ROS1 RNA and reference gene RNA into complementary DNA (cDNA).
- 2) The ROS1 Reaction Mixes ①~④ contains primers and FAM-labeled probes specific for ROS1 gene fusions. The ROS1 Reaction Mix ④ contains primers and HEX-labeled probe for detection of reference gene to reveal the presence of PCR inhibitors or RNA integrity that may lead to false negative results.

- 7) Nuclease-free PCR tubes and caps.
- 8) Adjustable pipettors and filtered pipette tips for handling RNA.
- 9) Tube racks.
- 10) Disposable powder-free gloves.
- 11) Sterile, nuclease-free water.

Precautions and Handling Requirements

For *in vitro* diagnostic use.

Precautions

- Please read the instruction carefully and become familiar with all components of the kit prior to use, and strictly follow the instruction during operation.
- Please check the compatible real-time PCR instruments prior to use.
- DO NOT use the kit or any kit component after their expiry date.
- DO NOT use any other reagents from different lots in the tests.
- DO NOT use any other reagent in the other test kits.

Safety Information

- Handle all specimens and components of the kit as potentially infectious material using safe laboratory procedures.
- Only trained professionals can use this kit. Please wear suitable lab coat and disposable gloves while handling the reagents.
- Avoid skin, eyes and mucous membranes contact with the chemicals. In case of contact, flush with water immediately.
- DO NOT pipet by mouth.

Decontamination and Disposal

- The kit contains positive control; strictly distinguish the positive control from other reagents to avoid contamination which may cause false positive.
- PCR amplification is extremely sensitive to cross-contamination. The flow of tubes, racks, pipets and other materials used should be from pre-amplification to post-amplification, and never backwards.
- Gloves should be worn and changed frequently when handling samples and reagents to prevent contamination.
- Using separate, dedicated pipettes and filtered pipette tips when handling samples and reagents to prevent exogenous nucleic acid contamination to the reagents.
- Please pack the post-amplification tubes with two disposable gloves and discard properly. DO NOT open the post-amplification PCR tubes.
- All disposable materials are for one time use. DO NOT reuse.
- The unused reagents, used kit, and waste must be disposed of properly.

Cleaning

- After the experiment, wipe down the work area, spray down the pipettes and equipment with 75% ethanol or 10% hypochlorous acid solution.

Instrument Setup

- Setup the reaction volume as 40 μL .
- For Stratagene Mx3000P™, if there's low net fluorescence signal (dR) but high background signals (R), please reduce the signal gain setting of instrument properly.
- For ABI instrument, please set up as follows: Reporter Dye: FAM, VIC; Quencher Dye: TAMRA; Passive Reference: NONE.
- For LightCycler480 II, if there is fluorescence crossover on instrument, fluorescence calibration is also required. To run the assays on a LightCycler machine, please use the Roche 480 adaptor, available from BIOplastics, Cat No. B79480.
- For SLAN-96S, please set up as follows: Probe mode: FAM, VIC. During the result analysis, open the "Preference" window, in "Chart Options" section; select "Selected Wells" for "Y-Axis Scaling Auto-adjust By" and "Absolute Fluorescence Value Normalization" for "Amplification Curve".
- Refer to the real-time PCR instrument operator's manual for detailed instructions.
- We recommend that all PCR instruments in use should be conducted fluorescence calibration once a year.

Assay Procedure

1. RNA Extraction

The specimen material must be extracted RNA from NSCLC FFPE tissue samples. RNA extraction kit is not included in the kit. Before RNA extraction, it's essential to use standard pathology methodology to ensure tumor sample quality. Carry out the RNA extraction according to the instructions of RNA extraction kit.

The OD value of extracted RNA should be measured using the spectrophotometer after extraction. The OD₂₆₀/OD₂₈₀ value should be between 1.9~2.1 and total RNA concentration should be between 50~800 ng/ μL .

Note:

- The FFPE tissue should be handled and stored properly, and the storage time should preferably be less than 2 years.
- The extracted RNA should be used immediately, if not, it should be stored at $-20\pm 5^\circ\text{C}$ for no more than one week.

2. Reverse Transcription

- 1) Take ROS1 RT Reaction Mix and ROS1 Reverse Transcriptase as need out of the kit from the freezer, and other reagents remained in freezer at $-20\pm 5^\circ\text{C}$.
- 2) Thaw ROS1 RT Reaction Mix at room temperature. When the reagents completely thawed, invert each tube for 10 times and briefly centrifuge to collect all liquid at the bottom of the tube.
- 3) Briefly centrifuge ROS1 Reverse Transcriptase prior to use.
- 4) Prepare a sterile nuclease-free PCR tube for each sample: pipet 18.5 μL ROS1 RT Reaction Mix, 0.5 μL ROS1 Reverse Transcriptase and 6 μL sample RNA to the tube. Thoroughly mix the reagents by gently pipetting up and down more than 10 times, and then centrifuge briefly.
- 5) Incubate the tubes at 42°C for one hour.
- 6) Heat the tubes at 95°C for 5 minutes, then transfer them to ice. The resulting sample cDNA are used for subsequent PCR amplification.

Note: sample cDNA should be used immediately, if not, it should be stored at $-20\pm 5^\circ\text{C}$ for no more than one week after reverse transcription.

3. PCR amplification

- 1) Take ROS1 Reaction Mixes ①-④, ROS1 Positive Control and ROS1 Enzyme Mix out of the kit from the freezer.
- 2) Thaw ROS1 Reaction Mixes ①-④ and ROS1 Positive Control at room temperature. When the reagents completely thawed, invert the tube for 10 times and briefly centrifuge to collect all liquid at the bottom of the tube.
- 3) Briefly centrifuge ROS1 Enzyme Mix prior to use.
- 4) Prepare sufficient ROS1 Master Mix 1-4 containing ROS1 Enzyme Mix and each ROS1 Reaction Mix (ROS1 Reaction Mix ①-④, respectively) in separate sterile centrifuge tube according to the ratio in Table 2. Thoroughly mix each ROS1 Master Mix by gently pipetting up and down more than 10 times.

Table 2 ROS1 Master Mix

Content	Volume per test
ROS1 Enzyme Mix	0.3 μL
Each ROS1 Reaction Mix	35 μL
Total	35.3 μL

Note:

- Every PCR run must contain one PC (Positive control) and one NTC (No template control).
 - Do not vortex enzyme mix or any mixture with enzyme mix.
 - The prepared mixtures should be used immediately, avoid prolonged storage.
 - Due to the viscosity of the enzyme mix, pipet slowly to ensure all mix is completely dispensed from the tip.
 - Pipet enzyme mix by placing the pipet tip just under the liquid surface to avoid the tip being coated in excess enzyme.
- 5) Take out the sample cDNA and nuclease-free water for NTC (No template control).
 - 6) Prepare 4 PCR tubes for NTC: Dispense 35.3 μL of ROS1 Master Mix 1-4 to each PCR tube respectively. Then add 5 μL of nuclease-free water to each PCR tube, and cap the PCR tubes.
 - 7) Prepare 4 PCR tubes for each sample: Dispense 35.3 μL of ROS1 Master Mix 1-4 to each PCR tube respectively. Then add 5 μL of sample cDNA to each PCR tube, and cap the PCR tubes.
 - 8) Prepare 4 PCR tubes for PC: Dispense 35.3 μL of ROS1 Master Mix 1-4 to each PCR tube respectively. Then add 5 μL of ROS1 Positive Control to each PCR tube, and cap the PCR tubes.
 - 9) Briefly centrifuge the PCR tubes to collect all liquid at the bottom of each PCR tube.
 - 10) Place the PCR tubes into the appropriate positions of the real-time PCR instrument. A recommended plate layout is shown in Table 3.

Table 3 Recommended Plate Layout

Tube No.	Signal	1	2	3	4	5	6	7
①	FAM	Sample 1	Sample 3	Sample 5	Sample 7	Sample 9	Sample 11	NTC
②	FAM	Sample 1	Sample 3	Sample 5	Sample 7	Sample 9	Sample 11	NTC
③	FAM	Sample 1	Sample 3	Sample 5	Sample 7	Sample 9	Sample 11	NTC
④	FAM & HEX/VIC	Sample 1	Sample 3	Sample 5	Sample 7	Sample 9	Sample 11	NTC
⑤	FAM	Sample 2	Sample 4	Sample 6	Sample 8	Sample 10	Sample 12	PC
⑥	FAM	Sample 2	Sample 4	Sample 6	Sample 8	Sample 10	Sample 12	PC
⑦	FAM	Sample 2	Sample 4	Sample 6	Sample 8	Sample 10	Sample 12	PC
⑧	FAM & HEX/VIC	Sample 2	Sample 4	Sample 6	Sample 8	Sample 10	Sample 12	PC

- 11) Setup the PCR protocol using the cycling parameters in Table 4.

Table 4 Cycling Parameters

Stage	Cycles	Temperature	Time	Data collection
1	1	95°C	5min	/
		95°C	25s	/
2	15	64°C	20s	/
		72°C	20s	/
		93°C	25s	/
3	31	60°C	35s	FAM and HEX/VIC
		72°C	20s	/

- 12) Start the PCR run immediately.

- 13) When the PCR run finished, analyze the data according to the "Results Interpretation" procedures.

4. Result Interpretation

Before the data analysis, the following items should be checked:

- For NTC: The FAM Ct values of Reaction Mixes ①~④ and HEX/VIC Ct values of Reaction Mix ④ should be ≥ 31 . If not, the data is *INVALID*. The sample should be retested.
- For Positive Control: The FAM Ct values of Reaction Mixes ①~④ and HEX/VIC Ct values of Reaction Mix ④ should be < 24 . If not, the data is *INVALID*. The sample should be retested.
- For the reference gene assay (HEX/VIC signal) in Reaction Mix ④ for each sample:
 - The HEX/VIC Ct value should be ≤ 20 .
 - If the HEX/VIC Ct value > 20 , this indicates RNA degradation or presence of PCR inhibitors. The sample should be retested with increased or re-extracted RNA, as there may be false negative results.

Analyze the fusion assay for each sample:

- Record the FAM Ct value of Reaction Mixes ①~④ for each sample:
 - If the FAM Ct value of Reaction Mix ①~④ ≥ 30 , the sample is determined as Negative (No *ROS1* fusion detected) or under the LOD (limit of Detection) of the kit.
 - If any FAM Ct value of Reaction Mix ①~④ < 30 , the sample is determined as Positive (*ROS1* fusion detected).
- The sample may contain two or more fusion patterns simultaneously.

Performance Characteristics

The performance characteristics of this kit were validated on Stratagene Mx3000P™, ABI7500, LightCycler480 II, Bio-Rad CFX96, Rotor-Gene Q/6000 (72 wells), and SLAN-96S.

- 1) Limit of detection:

The limit of detection was established by testing plasmid DNA with 14 *ROS1* fusions. The results show the limit of detection for each *ROS1* fusion was 25 copies/ μ L.

- 2) Specificity:

Specificity of the kit was established by testing 8 *ROS1* negative reference controls which were prepared with wild-type DNA (4 controls) or with wild-type RNA (another 4 controls), the tests gave negative results and with 100% concordance rate.

- 3) Accuracy:

Accuracy of the kit was established by testing 14 *ROS1* gene fusion positive reference controls which were prepared with plasmid DNA with *ROS1* fusions, the test gave corresponding positive results and with 100% concordance rate.

- 4) Interference factor:

Two common interference substances were selected in this study: Oxyhemoglobin and Triglyceride. It is confirmed that the potential maximum concentrations: 4g/L Oxyhemoglobin and 74 mmol/L Triglyceride would not interfere with the test result.

- 5) Precision:

Precision of the kit was established by testing of the precision reference control for 10 repeats; the test gave positive results with the FAM and HEX Ct value < 24 and Ct's CV (%) $\leq 10\%$.

Limitations

- The kit is to be used only by personnel specially trained with PCR techniques.
- The results can be used to assist clinical diagnosis, combining with other clinical and laboratory findings.
- The kit has been validated for use with extracted RNA from NSCLC patient FFPE tissue.
- The kit can only detect 14 *ROS1* gene fusions listed in the appendix.
- Reliable results are dependent on proper sample processing, transport, and storage.
- The sample containing degraded RNA may affect the ability of the test to detect *ROS1* fusions.
- Samples with negative result (No *ROS1* Fusion Detected) may harbor *ROS1* fusions not detected by this assay.

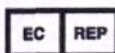
References

- Bergeth K *et al.* *J Clin Oncol.* 2012;46:863-70.
- Tan J *et al.* *Expert Rev Anticancer Ther.* 2012;12:447-56.
- Janne P Q *et al.* *Clin Oncol.* 2012;30:878-79.

Contact Information



Amoy Diagnostics Co., Ltd.
39 Dingshan Road, Haicang District,
Xiamen 361027, P. R. China
Tel: +86 592 6806835
Fax: +86 592 6806839
E-mail: sales@amoydx.com
Website: http://www.amoydx.com



Wellkang Ltd
Suite B, 29 Harley Street,
London W1G 9QR United Kingdom

Symbols



Authorized Representative in the European Community



Manufacturer



Batch Code



Contains Sufficient for <n> Tests



Consult Instructions For Use



This Way Up



In Vitro Diagnostic Medical Device



Catalogue Number



Use By



Temperature Limitation



Keep Dry



Fragile, Handle With Care

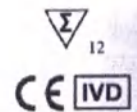
Appendix

ROS1 Gene Fusions Detected by the Kit

Reagent	Spliced Gene & Exon			ROS1 Spliced Exon
ROS1 Reaction Mix ①	SLC34A2 exon4	SLC34A2 exon13del2046	CD74 exon6	32
	SDC4 exon2	SDC4 exon4		
ROS1 Reaction Mix ②	SLC34A2 exon4	SLC34A2 exon13del2046	CD74 exon6	34
	SDC4 exon4	EZR exon10		
ROS1 Reaction Mix ③	TPM3 exon8	LRIG3 exon16	GOPC exon8	35
ROS1 Reaction Mix ④	GOPC exon4			36

AmoyDx ROS1 Gene Fusions Detection Kit

Инструкция по применению



№ 8.01.23201X012H

Для приборов Stratagene Mx3000P™, ABI7500, LightCycler480 II, Bio-Rad CFX 96, Rotor-Gene Q/6000 (72 лунки), SLAN-96S

Вводная информация

ROS1 представляет собой рецептор тирозинкиназы из семейства инсулиновых рецепторов. Слияния гена *ROS1* определяют уникальный молекулярный подтип немелкоклеточного рака легких (НМРЛ). Партнерами слияния гена *ROS1* являются *SLC34A2*, *CD74*, *SDC4*, *EZR* и т.д. Эти слияния приводят к конститутивной активности киназы, а также к активации нисходящих сигнальных путей, таких как JAK/STAT, PI3K/AKT, RAS/MAPK и т.д., что приводит к канцерогенезу. Имеются данные, свидетельствующие о том, что наличие перестройки *ROS1* коррелирует с эффективностью терапии ингибиторами тирозинкиназы (ИТК).

Согласно результатам анализа информационной РНК опухоли, слияния гена *ROS1* можно выявить методом ПЦР в реальном времени.

Назначение

Набор для детекции слияний гена *ROS1* AmoyDx представляет собой набор для амплификации нуклеиновых кислот *in vitro*, предназначенный для качественной детекции 14 слияний гена *ROS1* в РНК фиксированной формалином и залитой в парафин опухолевой ткани человека. Набор предназначен для использования при оценке состояния гена *ROS1* у пациентов с НМРЛ, а также в качестве вспомогательного средства при выявлении пациентов с НМРЛ, которым может помочь терапия ингибиторами *ROS1*, например, Xalkori® (кризотиниб).

Этот набор предназначен для применения врачами, клиническими исследователями и имеющими соответствующую подготовку специалистами в условиях лаборатории..

Состав набора

Набор содержит следующие материалы:

Таблица 1. Состав набора

Пробирка №	Содержание	Основные ингредиенты	Количество	Флуоресцентный сигнал
	Реакционная смесь ROS1 1	Праймеры, зонды, Mg ²⁺ , dNTPs,	550 мкл/пробирка x 1	FAM
	Реакционная смесь ROS1 2	Праймеры, зонды, Mg ²⁺ , dNTPs,	550 мкл/пробирка x 1	FAM
	Реакционная смесь ROS1 3	Праймеры, зонды, Mg ²⁺ , dNTPs,	550 мкл/пробирка x 1	FAM
	Реакционная смесь ROS1 4	Праймеры, зонды, Mg ²⁺ , dNTPs,	550 мкл/пробирка x 1	FAM, HEX/VIC

Реакционная смесь ROS1 RT	Праймеры, Mg^{2+} , dNTPs,	300 мкл/пробирка x 1
Обратная транскриптаза ROS1	Обратная транскриптаза	10 мкл/пробирка x 1
Ферментная смесь ROS1	Термостабильная ДНК-полимераза, урацил-N-гликозилаза	30 мкл/пробирка x 1
Положительный контроль ROS1	ДНК плазмиды	150 мкл/пробирка x 1

Принципы процедуры

Использование набора основано на двух главных процессах: 1) **Обратная транскрипция:** на этом этапе используется экстракт РНК из фиксированной формалином и залитой в парафин опухолевой ткани, обратная транскрипция целевой РНК обеспечивает синтез комплементарной ДНК (кДНК) под действием обратной транскриптазы и ген-специфических праймеров. 2) **ПЦР-амплификация:** ген-специфические праймеры предназначены для амплификации кДНК вариантов *ROS1*, и ампликон мутантного гена выявляется с помощью флуоресцентных зондов, меченных FAM, а ампликон референсного гена — с помощью флуоресцентного зонда, меченного HEX.

Набор состоит из реакционной смеси ROS 1 RT, реакционной смеси ROS 1, достаточного количества положительного контроля и ферментной смеси.

- 1) **Реакционная смесь ROS1 RT** содержит праймеры, специфические для обратной транскрипции РНК *ROS1* и РНК референсного гена в комплементарную ДНК (кДНК).
- 2) **Реакционные смеси ROS1 1~4** содержат праймеры и меченные FAM зонды, специфические для слияний гена *ROS1*. **Реакционная смесь ROS1 4** содержит праймеры и меченный HEX зонд для детекции референсного гена в целях установления наличия ингибиторов ПЦР или целостности РНК, могущих привести к ложноотрицательным результатам.
- 3) **Положительный контроль ROS1** содержит рекомбинантный ген со слияниями гена *ROS1*.
- 4) **Ферментная смесь ROS1** содержит термостабильную ДНК-полимеразу для амплификации ПЦР и урацил-N-гликозилазу для предотвращения контаминации в результате переноса ПЦР-ампликонов, которая действует при комнатной температуре.

Хранение и стабильность

Набор подлежит транспортировке на льду. Незамедлительно после получения все содержимое набора необходимо поместить в защищенное от света место и хранить при температуре -20 ± 5 °C.

Срок хранения набора составляет двенадцать месяцев. Рекомендуемое максимальное число циклов замораживания/оттаивания — пять.

Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- 1) Совместимые приборы для ПЦР: Stratagene Mx3000P™, ABI7500, LightCycler480 II, Bio-Rad CFX96, Rotor-Gene Q/6000 (72 лунки) или SLAN-96S.
- 2) Набор для экстракции РНК: мы рекомендуем использовать набор для экстракции РНК AмоуDх (Набор для экстракции РНК из фиксированной формалином и залитой в парафин ткани AмоуDх®, артикул: 8.02.24101X036G, для залитых в парафин образцов).
- 3) Спектрофотометр для измерения концентрации РНК.

- 4) Мини-центрифуга с ротором для центрифужных пробирок.
- 5) Мини-центрифуга с ротором для пробирок для ПЦР.
- 6) Центрифужные пробирки без нуклеаз.
- 7) Пробирки и колпачки для ПЦР без нуклеаз.
- 8) Дозаторы переменного объема и наконечники для дозаторов с фильтром для работы с РНК.
- 9) Штативы для пробирок.
- 10) Одноразовые неопудренные перчатки.
- 11) Стерильная вода без нуклеаз.

Меры предосторожности и правила обращения

Для диагностики *in vitro*.

Меры предосторожности

- Внимательно прочитайте инструкцию и ознакомьтесь со всеми компонентами набора перед использованием. Строго соблюдайте приведенные в инструкции указания во время использования.
- Убедитесь в наличии совместимых приборов для ПЦР в реальном времени перед использованием.
- ЗАПРЕЩАЕТСЯ использовать набор или любые его компоненты после истечения срока годности.
- ЗАПРЕЩАЕТСЯ использовать какие-либо другие реагенты из других партий при проведении тестов.
- ЗАПРЕЩАЕТСЯ использовать какие-либо другие реагенты из других наборов для тестов.

Информация по безопасности

- Со всеми образцами и компонентами набора следует обращаться как с потенциально инфекционными материалами с соблюдением процедур обеспечения безопасности в лаборатории.
- Набор может использоваться только прошедшими соответствующую подготовку специалистами. При обращении с реагентами необходимо надевать подходящий лабораторный халат и одноразовые перчатки.
- Избегайте попадания реагентов на кожу, слизистые оболочки и в глаза. При попадании незамедлительно промойте водой.
- ЗАПРЕЩАЕТСЯ засасывать жидкость в пипетку ртом.

Деконтаминация и утилизация

- Набор содержит положительный контроль; необходимо отличать положительный контроль от остальных реагентов во избежание контаминации, которая может привести к ложноположительным результатам.
- Амплификация ПЦР характеризуется высокой чувствительностью к кросс-контаминации. Пробирки, штативы, пипетки и прочие используемые материалы должны перемещаться в направлении из зоны пред-амплификации в зону пост-амплификации и ни в коем случае не наоборот.
- При обращении с образцами и реагентами необходимо надевать и часто менять перчатки, чтобы избежать контаминации.
- Следует использовать специальные отдельные пипетки и наконечники дозаторов с фильтрами при обращении с образцами и реагентами во избежание контаминации реагентов нуклеиновой кислотой извне.

- После амплификации пробирки необходимо упаковать, надев две пары одноразовых перчаток, и утилизировать надлежащим образом. ЗАПРЕЩАЕТСЯ открывать пробирки для ПЦР после амплификации.
- Все одноразовые материалы предназначены для однократного использования. Повторное использование запрещено.
- Неиспользованные реагенты, использованный набор и отходы необходимо утилизировать надлежащим образом.

Очистка

- После эксперимента необходимо продезинфицировать рабочее место, пипетки и оборудование 75% раствором этилового спирта или 10% раствором хлорноватистой кислоты.

Настройка прибора

- Установите объем реакции на 40 мкл.
- В случае Stratagene Mx3000P™ при низком чистом флуоресцентном сигнале (dR) и высоких фоновых сигналах (R) необходимо снизить значение усиления сигнала прибора соответствующим образом.
- Прибор ABI настраивается следующим образом: репортерный краситель — FAM, VIC; гаситель — TAMRA; пассивный контроль — HET.
- В случае LightCycler480 II при наличии проступания флуоресценции на приборе также требуется калибровка флуоресценции. Для проведения тестов на приборе LightCycler следует использовать адаптер Roche 480, который можно приобрести у «БИОпластикс» (BIOplastics), артикул B79480.
- SLAN-96S настраивается следующим образом: режим зонда — FAM, VIC. При анализе результатов откройте окно «Настройки» (Preference) в разделе «Параметры диаграмм» (Chart Options); выберите «Выбранные лунки» (Selected Wells) в разделе «Автоматическая корректировка масштабирования оси Y по» (Y-Axis Scaling Auto-adjust By) и «Нормализация абсолютного значения флуоресценции» (Absolute Fluorescence Value Normalization) в разделе «Кривая амплификации» (Amplification Curve).
- Ознакомьтесь с подробными инструкциями в руководстве по применению прибора для ПЦР в реальном времени.
- Мы рекомендуем проводить калибровку флуоресценции раз в год для всех используемых приборов для ПЦР.

Процедура теста

1. Экстракция РНК

В качестве материала образца используется экстракт РНК из образцов фиксированной формалином и залитой в парафин ткани НМРЛ. Набор для экстракции РНК не поставляется в комплекте с набором. Перед экстракцией РНК необходимо использовать стандартные методы патологической анатомии для обеспечения надлежащего качества образцов опухолевой ткани. Проведите экстракцию РНК в соответствии с инструкциями по применению набора для экстракции РНК.

Значение оптической плотности экстракта РНК следует измерять с помощью спектрофотометра после экстракции. Значение оптической плотности OD260/OD280 должно быть в диапазоне от 1,9 до 2,1, а общая концентрация РНК — от 50 до 800 нг/мкл.

Примечание:

- Необходимо обеспечить надлежащее обращение с фиксированной формалином и залитой в парафин тканью и ее хранение. Желательно, чтобы время хранения было менее 2 лет.
- Экстракт РНК следует использовать сразу, в противном случае его необходимо хранить при температуре -20 ± 5 °C не более одной недели.

2. Обратная транскрипция

- 1) Достаньте необходимое количество **реакционной смеси ROS1 RT** и **обратной транскриптазы ROS1** из набора из морозильной камеры, оставив остальные реагенты в морозильной камере при температуре $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$.
- 2) Дайте **реакционной смеси ROS1 RT** оттаять при комнатной температуре. После полного оттаивания реагентов переверните каждую пробирку 10 раз, а затем ненадолго поместите в центрифугу, чтобы вся жидкость оказалась на дне пробирки.
- 3) Ненадолго поместите **обратную транскриптазу ROS1** в центрифугу перед использованием.
- 4) Подготовьте стерильные пробирки для ПЦР без нуклеаз для каждого образца: с помощью пипетки поместите 18,5 мкл **реакционной смеси ROS1 RT**, 0,5 мкл **обратной транскриптазы ROS1** и 6 мкл образца РНК в пробирку. Тщательно перемешайте реагенты, заполнив и опорожнив пипетку больше 10 раз, а затем ненадолго поместите в центрифугу.
- 5) Выдержите пробирки при температуре 42°C один час.
- 6) Нагревайте пробирки в течение 5 минут при температуре 95°C , затем поместите их на лед. Полученная кДНК образца затем используется для ПЦР-амплификации.

Примечание: кДНК образца следует использовать сразу, в противном случае ее необходимо хранить при температуре $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ не более одной недели после обратной транскрипции.

3. ПЦР-амплификация

- 1) Достаньте **реакционные смеси ROS1 1~4**, **положительный контроль ROS1** и ферментную смесь ROS1 из набора из морозильной камеры.
- 2) Дайте **реакционным смесям ROS1 1~4** и **положительному контролю ROS1** при комнатной температуре. После полного оттаивания реагентов переверните пробирку 10 раз, а затем ненадолго поместите в центрифугу, чтобы вся жидкость оказалась на дне пробирки.
- 3) Ненадолго поместите **ферментную смесь ROS1** в центрифугу перед использованием.
- 4) Поместите достаточное количество мастер-микса ROS1 1-4, содержащего ферментную смесь ROS1, и каждую реакционную смесь ROS1 (реакционные смеси ROS1 1~4 соответственно) в отдельные стерильные центрифужные пробирки в соотношении, указанном в таблице 2. Тщательно перемешайте каждый мастер-микс ROS1, аккуратно заполнив и опорожнив пипетку больше 10 раз.

Таблица 2. Мастер-микс ROS1

Содержание	Объем для одного теста
Ферментная смесь ROS1	0,3 мкл
Каждая реакционная смесь ROS1	35 мкл
Всего	35,3 мкл

Примечание:

- В каждой постановке должен быть один ПК (положительный контроль) и один БМК (безматричный контроль).
- Не перемешивайте ферментную смесь или любые смеси, содержащие ферментную смесь, на вортексе.
- Подготовленные смеси следует использовать сразу, избегая длительного хранения.
- Поскольку ферментная смесь обладает высокой вязкостью, дозируйте смесь пипеткой медленно, чтобы убедиться в том, что вся смесь вышла из наконечника.

• При дозировании ферментной смеси опустите наконечник пипетки в жидкость так, чтобы он находился непосредственно под поверхностью, чтобы избежать попадания излишков фермента на наконечник.

5) Достаньте кДНК образца и воду без нуклеаз для БМК (без матричного контроля).

6) Подготовьте 4 пробирки для ПЦР для БМК: наберите 35,3 мкл мастер-микса ROS1 1~4 в каждую пробирку для ПЦР соответственно. Затем добавьте 5 мкл воды без нуклеаз в каждую пробирку ПЦР и закройте пробирки для ПЦР колпачками.

7) Подготовьте 4 пробирки для ПЦР для каждого образца: наберите 35,3 мкл мастер-микса ROS1 1~4 в каждую пробирку для ПЦР соответственно. Затем добавьте 5 мкл кДНК образца в каждую пробирку для ПЦР и закройте пробирки для ПЦР колпачками.

8) Подготовьте 4 пробирки для ПЦР для ПК: наберите 35,3 мкл мастер-микса ROS1 1-4 в каждую пробирку для ПЦР соответственно. Затем добавьте 5 мкл положительного контроля ROS1 в каждую пробирку для ПЦР и закройте пробирки для ПЦР колпачками.

9) Ненадолго поместите пробирки для ПЦР в центрифугу, чтобы вся жидкость оказалась на дне пробирок для ПЦР.

10) Расположите пробирки для ПЦР в приборе для ПЦР в реальном времени в правильном положении. Рекомендуемая схема расположения на планшете представлена в таблице 3.

Таблица 3. Рекомендуемая схема расположения на планшете

Пробирка №	Сигнал							
	FAM	Образец 1	Образец 3	Образец 5	Образец 7	Образец 9	Образец 11	БМК
	FAM	Образец 1	Образец 3	Образец 5	Образец 7	Образец 9	Образец 11	БМК
	FAM	Образец 1	Образец 3	Образец 5	Образец 7	Образец 9	Образец 11	БМК
	FAM и HEX/VIC	Образец 1	Образец 3	Образец 5	Образец 7	Образец 9	Образец 11	БМК
	FAM	Образец 2	Образец 4	Образец 6	Образец 8	Образец 10	Образец 12	ПК
	FAM	Образец 2	Образец 4	Образец 6	Образец 8	Образец 10	Образец 12	ПК
	FAM	Образец 2	Образец 4	Образец 6	Образец 8	Образец 10	Образец 12	ПК
	FAM и HEX/VIC	Образец 2	Образец 4	Образец 6	Образец 8	Образец 10	Образец 12	ПК

11) Для протокола ПЦР используйте параметры циклов, приведенные в таблице 4.

Таблица 4. Параметры циклов

Стадия	Циклы	Температура	Время	Сбор данных
		95 °C	5 мин	
		95 °C	25 с	
		64 °C	20 с	
		72 °C	20 с	
		93 °C	25 с	
		60 °C	35 с	FAM и HEX/VIC
		72 °C	20 с	

12) Сразу запустите постановку ПЦР.

13) По завершении постановки ПЦР проанализируйте данные в соответствии с процедурами из раздела «Интерпретация результатов».

4. Интерпретация результатов

Перед анализом данных необходимо проверить следующие аспекты:

- 1) Для БМК — значения Ct FAM реакционных смесей 1~4 и значения Ct HEX/VIC реакционной смеси 4 должны быть ≥ 31 . В противном случае данные являются **НЕДОПУСТИМЫМИ**. Образец подлежит повторному анализу.
- 2) Для положительного контроля — значения Ct FAM реакционных смесей 1~4 и значения Ct HEX/VIC реакционной смеси 4 должны быть < 24 . В противном случае данные являются **НЕДОПУСТИМЫМИ**. Образец подлежит повторному анализу.
- 3) Для анализа референсного гена (сигнал HEX/VIC) в составе реакционной смеси 4 для каждого образца:
 - а) Значение Ct HEX/VIC должно быть ≤ 20 .
 - б) Значение Ct HEX/VIC > 20 указывает на деградацию РНК или наличие ингибиторов ПЦР. Образец подлежит повторному анализу с увеличением количества или повторной экстракцией РНК, так как возможны ложноотрицательные результаты.

Проанализируйте тест на слияние для каждого образца:

- 4) Зарегистрируйте значение Ct FAM реакционных смесей 1~4 для каждого образца:
 - а) Если значение Ct FAM реакционной смеси 1~4 ≥ 30 , то образец считается отрицательным (слияние *ROS1* не выявлено) или слияние ниже ПО (предела обнаружения) набора.
 - б) Если какое-либо из значений Ct FAM реакционной смеси 1~4 < 30 , то образец считается положительным (выявлено слияние *ROS1*).
- 5) Образец может одновременно содержать несколько профилей слияния.

Технические характеристики

Технические характеристики набора прошли валидацию на приборах Stratagene Mx3000P™, ABI7500, LightCycler480 II, Bio-Rad CFX96, Rotor-Gene Q/6000 (72 лунки) и SLAN-96S.

1) Предел обнаружения:

Предел обнаружения был установлен посредством тестирования плазмидной ДНК с 14 слияниями *ROS1*. Результаты показали, что предел обнаружения каждого слияния *ROS1* составляет 25 копий/мкл.

2) Специфичность:

Специфичность набора была установлена посредством тестирования 8 отрицательных контрольных образцов *ROS1*, подготовленных с использованием ДНК дикого типа (4 контроля) или РНК дикого типа (еще 4 контроля), тесты показали отрицательные результаты с коэффициентом конкордантности 100%.

3) Точность:

Точность набора была установлена посредством тестирования 14 положительных контрольных образцов слияния гена *ROS1*, подготовленных с использованием плазмидной ДНК со слияниями *ROS1*, тест показал соответствующие положительные результаты с коэффициентом конкордантности 100%.

4) Коэффициент интерференции:

Для данного исследования были выбраны два распространенных интерферирующих вещества: оксигемоглобин и триглицерид. Было подтверждено, что потенциальные максимальные концентрации оксигемоглобина в 4 г/л и триглицерида в 74 ммоль/л не интерферируют с результатами теста.

5) Прецизионность:

Прецизионность набора была установлена посредством тестирования контрольных образцов для проверки прецизионности в 10 повторностях; тест показал положительные результаты со значениями Ct FAM и HEX < 24 при коэффициенте вариации Ct (%) ≤ 10%.

Ограничения

- 1) Наборы должны использоваться только персоналом, прошедшим специальную подготовку по методикам ПЦР.
- 2) Результаты могут использоваться в качестве вспомогательного средства при диагностике в сочетании с другими данными клинических и лабораторных анализов.
- 3) Набор прошел валидацию при использовании с экстрактом РНК из фиксированной формалином и залитой в парафин ткани пациента с HMPJ.
- 4) Набор обеспечивает детекцию только 14 слияний гена ROS1, перечисленных в приложении.
- 5) Достоверность результатов зависит от надлежащих процедур обработки, транспортировки и хранения образцов.
- 6) Образец с РНК низкого качества может отрицательно сказаться на способности теста выявить слияния ROS 1.
- 7) Образцы с отрицательным результатом (в которых не выявлено слияние ROS1) могут содержать слияния ROS1, не обнаруженные данным тестом.

Литература

- 1) Бергетон К. и соавт. Журнал клинической онкологии. 2012;46:863-70.
- 2) Тэн Дж. и соавт. Экспертный обзор противоопухолевой терапии 77zer.2012;12:447-56.
- 3) Янне П.К. и соавт. Клиническая онкология. 2012;30:878-79.



Контактная информация

«Амой Диагностикс Ко., Лтд.» (Amoy Diagnostics Co., Ltd.)

39 Диншан Роуд, Район Хайцан, Сямэнь, 361027, Китай

Тел.: +86 592 6806835

Факс: +86 592 6806839

Электронная почта: sales@amoydx.com

Сайт: <http://www.amoydx.com>



«Веллканг Лтд» (Wellkang Ltd)

Офис В, 29 Харли Стрит,

Лондон W1G 9QR Великобритания

Символы



Уполномоченный представитель в Европейском сообществе



Производитель



Код партии



Содержит достаточный объем для проведения <n> тестов



См. инструкцию по применению



Верх



Медицинское изделие для диагностики in vitro



Номер по каталогу



Использовать до



Ограничения по температуре



Беречь от влаги



Хрупкий материал,

обращаться с осторожностью

Приложение

Слияния гена *ROS1*, обнаруживаемые набором

Реагент	Расщепленный ген и экзон			Расщепленный экзон ROS1
Реакционная смесь ROS1 1	<i>SLC34A2</i> экзон 4 <i>SDC4</i> экзон 2	<i>SLC34A2</i> экзон 13 делеция 2046 <i>SDC4</i> экзон 4	<i>CD74</i> экзон 6	
Реакционная смесь ROS1 2	<i>SLC34A2</i> экзон 4 <i>SDC4</i> экзон 4	<i>SLC34A2</i> экзон 13 делеция 2046 <i>EZR</i> экзон 10	<i>CD74</i> экзон 6	
Реакционная смесь ROS1 3	<i>TPM3</i> экзон 8	<i>LRIG3</i> экзон 16	<i>GOPC</i> экзон 8	
Реакционная смесь ROS1 4	<i>GOPC</i> экзон 4			

Перевод данного текста выполнен переводчиком Докучаевым Дмитрием Игоревичем.

ПОДПИСЬ

Российская Федерация

Город Москва

Двадцатого января две тысячи двадцать первого года

Я, Родина Ульяна Алексеевна, временно исполняющая обязанности нотариуса города Москвы Корсика Владимира Константиновича, свидетельствую подлинность подписи переводчика Докучаева Дмитрия Игоревича

Подпись сделана в моем присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре: № 77/2138-н/77-2021-8- **3641**

Уплачено за совершение нотариального действия: 400 руб. 00 коп.



**Гербовая печать
нотариуса города Москвы
Корсика В.К.
ИНН 770474847174**

ПОДПИСЬ

У.А. Родина

Всего прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью 13 лист(а)(ов)

ВРИО нотариуса

ПОДПИСЬ

Российская Федерация

Город Москва

Двадцатого января две тысячи двадцать первого года

Я, Родина Ульяна Алексеевна, временно исполняющая обязанности
нотариуса города Москвы Корсика Владимира Константиновича,
свидетельствую верность копии с представленного мне документа.

Зарегистрировано в реестре: № 77/2138-н/77-2021-8- **3642**
Уплачено за совершение нотариального действия: 840 руб. 00 коп.



У.А.Родина

Всего прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью 13 лист(а)(ов)

ВРИО нотариуса



SEELER & DR.FELLMETH
NOTARE

КОПИЯ

NOTARE SEELER & DR. FELLMETH · Q7, 23 · 68161 MANNHEIM

Beglaubigte Ablichtung

Die Übereinstimmung nachstehender Fotokopie mit dem Original wird hiermit
beglaubigt.

Mannheim, den 19.01.2021

Claudia Seeler
Notarin in Mannheim

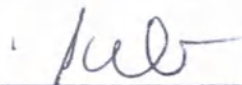


ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**(INSTRUCTION FOR USE)****НА МЕДИЦИНСКОЕ ИЗДЕЛИЕ**

Первичное кроличье моноклональное антитело VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody для качественного обнаружения белка ROS1 в диагностике in vitro к иммунотейнерам автоматическим серии BenchMark производства Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim, Germany

РАЗРАБОТЧИК

«Ventana Medical Systems, Inc.», 1910 East Innovation Park Drive, Tucson, AZ 85755 USA

Approved by**Roche Diagnostics GmbH****Date: 19 January 2021****Andrea Weber****Manager Global Regulatory Affairs****Stamp Roche Diagnostics GmbH****Sandhofer Straße 116
68305 Mannheim****2021**

VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

REF 790-6087
08404160001

IVD 50

Этот документ не предназначен для использования на территории США и Китая.

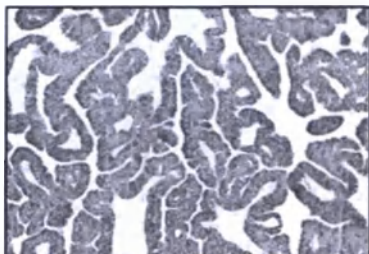


Рисунок 1. Ткань НМРЛ, окрашенная с помощью VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody разработано для лабораторного использования в процессе качественного обнаружения белка ROS1 в фиксированной формалином и залитой парафином ткани, окрашенной на приборах VENTANA BenchMark IHC/ISH.

Интерпретацию результатов, полученных с помощью данного продукта, должен выполнять квалифицированный патоморфолог с учетом результатов

гистологического исследования, соответствующих клинических данных и надлежащих контролей.

Эти антитела предназначены для *in vitro* диагностики (IVD).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ИНФОРМАЦИЯ

VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody — это кроличье моноклональное антитело, вырабатываемое против белка ROS1, рецепторной тирозинкиназы семейства инсулиновых рецепторов. Ген ROS1 активируется хромосомными перестройками. В результате хромосомных перестроек часть ROS1, включая киназный домен, объединяется с 1 из 27 известных в настоящее время партнерских генов.¹ Обусловленная этим сверхэкспрессия ROS1 стимулирует онкогенез в различных типах раковых заболеваний.²⁻⁶

ПРИНЦИП ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody связывается с белком ROS1 в фиксированных формалином и залитых парафином образцах ткани. Специфичное антитело может быть обнаружено посредством вторичного антитела, содержащего пришитый гаптен, с последующей обработкой мультимерным конъюгатом пероксидазы хрена с антителом к гаптenu OptiView DAB IHC Detection Kit (№ по кат.: 760-700/06396500001). После этого специфический комплекс антитела и фермента визуализируется путем осаждения продукта ферментативной реакции. Дополнительную информацию см. на листке-вкладыше в комплекте OptiView DAB IHC Detection Kit.

В дополнение к окрашиванию с помощью анализа VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody второй срез следует окрасить с помощью Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (№ по каталогу 790-4795/06683380001).

РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ

VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody содержит реагент в количестве, достаточном для выполнения 50 тестов. Один дозатор VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody объемом 5 мл содержит приблизительно 0,8 мкг кроличьих моноклональных антител. Антитело разбавляют в разбавителе Tris-HCl с 10 мг/мл белка-носителя, консерванта ProClin 300 и 0,17 % Brij-35. Общая концентрация белка в реактиве составляет приблизительно 10 мг/мл. Концентрация специфических антител составляет около 0,16 мкг/мл. VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody является рекомбинантным кроличьим моноклональным антителом, полученным из супернатанта клеточной культуры.

На листке-вкладыше соответствующего набора для обнаружения VENTANA можно найти более подробное описание принципов действия; материалов и методов; сбора образцов тканей и подготовки к анализу; процесса контроля качества; принципов поиска и устранения проблем; результатов; общих ограничений.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ

В комплект поставки не входят красящие реагенты, например наборы для обнаружения VENTANA, а также вспомогательные компоненты, в том числе микропрепараты для отрицательного и положительного контроля.

Продукты, перечисленные в листке-вкладыше, могут быть недоступны в некоторых странах. Проконсультируйтесь с местным представителем службы поддержки.

Для окрашивания могут потребоваться следующие реагенты и материалы, не входящие в комплект поставки:

1. Рекомендованный тканевый контроль.
2. Предметные стекла для микроскопа (с положительным зарядом).
3. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (№ по каталогу 790-4795/06683380001)
4. OptiView DAB IHC Detection Kit (№ по каталогу 760-700/06396500001)
5. Hematoxylin II (№ по каталогу 790-2208/05277965001)
6. Bluing Reagent (№ по каталогу 760-2037/05266769001)

ХРАНЕНИЕ

После получения препарата и пока он не используется, его следует хранить при температуре 2–8 °C. Не замораживать.

Для обеспечения надлежащей сохранности реагента и стабильности антител после каждого использования необходимо закрывать флакон-дозатор крышкой и сразу ставить его в холодильник в вертикальном положении.

На каждом флаконе-дозаторе с раствором антител указан срок годности. При соблюдении условий хранения реагент остается стабильным до даты, указанной на этикетке. Не использовать реагент после истечения срока годности.

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

При использовании наборов для обнаружения VENTANA и аппаратов BenchMark IHC/ISH данное первичное антитело можно применять для окрашивания подвергшихся стандартной обработке, фиксированных формалином и залитых в парафин срезов тканей. В качестве фиксатора тканей рекомендуется 10%-й нейтральный буферный формалин.⁷ Микропрепараты следует окрашивать немедленно, поскольку антигенность срезов тканей со временем уменьшается. Одновременно с исследованием неизвестных образцов рекомендуется провести исследование на положительном и отрицательном контролях.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Для диагностики *in vitro* (IVD).
2. Только для профессионального использования.
3. В данном реагенте в качестве консерванта используется раствор ProClin 300. Он относится к раздражающим средствам и при контакте с кожей может стать причиной сенсибилизации. При работе с реагентом соблюдайте обоснованные меры предосторожности. Избегайте попадания реагентов в глаза, на кожу и слизистые оболочки. Используйте защитную одежду и перчатки.
4. Обладающие положительным электрическим зарядом предметные стекла могут быть подвержены неблагоприятным воздействиям со стороны окружающей среды, вследствие чего окрашивание любыми иммуногистохимическими методами приведет к неудовлетворительным результатам, например, вследствие недостаточного количества первичного антитела или контрастного окрашивания в тканях. Запросите у своего представителя компании Roche копию документа «Неблагоприятные воздействия со стороны окружающей среды на обладающие положительным электрическим зарядом предметные стекла для IGH анализа» (Impacts of Environmental Stresses on IHC Positively Charged Slides) для того, чтобы лучше понять принцип использования стекол такого типа.
5. Материалы человеческого или животного происхождения следует считать биологически опасными материалами и утилизировать, соблюдая все необходимые меры предосторожности.
6. Избегайте контакта реагентов с глазами и слизистыми оболочками. При попадании реагентов на чувствительные участки промойте пораженные участки достаточным количеством воды.

- Не допускайте микробного загрязнения реагентов, поскольку это может привести к получению ошибочных результатов.
- Проконсультируйтесь с местными и (или) государственными органами в отношении рекомендованного способа утилизации.
- Дополнительная информация о безопасности содержится в паспорте безопасности продукта и руководстве по условным обозначениям и фразам риска на сайте www.ventana.com.

ПРОЦЕДУРА ОКРАШИВАНИЯ

Первичные антитела VENTANA разработаны для использования в аппаратах BenchMark IHC/ISH с применением наборов для обнаружения и вспомогательных компонентов VENTANA. Рекомендованные протоколы окрашивания представлены в Таблица 1.

Данное антитело оптимизировано для инкубации в течение конкретных периодов времени, однако пользователю необходимо провести валидацию результатов, полученных с использованием данного реагента.

Параметры автоматических процедур могут быть отображены на экране, напечатаны и отредактированы согласно процедуре, описанной в руководстве пользователя, прилагаемом к соответствующему аппарату. Подробная информация о процедурах иммуногистохимического окрашивания содержится на листке-вкладыше соответствующего набора для обнаружения VENTANA.

Таблица 1. Рекомендуемый протокол окрашивания для VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody с использованием OptiView DAB IHC на аппаратах BenchMark IHC/ISH. Следует применять процедуру окрашивания OptiView DAB IHC.

Тип процедуры	Метод
	GX, XT и ULTRA
Депарафинирование	Выбрано
Кондиционирование клеток (демаскирование антигена)	CC1 64 минуты, 100 °C
Предварительная обработка первичным ингибитором пероксидазы	Выбрано
Антитело (первичное)	16 минут, 36 °C или 37 °C ^a
Линкер OptiView HQ	8 минут (по умолчанию)
Мультимер OptiView HRP	8 минут (по умолчанию)
Контрастное окрашивание	Hematoxylin II, 4 минуты
Обработка после контрастного окрашивания	Bluing, 4 минуты

^a 36 °C для ULTRA, 37 °C для GX и XT

В связи с различиями в фиксации и обработке ткани, а также в лабораторном оборудовании общего назначения и условиях окружающей среды может потребоваться увеличить или уменьшить время инкубации первичного антитела, кондиционирования клеток или предварительной обработки протеазой в зависимости от конкретных образцов, методов обнаружения, а также от предпочтений экспертов. Дополнительная информация по факторам, влияющим на фиксацию, представлена в публикации Immunohistochemistry Principles and Advances.⁸

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ ТКАНЕВЫЙ КОНТРОЛЬ

Оптимальная лабораторная практика — помещение среза для положительного контроля на одно стекло с образцом исследуемой ткани. Это позволяет распознать случаи, когда реагенты нанесены на предметное стекло неправильно. Для контроля качества лучше всего подойдет образец ткани, в норме показывающий положительное окрашивание. Контрольная ткань может содержать как положительно, так и отрицательно окрашиваемые элементы и использоваться в качестве как положительного, так и отрицательного контроля. В качестве контроля следует использовать свежие образцы тканей, полученные в ходе вскрытия, биопсии или хирургических операций. Образцы следует как можно скорее подготовить или зафиксировать по точно такой же процедуре, что используется для исследуемых образцов.

Заведомо положительные тканевые контроли следует использовать только для контроля работы с реагентами приборами, а не в качестве вспомогательного средства при постановке конкретного диагноза на основании тестовых образцов. Если не наблюдается положительного окрашивания положительных тканевых контролей, результаты окрашивания тестового образца следует считать недействительными.

Примерами положительных тканевых контролей для данного антитела являются заведомо ROS1-положительные ткани HMPЛ, реактивного альвеолярного пневмонита типа II или клеточные линии, экспрессирующие ROS1-слияния, такие как HCC78.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ОКРАШИВАНИЯ / ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Схема клеточного окрашивания для VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody — преимущественно цитоплазматическая и редко мембранная и ядерная.

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ОГРАНИЧЕНИЯ

Данное антитело было оптимизировано для инкубации в течение 16 минут на приборе VENTANA BenchMark IHC/ISH в комбинации с OptiView DAB IHC Detection Kit при использовании параметров, перечисленных в Таблица 1, однако пользователь должен валидировать результаты окрашивания, получаемые с помощью данного реагента.

Анализы могут регистрироваться не на каждом инструменте. Для получения дополнительной информации обратитесь к местному представителю компании Roche.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Результаты окрашивания тестовых препаратов с целью определения специфичности, чувствительности и воспроизводимости приведены в соответствующих таблицах (Таблица 2 и Таблица 3), а также в разделе Прецизионность.

Чувствительность и специфичность

Таблица 2. Чувствительность/специфичность VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody определяли путем окрашивания зафиксированных формалином и залитых в парафин здоровых тканей.

Ткань	Кол-во положительных случаев/ общее кол-во случаев	Ткань	Кол-во положительных случаев/ общее кол-во случаев
Головной мозг	1/8 ^a	Надпочечник	0/5
Мозжечок	1/4 ^a	Яичник	0/5
Поджелудочная железа	1/6 ^b	Желудок	1/5 ^e
Лимфоузел	0/5	Тонкий кишечник	2/5 ^f
Гипофиз	0/6	Толстая кишка	0/6
Яичко	2/6 ^c	Печень	0/6
Щитовидная железа	3/6 ^d	Слюнная железа	0/6
Молочная железа	0/3	Почка	5/5 ^g
Селезенка	0/5	Простата	2/5 ^h
Миндалины	0/5	Эндометрий	0/3
Вилочковая железа	0/5	Шейка матки	0/3
Паращитовидная железа	0/3	Скелетная мышца	0/4
Мочевой пузырь	0/4	Кожа	1/12 ⁱ
Костный мозг	0/5	Нерв	0/4
Легкое	0/16	Мезотелий	3/4 ^j

Ткань	Кол-во положительных случаев/ общее кол-во случаев	Ткань	Кол-во положительных случаев/ общее кол-во случаев
Сердце	1/3	Глаз	0/1
Пищевод	0/6	Гортань	0/1

^a Цитоплазматическое нейронное окрашивание.

^b Цитоплазматическое окрашивание гроздевидных/островковых клеток.

^c Стромальное окрашивание. ^d Коллоидное окрашивание.

^e Окрашивание секрета просвета очага. ^f Окрашивание лимфоцитов в строме.

^g Апоикальное мембранное окрашивание.

^h Апоикальное мембранное окрашивание и цитоплазматическое окрашивание эпителиальных клеток.

ⁱ Эпидермальное цитоплазматическое и лимфоцитарное окрашивание.

^j Окрашивание пневмоцитов типа II в одном образце.

Таблица 3. Чувствительность/специфичность VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody определялись путем окрашивания зафиксированных формалином и залитых в парафин препаратов различных опухолевых тканей.

Ткань	Патология	Кол-во положительных случаев/общее кол-во случаев
Головной мозг	Глиобластома	0/2
Головной мозг	Атипичная менигиома	0/1
Головной мозг	Олигодендроглиома	0/1
Яичник	Высококлеточная серозная карцинома	1/2 ^a
Поджелудочная железа	Инсулинома	0/1
Поджелудочная железа	Протоковая карцинома	0/1
Яичко	Семинома	0/1
Яичко	Эмбриональная карцинома	0/1
Щитовидная железа	Медуллярная карцинома	0/1
Щитовидная железа	Папиллярная карцинома	0/1
Молочная железа	Интрадуктальная карцинома с ранним инфильтратом	1/1 ^b
Молочная железа	Инвазивная протоковая карцинома	0/2
Селезенка	Диффузная В-клеточная лимфома	0/1
Легкое	Недифференцированная мелкоклеточная карцинома	1/1 ^a
Легкое	Плоскоклеточная карцинома	3/27
Легкое	Аденокарцинома	4/15
Легкое	Папиллярная аденокарцинома	1/2
Легкое	Муцинозная аденокарцинома	0/2

Ткань	Патология	Кол-во положительных случаев/общее кол-во случаев
Легкое	Аденосквамозная карцинома	0/1
Пищевод	Плоскоклеточная карцинома	0/1
Пищевод	Аденокарцинома	0/1
Желудок	Муцинозная аденокарцинома	0/1
Тонкий кишечник	Аденокарцинома	0/1
Тонкий кишечник	Злокачественная интерстициома	0/1
Толстая кишка	Аденокарцинома	0/1
Толстая кишка	Умеренно дифференцированная злокачественная интерстициальная саркома	0/1
Прямая кишка	Аденокарцинома	0/1
Прямая кишка	Злокачественная интерстициома	0/1
Печень	Гепатоцеллюлярная карцинома	0/1
Печень	Гепатобластома	0/1
Печень	Внутрипеченочная холангиокарцинома	12/89
Почка	Светлоклеточная карцинома	0/1
Простата	Аденокарцинома	0/2
Матка	Низкодифференцированная злокачественная лейомиосаркома	0/1
Матка	Аденокарцинома	0/1
Матка	Светлоклеточная карцинома	0/1
Шейка матки	Плоскоклеточная карцинома	0/1
Шейка матки	Инвазивная плоскоклеточная карцинома	0/1
Поперечно-полосатая мышца	Эмбриональная рабдомиосаркома	0/1
Прямая кишка	Злокачественная меланома	0/1
Кожа	Базальноклеточная карцинома	0/1
Кожа	Плоскоклеточная карцинома	0/1
Кожа	Злокачественная меланома	2/40
Забрюшинное пространство	Нейробластома	0/1
Брюшина	Злокачественная мезотелиома	1/1 ^a
Лимфоузел	Диффузная В-клеточная лимфома	0/2
Лимфоузел	Лимфома Ходжкина	1/1 ^c

Ткань	Патология	Кол-во положительных случаев/общее кол-во случаев
Мочевой пузырь	Высококкачественная уротелиальная карцинома	0/1
Мочевой пузырь	Лейомиосаркома	0/1
Брюшина	Высокодифференцированная злокачественная плеоморфная рабдомиосаркома	0/1

^a Лимфоцитарное окрашивание; ^b Цитоплазматическое окрашивание;

^c Окрашивание клеток Ходжкина

Прецизионность

Исследования прецизионности для антитела VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody проводились с целью определения:

- Прецизионности антитела между партиями.
- Прецизионности цикла и межсубочной прецизионности на аппарате BenchMark ULTRA.
- Прецизионности между приборами с использованием приборов BenchMark GX, BenchMark XT и BenchMark ULTRA;
- Прецизионности между платформами между приборами BenchMark GX, BenchMark XT и BenchMark ULTRA;

Все исследования соответствовали критериям приемлемости.

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ ИГХ И FISH

В Таблица 4 показаны результаты сравнительного аналитического исследования образцов, окрашенных с помощью VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (ИГХ) и протестированных методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH).

Таблица 4. Аналитические сравнительные данные для VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody — ИГХ и FISH

IHC	Результат FISH			Показатели согласованности % ^a (n/N) (95 % ДИ) ^b
	Положительные	Отрицательный результат	Всего	
≥ 2+ окрашивание в цитоплазме любых опухолевых клеток	45	18	63	Процент совпадения положительных результатов (PPA): 97,8 (45/46) (88,7, 99,6)
≥ 2+ окрашивание в цитоплазме не любых опухолевых клеток	1	56	57	Процент совпадения отрицательных результатов (NPA): 75,7 (56/74) (64,8, 84,0)
Всего	46	74	120	Общий процент совпадения (OPA): 84,2 (101/120) (76,6, 89,6)
≥ 2+ окрашивание в цитоплазме > 25 % общего количества опухолевых клеток	45	11	56	Процент совпадения положительных результатов (PPA): 97,8 (45/46) (88,7, 99,6)
≥ 2+ окрашивание в цитоплазме ≤ 25 % общего количества опухолевых клеток	1	63	64	Процент совпадения отрицательных результатов (NPA): 85,1 (63/74) (75,3, 91,5)
Всего	46	74	120	Общий процент совпадения (OPA): 90,0 (108/120) (83,3, 94,2)
≥ 2+ окрашивание в цитоплазме > 30 % общего количества опухолевых клеток	45	8	53	Процент совпадения положительных результатов (PPA): 97,8 (45/46) (88,7, 99,6)
≥ 2+ окрашивание в цитоплазме ≤ 30% общего количества опухолевых клеток	1	66	67	Процент совпадения отрицательных результатов (NPA): 89,2 (66/74) (80,1, 94,4)
Всего	46	74	120	Общий процент совпадения (OPA): 92,5 (111/120) (86,4, 96,0)
≥ 2+ окрашивание в цитоплазме > 50 % общего количества опухолевых клеток	42	5	47	Процент совпадения положительных результатов (PPA): 91,3 (42/46) (79,7, 96,6)
≥ 2+ окрашивание в цитоплазме ≤ 50 % общего количества опухолевых клеток	4	69	73	Процент совпадения отрицательных результатов (NPA): 93,2 (69/74) (85,1, 97,1)
Всего	46	74	120	Общий процент совпадения (OPA): 92,5 (111/120) (86,4, 96,0)

^a PPA = процент совпадения положительных результатов; NPA = процент совпадения отрицательных результатов; OPA = общий процент совпадения;

^b Двухсторонний 95 % доверительный интервал по шкале оценки Уилсона; ДИ = доверительный интервал

ССЫЛКИ

1. Varela-Garcia M, Yoshida A. ROS1 Testing with FISH. IASLC Atlas of ALK and ROS1 Testing in Lung Cancer. Ed. Tsao M, Ed. Hirsch F, Ed. Yatabe Y. 2nd Edition. Aurora, CO, USA. Editorial Rx Press; 2016. 55-61, Print.
2. Charest A, Lane K, McMahon K, et al. Fusion of FIG to the receptor tyrosine kinase ROS in a glioblastoma with an interstitial del(6)(q21q21). Genes Chromosomes Cancer 2003;37:58-71.
3. Rikova K, Guo A, Zeng Q, et al. Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. Cell 2007;131:1190-120.
4. Lee J, Lee SE, Kang SY, et al. Identification of ROS1 rearrangement in gastric adenocarcinoma. Cancer 2013;119:1627-1635.
5. Gu TL, Deng X, Huang F, et al. Survey of tyrosine kinase signaling reveals ROS kinase fusions in human cholangiocarcinoma. PLoS One 2011;6:e15640-e15640.
6. Birch AH, Arcand SL, Oros KK, et al. Chromosome 3 anomalies investigated by genome wide SNP analysis of benign, low malignant potential and low grade ovarian serous tumours. PLoS One 2011;6:e28250-e28250.
7. Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
8. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

VENTANA, BENCHMARK, OPTIVIEW и логотип VENTANA являются товарными знаками Roche. Все остальные товарные знаки являются собственностью их соответствующих владельцев.

© 2018 Ventana Medical Systems, Inc.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany



www.ventana.com

Приложение 1 (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.) V1.1

Полное наименование изделия на русском языке

Первичное кроличье моноклональное антитело VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody для качественного обнаружения белка ROS1 в диагностике *in vitro* к иммуноштейнерам автоматическим серии BenchMark (далее по тексту может использоваться антитело VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody, VENTANA ROS1 (SP384) Primary Antibody, антитело VENTANA ROS1 (SP384), реагент, антитело)

Специфичность назначения для обращения на территории Российской Федерации

Первичное кроличье моноклональное антитело VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody разработано для лабораторного использования иммуногистохимическим методом в процессе качественного обнаружения белка ROS1 в фиксированной формалином и залитой парафином ткани, окрашенной на приборах VENTANA BenchMark IHC/ISH.

Интерпретацию результатов, полученных с помощью данного продукта, должен выполнять квалифицированный специалист* (*уточнение квалификации специалиста должно регулироваться в соответствии с местным законодательством) с учетом результатов гистологического исследования, соответствующих клинических данных и надлежащих контролей.

Данные антитела предназначены как вспомогательные средства для профессиональной диагностики *in vitro* (IVD) для определения сверхэкспрессии белков ROS1 при различных формах онкологических заболеваний.

Ткани, которые демонстрируют экспрессию белка ROS1 иммуногистохимическим методом (IHC) с помощью VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody следует дополнительно охарактеризовать молекулярными и/или цитогенетическими методами.

Состав (дополнение)

Первичное кроличье моноклональное антитело VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody содержит следующие материалы животного происхождения:

1Название материала - Альбумин бычьей сыворотки, фракция V

Характер - Потенциальный возбудитель инфекции*

Тип - Сыворотка

Источник - Бык

2Название материала - Нормальная сыворотка козла

Характер - Потенциальный возбудитель инфекции*

Тип - Сыворотка

Источник - Козел

* Известно либо крайне вероятно, что биологические материалы, являющиеся потенциальными возбудителями инфекции, содержат жизнеспособные микроорганизмы или иные инфекционные агенты, которые могут вызывать болезни человека.

Для определения инфекционного характера этих материалов были проведены соответствующие испытания. Используемые в производстве материалы животного происхождения получены от животных прошедших надлежащий ветеринарный контроль. Материалы рекомбинантного происхождения получены из генетически модифицированных организмов. Риск передачи патогенных возбудителей этих материалов считается незначительным.

Принцип метода определения

VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody связывается с белком ROS1 в фиксированных формалином и залитых парафином образцах ткани.

Специфичное антитело может быть обнаружено посредством вторичного антитела, содержащего пришитый гаптен, с последующей обработкой мультимерным конъюгатом пероксидазы хрена с антителом к гаптenu (система детекции) (OptiView DAB IHC Detection Kit). После этого специфический комплекс антитела и фермента визуализируется путем осаждения продукта ферментативной реакции.

В дополнение к окрашиванию с помощью VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody второй срез следует окрасить с помощью отрицательного контроля Rabbit Ig (Confirm Neg. Contr. Rabbit Ig) для оценки фонового окрашивания.

Каждый этап инкубируется в течение точно определенного времени и при определенной температуре. В конце каждого этапа инкубации иммуноштейнер автоматический серии BenchMark промывает срезы, чтобы остановить реакцию и удалить несвязанный материал, который будет препятствовать желаемой реакции на последующих этапах. Также применяется раствор для защиты препаратов от высыхания, который минимизирует испарение водных реагентов с предметного стекла.

Процедура окрашивания данным антителом различных тканевых срезов идентична.

Результаты должны интерпретироваться квалифицированным специалистом с учетом данных гистологических исследований, соответствующих клинических данных и сравнения с контрольными образцами.

Срок годности

VENTANA ROS1 (SP384) Primary Antibody стабильно максимально 24 месяца с даты производства. Дату производства см. на упаковке.

VENTANA ROS1 (SP384) Primary Antibody следует хранить при 2-8°C. Не замораживать!

При вскрытой упаковке флакон-дозатор с реагентом необходимо хранить в холодильнике в вертикальном положении до истечения срока годности, указанного на этикетке.

На каждом флаконе-дозаторе с реагентом указан срок годности. Не использовать антитело после истечения срока годности.

Стабильность

До вскрытия упаковки дозатор с реагентом можно хранить – максимально 24 месяца с даты производства (дату производства см. на упаковке).

После вскрытия дозатор с реагентом можно хранить при 2-8°C – максимально 24 месяца с даты производства (дату производства см. на упаковке).

Стабильность установленного на прибор антитела после вскрытия дозатора – не менее 196 часов при температуре $\geq 35^{\circ}\text{C}$.

Меры предосторожности и предупреждения (дополнение)

-Только для *in vitro* диагностики (IVD).

-Только для профессионального использования медицинским персоналом клинико-диагностических лабораторий.

Предупреждения:



-H317 – Может вызывать аллергическую кожную реакцию.

-P261 – Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/паров/распылителей жидкости.

-P272 – Не выносить загрязненную одежду с рабочего места.

-P280 – Пользоваться защитными перчатками/защитной одеждой/средствами защиты глаз/лица.

-P333+P313 – При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться к врачу.

Приложение 1 (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.) V1.1

-P362+P364 – Снять загрязненную одежду и промыть ее перед повторным использованием.

-P501 – Удалить содержимое/контейнер в ...

Сбор и подготовка материала для исследования (дополнение)

Необходимо получить срезы толщиной 4 - 6 мкм и нанести их на положительно заряженные предметные стекла.

Комплект поставки

VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody поставляется в пластиковом дозаторе, упакованном в коробку из мелованной бумаги. Один дозатор содержит достаточное количество реагента для проведения 50 анализов.

На каждой картонной коробке находится магнитная «кнопка памяти», которая содержит всю необходимую информацию о реагенте. Более подробно о «кнопке памяти» читайте в Руководстве по эксплуатации к иммунофлуоресцентным автоматическим серии Ventana BenchMark.

Показания к применению

Первичное кроличье моноклональное антитело VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody разработано для лабораторного использования иммуногистохимическим методом в процессе качественного обнаружения белка ROS1 в фиксированной формалином и залитой парафином ткани, окрашенной на приборах VENTANA BenchMark IHC/ISH.

Интерпретацию результатов, полученных с помощью данного продукта, должен выполнять квалифицированный специалист* (*уточнение квалификации специалиста должно регулироваться в соответствии с местным законодательством) с учетом результатов гистологического исследования, соответствующих клинических данных и надлежащих контролей.

Данные антитела предназначены как вспомогательные средства для профессиональной диагностики in vitro (IVD) для определения сверхэкспрессии белков ROS1 при различных формах онкологических заболеваний.

Ткани, которые демонстрируют экспрессию белка ROS1 иммуногистохимическим методом (IHC) с помощью VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody следует дополнительно охарактеризовать молекулярными и/или цитогенетическими методами.

Противопоказания к применению

Противопоказаний в рамках установленного назначения не имеет.

Побочные действия

Не применимо, т.к. медицинское изделие предназначено для лабораторной диагностики.

Контроль качества (дополнение)

Реагент для отрицательного контроля

Для облегчения интерпретации результатов необходимо использовать соответствующий реагент для отрицательного контроля с каждым образцом. Отрицательный контроль Rabbit Ig (Confirm Neg. Contr. Rabbit Ig) является соответствующим антителом для реагента для отрицательного контроля в данном анализе и используется вместо первичного антитела для оценки неспецифического окрашивания.

Процедура окрашивания препарата с реагентом для отрицательного контроля должна соответствовать процедуре окрашивания с первичным антителом. Использование другого реагента для отрицательного контроля или неиспользование рекомендованного реагента для отрицательного контроля может привести к неверной интерпретации окрашенного для анализа препарата.

Интерпретация окрашивания (дополнение)

Перед интерпретацией полученных результатов квалифицированный специалист, имеющий опыт проведения иммуногистохимических процедур, должен выполнить оценку тканевого контроля, реагентов для отрицательного контроля и окрашенного продукта.

Интерферирующие вещества

Тестирование веществ, влияющих на воздействие, в контексте интерпретации анализа с использованием антитела VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody технически не применимо.

Ткань пациента

Квалифицированный специалист классифицирует ткани по приемлемому неспецифическому фоновому окрашиванию и по общей интенсивности специфического окрашивания по шкале 0 – 3+ только в справочных целях. Шаг по шкале оценки составляет 0,25 балла для отражения слабых изменений в интенсивности окрашивания. Определение показателей интенсивности сигнала в соответствии с таблицей 1 используется при разработке и валидации данного антитела.

Таблица 1. Критерии оценки интенсивности окрашивания антителом VENTANA ROS1 (SP384)

Оценка	Наблюдение под микроскопом
0	Признаков окрашивания не обнаружено
0,25	Отсутствие окрашивания или слабое окрашивание опухолевых клеток
0,5	Очень слабое окрашивание опухолевых клеток
0,75	Окрашивание опухолевых клеток от очень слабого до слабого
1,0	Слабое окрашивание опухолевых клеток
1,25	Окрашивание опухолевых клеток от слабого до слабо-умеренного
1,5	Слабо-умеренное окрашивание опухолевых клеток
1,75	Окрашивание опухолевых клеток от слабо-умеренного до умеренного
2,0	Умеренное окрашивание опухолевых клеток
2,25	Окрашивание опухолевых клеток от умеренного до умеренно-сильного
2,5	Умеренно-сильное окрашивание опухолевых клеток
2,75	Окрашивание опухолевых клеток от умеренно-сильного до сильного
3,0	Сильное окрашивание опухолевых клеток
Не оценивалось (Н/П)	Интерпретация невозможна вследствие потери ткани, отсутствия опухоли, артефактов и / или краевых артефактов

Клиническая интерпретация	Описание специфического окрашивания
Положительное окрашивание	Клетки имеют умеренную интенсивность окрашивания или выше, то есть равную или больше 2 баллов.
Отрицательное окрашивание	Клетки имеют интенсивность окрашивания ниже умеренной, то есть ниже 2 баллов.
Не подлежит оценке	Интерпретация невозможна вследствие потери ткани, отсутствия опухоли, артефактов и / или краевых артефактов

Неспецифическое фоновое окрашивание представляет собой непредвиденное окрашивание, отличающееся от типичной картины окрашивания. Неспецифическое фоновое окрашивание антителом VENTANA ROS1 (SP384) должно оцениваться в соответствии с критериями, приведенными в Таблице 2.

Таблица 2. Критерии неспецифического фонового окрашивания антителом VENTANA ROS1 (SP384)

	Наблюдение под микроскопом	Оценка
--	----------------------------	--------

Приложение 1 (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.) VI.1

Приемлемо	Отсутствие фоновое окрашивания	0
	Слегка различимое неспецифическое окрашивание, не препятствующее интерпретации специфического окрашивания.	0,25
	Вполне определенное, различимое неспецифическое окрашивание, не препятствующее интерпретации специфического окрашивания.	0,5
Неприемлемо	Вполне определенное, различимое неспецифическое окрашивание, слегка препятствующее интерпретации специфического окрашивания.	0,75
	Неспецифическое окрашивание, препятствующее интерпретации специфического окрашивания.	1
	Неспецифическое окрашивание, в значительной степени препятствующее интерпретации специфического окрашивания.	1,5
	Неспецифическое окрашивание, в наивысшей степени препятствующее интерпретации, но оно менее интенсивно, чем специфическое окрашивание.	2
	Интенсивность неспецифического окрашивания практически равна интенсивности специфического окрашивания.	2,5
	Неспецифическое окрашивание невозможно отличить от специфического окрашивания.	3

Тканевый контроль

Оптимальная лабораторная практика — помещение среза для положительного контроля на одно стекло с образцом исследуемой ткани. Это позволяет распознать случаи, когда реагенты нанесены на предметное стекло неправильно. Для контроля качества лучше всего подойдет образец ткани, в норме показывающий положительное окрашивание. Контрольная ткань может содержать как положительно, так и отрицательно окрашиваемые элементы и использоваться в качестве как положительного, так и отрицательного контроля. В качестве контроля следует использовать свежие образцы тканей, полученные в ходе вскрытия, биопсии или хирургических операций. Образцы следует как можно скорее подготовить или зафиксировать по точно такой же процедуре, что используется для исследуемых образцов.

Заведомо положительные тканевые контроли следует использовать только для контроля работы с реагентами приборами, а не в качестве вспомогательного средства при постановке конкретного диагноза на основании тестовых образцов.

Если не наблюдается положительного окрашивания положительных тканевых контролей, результаты окрашивания тестового образца следует считать недействительными.

Примерами положительных тканевых контролей для данного антитела являются заведомо ROS1-положительные ткани HMPЛ (немелкоклеточного рака легкого), реактивного альвеолярного пневмонита типа II (реактивные альвеолоциты II типа) или клеточные линии, экспрессирующие ROS1-слияния, такие как HCC78.

Заведомо ROS1-положительные ткани HMPЛ (немелкоклеточного рака легкого), реактивного альвеолярного пневмонита типа II (реактивные альвеолоциты II типа) должны иметь умеренную интенсивность окрашивания или выше, то есть равную или больше 2 баллов в соответствии с критериями оценки интенсивности окрашивания, приведенными в Таблице 1.

Интенсивность фоновое окрашивания должна быть не более 0,5 балла в соответствии с Таблицей 2.

Результаты считаются неприемлемыми, если окрашенные образцы контрольной ткани не проявляют приемлемую интенсивность окрашивания.

Реагент для отрицательного контроля

Отрицательный контроль Rabbit Ig (Confirm Neg. Contr. Rabbit Ig) используется для оценки фоновое окрашивания, не связанного с антителом VENTANA ROS1 (SP384).

Интенсивность фоновое окрашивания, которое наблюдается у образца, окрашенного отрицательным контролем Rabbit Ig (Confirm Neg. Contr. Rabbit Ig), должна составлять не более 0,5 для окрашенных образцов ткани.

Эксплуатационные характеристики - чувствительность / специфичность (дополнение)

В таблицах 2 и 3 (основная часть инструкции) приводятся результаты проведенных исследований с применением антитела VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody.

Оценка иммунореактивности антитела VENTANA ROS1 (SP384) проводилась на шести микромассах ткани (MMT), к которым относились два MMT (массив нормальных тканей), включающие различные нормальные ткани, один MOT (массива опухолевых тканей), включающие различные опухолевые ткани, а также по одному микромассу, включающему злокачественную меланому, холангиокарциному и немелкоклеточный рак легкого (образцы с HMPЛ). Кроме того, были включены моноблоки ткани неопухового мочевого пузыря, околощитовидной железы и мезотелия. Результаты исследования соответствовали критериям приемлемости при оценке предметных стекол, окрашенных ROS1, на предмет приемлемости фоновое и нецелевое окрашивания.

ROS1 (SP384) продемонстрировал приемлемое неспецифическое фоновое окрашивание в 97,8 % (392/401) образцов ткани во всех оцениваемых образцах. Из 401 поддающегося оценке образца 7 были определены как нецелевые на основании того, что они противоречат существующим литературным данным*. Следовательно, частота нецелевого окрашивания составила 1,75 % (7/401) для антитела VENTANA ROS1 (SP384). Эти результаты показывают, что окрашивание первичным моноклональным кроличьим антителом ROS1 (SP384) является специфическим и чувствительным.

Предметные стекла были окрашены антителом VENTANA ROS1 (SP384) и отрицательным контролем Rabbit Ig (Confirm Neg. Contr. Rabbit Ig) с применением системы детекции (OptiView DAB IHC Detection Kit) на иммуноштейнере автоматическом VENTANA BenchMark ULTRA. Также в данное исследование было включено предметное стекло с положительной клеточной линией в качестве положительного контроля.

Прецизионность

Прецизионность антитела VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody между партиями (межпартийная прецизионность)

Данное исследование проводилось с использованием системы детекции (OptiView DAB IHC Detection Kit) на иммуноштейнерах автоматических VENTANA BenchMark ULTRA, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark GX.

В данном исследовании использовались 3 проектные партии и 1 мультитканевый блок, содержащий 4 уникальных случая HMPЛ. Также каждое стекло было окрашено отрицательным контролем Rabbit Ig (Confirm Neg. Contr. Rabbit Ig). Оценка интенсивности окрашивания проводилась по шкале 0-3+ в соответствии с критериями, перечисленными в Таблице 1, оценка приемлемости неспецифического фоновое окрашивания по критериям, приведенным в Таблице 2.

VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody показало общую процентную согласованность (OPA) 100,0% (45/45) с 95% ДИ (92,1 – 100,0) для всех использованных проектных партий, что удовлетворяло критериям приемлемости.

Прецизионность цикла на аппарате VENTANA BenchMark ULTRA, межсуточная прецизионность на аппарате VENTANA BenchMark ULTRA

Приложение 1 (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.) V1.1

Исследование прецизионности цикла проводилось с использованием системы детекции (OptiView DAB IHC Detection Kit) на иммуноштейнере автоматическом VENTANA BenchMark ULTRA в течение 27 циклов.

В данном исследовании было использовано 24 уникальных случаев ткани НМРЛ от разных пациентов. Также каждое стекло было окрашено отрицательным контролем Rabbit Ig (Confirm Neg. Contr. Rabbit Ig). Оценка интенсивности окрашивания проводилась по шкале 0-3+ в соответствии с критериями, перечисленными в Таблице 1, оценка приемлемости неспецифического фоновых окрашивания по критериям, приведенным в Таблице 2.

VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody общую процентную согласованность (OPA) 99,5% (428/430) с 95% ДИ (98,6 – 100,0) для 27 циклов, что удовлетворяло критериям приемлемости.

Исследование межсуботной прецизионности проводилось с использованием системы детекции (OptiView DAB IHC Detection Kit) на иммуноштейнере автоматическом VENTANA BenchMark ULTRA в течение 3 непоследовательных дней.

В данном исследовании было использовано 24 уникальных случаев ткани НМРЛ от разных пациентов. Также каждое стекло было окрашено отрицательным контролем Rabbit Ig (Confirm Neg. Contr. Rabbit Ig). Оценка интенсивности окрашивания проводилась по шкале 0-3+ в соответствии с критериями, перечисленными в Таблице 1, оценка приемлемости фоновых окрашивания по критериям, приведенным в Таблице 2.

VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody общую процентную согласованность (OPA) 100,0% (144/144) с 95% ДИ (97,4 – 100,0) для трех непоследовательных дней, что удовлетворяло критериям приемлемости.

Прецизионность между приборами с использованием приборов VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (внутриплатформенная воспроизводимость), Прецизионность между приборами VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (межплатформенная воспроизводимость)

Исследование прецизионности между приборами (внутриплатформенная воспроизводимость) проводилось с использованием системы детекции (OptiView DAB IHC Detection Kit) на трех иммуноштейнерах автоматических VENTANA BenchMark ULTRA, на трех иммуноштейнерах автоматических VENTANA BenchMark XT и на трех иммуноштейнерах автоматических VENTANA BenchMark GX.

В данном исследовании было использовано 10 уникальных случаев ткани НМРЛ от разных пациентов. Также каждое стекло было окрашено отрицательным контролем Rabbit Ig (Confirm Neg. Contr. Rabbit Ig). Оценка интенсивности окрашивания проводилась по шкале 0-3+ в соответствии с критериями, перечисленными в Таблице 1, оценка приемлемости фоновых окрашивания по критериям, приведенным в Таблице 2.

VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody общую процентную согласованность (OPA) 100,0% (59/59) с 95% ДИ (93,9 – 100,0) с использованием трех приборов VENTANA BenchMark ULTRA, что удовлетворяло критериям приемлемости.

VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody общую процентную согласованность (OPA) 100,0% (60/60) с 95% ДИ (94,0 – 100,0) с использованием трех приборов VENTANA BenchMark XT, что удовлетворяло критериям приемлемости.

VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody общую процентную согласованность (OPA) 100,0% (60/60) с 95% ДИ (94,0 – 100,0) с использованием трех приборов VENTANA BenchMark GX, что удовлетворяло критериям приемлемости.

Исследование прецизионности между приборами (межплатформенная воспроизводимость) проводилось с использованием системы детекции (OptiView DAB IHC Detection Kit) на иммуноштейнерах автоматических VENTANA BenchMark ULTRA, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark GX.

В данном исследовании было использовано 10 уникальных случаев ткани НМРЛ от разных пациентов. Также каждое стекло было окрашено отрицательным контролем Rabbit Ig (Confirm Neg. Contr. Rabbit Ig). Оценка интенсивности окрашивания проводилась по шкале 0-3+ в

соответствии с критериями, перечисленными в Таблице 1, оценка приемлемости фоновых окрашивания по критериям, приведенным в Таблице 2. VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody общую процентную согласованность (OPA) 96,6% (173/179) с 95% ДИ (89,9 – 100,0) с использованием иммуноштейнеров автоматических VENTANA BenchMark ULTRA, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark GX, что удовлетворяло критериям приемлемости.

Критерии приемлемости:

- Межпартитная прецизионность: Интенсивность окрашивания не должна отличаться более, чем на 0,5 балла, от средней оценки для различных проектных партий как минимум у 90% испытуемых образцов. VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody должен демонстрировать одинаковую общую процентную согласованность как минимум у 90% испытуемых образцов для различных проектных партий.

- Прецизионность цикла на аппарате VENTANA BenchMark ULTRA: Интенсивность окрашивания не должна отличаться более, чем на 0,5 балла, от средней оценки по одному и тому же образцу ткани как минимум у 90% образцов, испытуемых в течение 27 циклов. VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody должен демонстрировать одинаковую общую процентную согласованность как минимум у 90% испытуемых образцов в течение 27 циклов.

- Межсуботная прецизионность на аппарате VENTANA BenchMark ULTRA: Интенсивность окрашивания не должна отличаться более, чем на 0,5 балла, от средней оценки по одному и тому же образцу ткани как минимум у 90% образцов, испытуемых в течение трех непоследовательных дней. VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody должен демонстрировать одинаковую общую процентную согласованность как минимум у 90% испытуемых образцов в течение трех непоследовательных дней.

- Прецизионность между приборами с использованием приборов VENTANA BenchMark GX, (внутриплатформенная воспроизводимость): Интенсивность окрашивания не должна отличаться более, чем на 0,5 балла, от средней оценки по одному и тому же образцу ткани как минимум у 90% испытуемых образцов между тремя приборами одной и той же платформы. VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody должен демонстрировать одинаковую общую процентную согласованность как минимум у 90% испытуемых образцов между тремя приборами одной и той же платформы.

- Прецизионность между приборами с использованием приборов VENTANA BenchMark XT, (внутриплатформенная воспроизводимость): Интенсивность окрашивания не должна отличаться более, чем на 0,5 балла, от средней оценки по одному и тому же образцу ткани как минимум у 90% испытуемых образцов между тремя приборами одной и той же платформы. VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody должен демонстрировать одинаковую общую процентную согласованность как минимум у 90% испытуемых образцов между тремя приборами одной и той же платформы.

- Прецизионность между приборами с использованием приборов VENTANA BenchMark ULTRA, (внутриплатформенная воспроизводимость): Интенсивность окрашивания не должна отличаться более, чем на 0,5 балла, от средней оценки по одному и тому же образцу ткани как минимум у 90% испытуемых образцов между тремя приборами одной и той же платформы. VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody должен демонстрировать одинаковую общую процентную согласованность как минимум у 90% испытуемых образцов между тремя приборами одной и той же платформы.

- Прецизионность между платформами VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (межплатформенная воспроизводимость): Интенсивность окрашивания не должна отличаться более, чем на 0,5 балла, от средней оценки по одному и тому же образцу ткани как минимум у 90% испытуемых образцов в трех приборах на одной платформе. VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody должен демонстрировать одинаковую общую процентную согласованность как минимум у 90% испытуемых образцов в трех приборах на одной платформе.

Диагностическая чувствительность/специфичность

Была проведена оценка результатов окрашивания при помощи VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody в сравнении

Приложение 1 (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.) V1.1

с ROS1 (D4D6) Rabbit Monoclonal Primary Antibody производства «Целл Сигналинг Технолоджи» (Cell Signaling Technology), на четырех микромассах ткани (MMT). MMT включали ткани с немелкоклеточным раком легкого (HMPЛ), холангиокарциномой и меланомой. Предметные стекла оценивали на предмет соответствия окрашивания, сравнение проводили между VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody и ROS1 (D4D6) Rabbit Monoclonal Primary Antibody при окрашивании на иммунофлуоресценции автоматическим VENTANA BenchMark ULTRA с использованием оптимизированного протокола для определения белка ROS1 (SP384) с помощью системы детекции (OptiView DAB IHC Detection Kit). Каждое стекло MMT в одной повторности окрашивали отрицательным контролем Rabbit Ig (Confirm Neg. Contr. Rabbit Ig).

VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody демонстрировало общую процентную согласованность (OPA) 98,2% (270/275) с 95% ДИ (95,8-99,2%), что удовлетворяло критерию приемлемости.

VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody демонстрировало 100,0% приемлемое фоновое окрашивание (275/275) с 95% ДИ (98,6-100,0%), что удовлетворяло критерию приемлемости.

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ ИГХ И FISH (дополнение)

В данном аналитическом исследовании сравнивали данные, полученные при окрашивании образцов с помощью VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (ИГХ-иммуногистохимическое окрашивание) и данные, полученные при тестировании методом флуоресцентной гибридизации in situ (FISH). Поскольку это характеризационное исследование, критерии приемлемости отсутствуют.

Всего в данном исследовании было использовано 120 образцов HMPЛ. Также были окрашены предметные стекла, содержащие положительные и отрицательные клеточные линии.

Были исследованы четыре оцениваемых параметра. Параметр «≥2,0+ окрашивания в цитоплазме >30% или ≤30% всех опухолевых клеток» продемонстрировал комбинированную самую высокую корреляцию в положительной процентной согласованности (PPA) и общей процентной согласованности (OPA) с методом FISH применительно к оцениваемым параметрам. Результаты представлены в таблице 4 (основная часть инструкции).

Упаковка

VENTANA ROS1 (SP384) поставляется в пластиковой дозаторе, упакованном в коробку из мелованной бумаги. Один дозатор содержит достаточное количество реагента для проведения 50 анализов.

На каждой упаковочной коробке находится магнитная «кнопка памяти», которая содержит всю необходимую информацию о реагенте.

Более подробно о «кнопке памяти» читайте в Руководстве по эксплуатации к иммунофлуоресценции автоматическим серии Ventana BenchMark.

Первичная упаковка - дозатор.

Материал: полипропилен

Вес: 20,5 гр (± 0,2 гр)

Объем: 34,1 мл (± 0,2 мл)

Размеры дозатора:

Высота: 126,7 мм (± 2 мм)

Длина: 62,7 мм (± 1 мм)

Ширина: 37,9 мм (± 1 мм)

Толщина стенок: 0,98 мм (± 0,03 мм)

Вторичная упаковка: коробка из мелованной бумаги (размеры (длина x ширина x высота) не более (66,7 x 54,0 x 149,2) мм, магнитная «кнопка памяти» (диаметр не более 17 мм).

Упаковка изделия обеспечивает достаточную защиту от механических, климатических воздействий при условии соблюдения правил транспортировки.

Маркировка

Производитель использует следующие символы и знаки:

Символ	Определение	Символ	Определение
	Смотрите инструкцию по применению		Для диагностики in vitro
	Каталожный номер		Код партии
	Производитель		Использовать до (срок годности)
	СЕ-маркировка		Опасность для здоровья
	Содержит достаточно для n-исследований		Пригоден для вторичной переработки
	Температурные ограничения		QR-код
	Предупреждения		Глобальный номер предмета торговли
	Дата изготовления		Продается только по рецепту

Маркировка дозатора

Логотип производителя

Наименование изделия

Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)

Каталожный номер

Код партии

Срок годности (использовать до)

Глобальный номер предмета торговли

Количество исследований, которые можно сделать

Температурные ограничения

Штрих-код

QR-код

СЕ-маркировка

Предупреждение для диагностики in vitro

Знак «Опасность для здоровья»

Смотрите инструкцию по применению

Название и адрес производителя

Маркировка картонной упаковки

Логотип производителя

Наименование изделия

Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)

Каталожный номер

Код партии

Дата производства

Срок годности

Количество тестов, которые можно сделать

Температурные ограничения

Предупреждение для диагностики in vitro

СЕ-маркировка

Штрих-код

Производственный код

QR-код

Глобальный номер предмета торговли

Полное название, адрес, телефон производителя

Ссылка на электронную инструкцию на русском языке

Страна происхождения

Обозначение, что пригоден для вторичной переработки

Знак «Опасность для здоровья»

Знак «Предупреждения»

Знак «Продается только по рецепту»



-H317 – Может вызывать аллергическую кожную реакцию.

Приложение 1 (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.) V1.1

- P261 – Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/паров/распылителей жидкости.
- P272 – Не выносить загрязненную одежду с рабочего места.
- P280 – Пользоваться защитными перчатками/защитной одеждой/средствами защиты глаз/лица.
- P333+P313 – При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться к врачу.
- P362+P364 – Снять загрязненную одежду и промыть ее перед повторным использованием.
- P501 – Удалить содержимое/контейнер в ...

Маркировка на русском языке

Первичное кроличье моноклональное антитело VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody для качественного обнаружения белка ROS1 в диагностике in vitro к иммуногистохимическим автоматическим серии BenchMark

Регистрационное удостоверение № _____ от _____
Срок годности см. на упаковке. Дату производства см. на упаковке.
Температура хранения см. на упаковке. Номер лота см. на упаковке
Производитель: «Roche Diagnostics GmbH» ("Рош Диагностика ГмбХ"), Sandhofer Strasse 116, D- 68305 Mannheim, Germany, Германия
Изделие предназначено для диагностики in vitro
Уполномоченный представитель производителя на территории РФ:
Общество с ограниченной ответственностью «Рош Диагностика Рус» (ООО «Рош Диагностика Рус»), 107031, Москва, Трубная площадь, д.2
Тел: +7 495 229-69-99, факс: +7 495 229-62-64, E-mail: moscow_reception_dia@roche.com

Кат. номер 08404160001 (790-6087)

Условия транспортировки

Перед отправкой с завода продукт проходит контрольные проверки. Международные символы на упаковке и специальные инструкции по обращению указывают транспортировщику, как следует обращаться с этим продуктом. При получении продукта внимательно осмотрите упаковку. При наличии любых следов неправильного обращения или повреждения немедленно обратитесь в отдел обслуживания клиентов компании «Roche Diagnostics GmbH» ("Рош Диагностика ГмбХ") или к региональному поставщику.

Транспортировка осуществляется всеми видами транспорта в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на каждом виде транспорта. Температура при транспортировке 2-8°C.

Требования к охране окружающей среды

Медицинское изделие при использовании, транспортировке и хранении не оказывает негативного воздействия на человека и окружающую среду при соблюдении условий применения и мер предосторожности, указанных в инструкции.

Стерилизация

Изделие поставляется нестерильным. Не подлежит повторному использованию и/или стерилизации пользователем.

Утилизация

Во избежание возможного загрязнения окружающей среды Первичное кроличье моноклональное антитело VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody для качественного обнаружения белка ROS1 в диагностике in vitro к иммуногистохимическим автоматическим серии BenchMark с истекшим сроком годности или использованные дозаторы, а также отходы, использованных реагентов, должны утилизироваться в соответствии с местными государственными и/или больничными нормативными требованиями. Правильное уничтожение и утилизация будет поддерживать сохранение природных ресурсов и содействовать защите здоровья человека и окружающей среды.

Утилизация отходов упаковки.

Упаковка продукции «Roche Diagnostics GmbH» ("Рош Диагностика ГмбХ") разработана с целью сведения к минимуму загрязнения окружающей среды при сохранении целостности продукта во время

транспортировки и хранения. Упаковочные отходы должны утилизироваться в местных пунктах сбора упаковки, в специализированные контейнеры, расположенные в муниципалитетах.

Утилизация изделия с истекшим сроком годности и отходов, использованных реагентов.

При утилизации и уничтожении изделий с истекшим сроком годности, а также отходов, использованных реагентов, необходимо действовать в соответствии с гигиеническими нормативами и следовать официальным инструкциям по утилизации и уничтожению потенциально инфекционного и химического материала, принятым на территории Российской Федерации и в данном ЛПУ.

Ключевыми вопросами в стратегии управления отходами является оптимизация тактик и подходов к конечным продуктам, а также минимизация возможного загрязнения окружающей среды.

Более подробную информацию можно получить у производителя / уполномоченного представителя производителя.

Утилизация должна проводиться в соответствии с местными нормами законодательства, а также в соответствии с протоколами медицинского учреждения, где используются данные медицинские изделия.

Не утилизировать совместно с бытовыми отходами.

Гарантийные обязательства

Производитель (компания «Roche Diagnostics GmbH» ("Рош Диагностика ГмбХ")) гарантирует, что Первичное кроличье моноклональное антитело VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody для качественного обнаружения белка ROS1 в диагностике in vitro к иммуногистохимическим автоматическим серии BenchMark соответствуют спецификациям, заявленным на этикетке. Производитель несет ответственность за работу изделий только в случае их правильного использования в соответствии с инструкцией, а также соблюдения правил хранения и транспортировки.

Производитель гарантирует стабильность VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody до окончания срока годности при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, указанных в инструкции.

Производитель гарантирует безопасность медицинского изделия, отсутствие недопустимого риска причинения вреда жизни, здоровью человека и окружающей среде при использовании VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody по назначению в условиях, предусмотренных производителем.

Изделия должны использоваться только до истечения срока годности, который указан на упаковке.

НАСТОЯЩАЯ ОГРАНИЧЕННАЯ ГАРАНТИЯ ЗАМЕНЯЕТ СОБОЙ ИНЫЕ ГАРАНТИИ, ОДНОЗНАЧНО ВЫРАЖЕННЫЕ ИЛИ ПОДРАЗУМЕВАЕМЫЕ, ВКЛЮЧАЯ ЛЮБУЮ ПОДРАЗУМЕВАЕМУЮ ГАРАНТИЮ ПРИГОДНОСТИ ДЛЯ КОММЕРЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИЛИ ДЛЯ ЛЮБОЙ ИНОЙ ЦЕЛИ. КОМПАНИЯ ROCHE DIAGNOSTICS GmbH НЕ НЕСЕТ ОТВЕТСТВЕННОСТИ ЗА СЛУЧАЙНЫЕ, НЕПРЯМЫЕ, СПЕЦИАЛЬНЫЕ ИЛИ КОСВЕННЫЕ УБЫТКИ.

По вопросам, связанным с качеством изделий, а также с их работой, нужно обращаться к Уполномоченному представителю производителя на территории РФ:

Общество с ограниченной ответственностью «Рош Диагностика Рус» (ООО «Рош Диагностика Рус»), 107031, Москва, Трубная площадь, д.2, тел.: (495) 229-69-99, факс: (495) 229-62-64

Петензии по качеству (рекламация)

Порядок предъявления рекламаций и ответов на них регулируется гражданским правом. Рекламация может предъявляться только по таким вопросам, которые не являлись предметом приемки товара, произведенной в соответствии с условиями договора.

По всем вопросам, связанным с обслуживанием изделия, необходимо обратиться к Уполномоченному представителю производителя.

В случае рекламации обращаться к производителю и / или уполномоченному представителю производителя.

Уполномоченный представитель производителя на территории РФ:

Приложение 1 (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.) V1.1

Общество с ограниченной ответственностью «Рош Диагностика Рус» (ООО «Рош Диагностика Рус»), 107031, Москва, Трубная площадь, д.2, тел.: (495) 229-69-99, факс: (495) 229-62-64

Примечание:

Антитело VENTANA ROS1 (SP384) предназначено для использования со следующими иммуноштейнерами автоматическими серии VENTANA BenchMark:

- BenchMark GX (Иммуногистостейнер автоматический BenchMark GX с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2011-08976 от 27.01.2017 г.))
- BenchMark XT (Иммуноштейнер автоматический Ventana BenchMark XT с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05251 от 28.01.2016 г.))
- BenchMark ULTRA (Иммуноштейнер автоматический Ventana BenchMark ULTRA с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05250 от 28.01.2016 г.)).

Рекомендуемые материалы для использования:

1) Отрицательный контроль Rabbit Ig в составе: Антитело, не реагирующее ни с одним известным антигеном человека, в растворе солевого фосфатного буфера (Confirm Neg. Contr. Rabbit Ig (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2011-11166 от 30.12.2011 г.))

2) Система детекции (OptiView DAB IHC Detection Kit) (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2012-12679 от 17.08.2012 г.)

3) Hematoxylin II (Гистологический краситель Гематоксилин II ≤ 60%) (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.)

4) Bluing Reagent (Реагент для придания окраске синего цвета) (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.)

*1 Статья: «Анализ ROS1-положительных опухолей рецепторной тирозинкиназы при немелкоклеточном раке легкого: идентификация слияния FIG-ROS1». (авт.: Виктория М. Римкунас, Кэтрин Е. Кросби, Дайцян Ли, Йеронг Ху, Меган Е. Келли, Тинь-Лэй Ку, Дженнифер С. Мэк, Мэтью Р. Силвер, Синьминь Чжоу и Герберт Хаак) «Клинические исследования рака»

2 Статья: «Рецептор тирозин киназы c-ros контролирует регионализацию и дифференцировку эпителиальных клеток в придатке яичка» (авт.: Ева Зонненберг-Ритмахер, Барбара Вальтер, Дитер Райтмахер, Штефани Гёдке и Кармен Бирхмайер) «Гены и развитие»

3 Статья: «Рецепторные тирозинкиназы при развитии почек» (авт.: Жэньфан Сун, Самир С. Эль-Дахр и Игорь В. Есипов) «Журнал сигнальной трансдукции»

4 Статья: «Иммуногистохимическое исследование ROS1 для выявления аденокарцином легкого с перестройками ROS1» (авт.: Линетт М. Шолль, дипломированный врач, Хизер Сун, бакалавр наук, Мохит Бутани, бакалавр наук, Чэншэн Чжан, дипломированный врач, кандидат наук, Чарльз Ли, кандидат наук, Паси А. Йенне, дипломированный врач, кандидат наук и Скотт Дж. Родиг, дипломированный врач, кандидат наук) «Американский журнал хирургической патологии».

5 Статья: «Экспрессия и транслокации ROS1 при немелкоклеточном раке легкого: клинико-патологический анализ 1478 случаев» (авт.: Арне Варт, Томас Мьюли, Хендрик Динеманн, Бенджамин Гопперт, Альбрехт Штенцингер, Филипп А. Шнабель, Петер Ширмахер, Роланд Пенцель и Вилько Вайхерт) «Гистопатология»

6 Статья: «Карта тканей протеома человека» (авт.: Матиас Улен и соавт.) «Наука»

7 Статья: «Исследование аномалий 3-й хромосомы с помощью полногеномного анализа однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) доброкачественных образований, опухолей с низким злокачественным потенциалом и серозных опухолей яичников низкой степени злокачественности» (авт.: Эшли Х.Берч, Сузанна Л. Арканд, Кэтрин К. Орос, Курош Рахими, Э. Кэвин Уоттерс, Диане Провенчер, Селиа М. Гринвуд, Анна-Мария Мес-Массон, Патрисия Н.Тонин) «ПЛОС Уан»

8 Статья: «Экспрессия ROS1 в инвазивной протоковой карциноме молочной железы, связанная с пролиферативной активностью.» (авт.: Минсеоб Эом, Сайамаа Лхагвадордж, Сун Су О, Аири Хан, и Кван Ха Пак) «Медицинский журнал Университета Ёнсе»

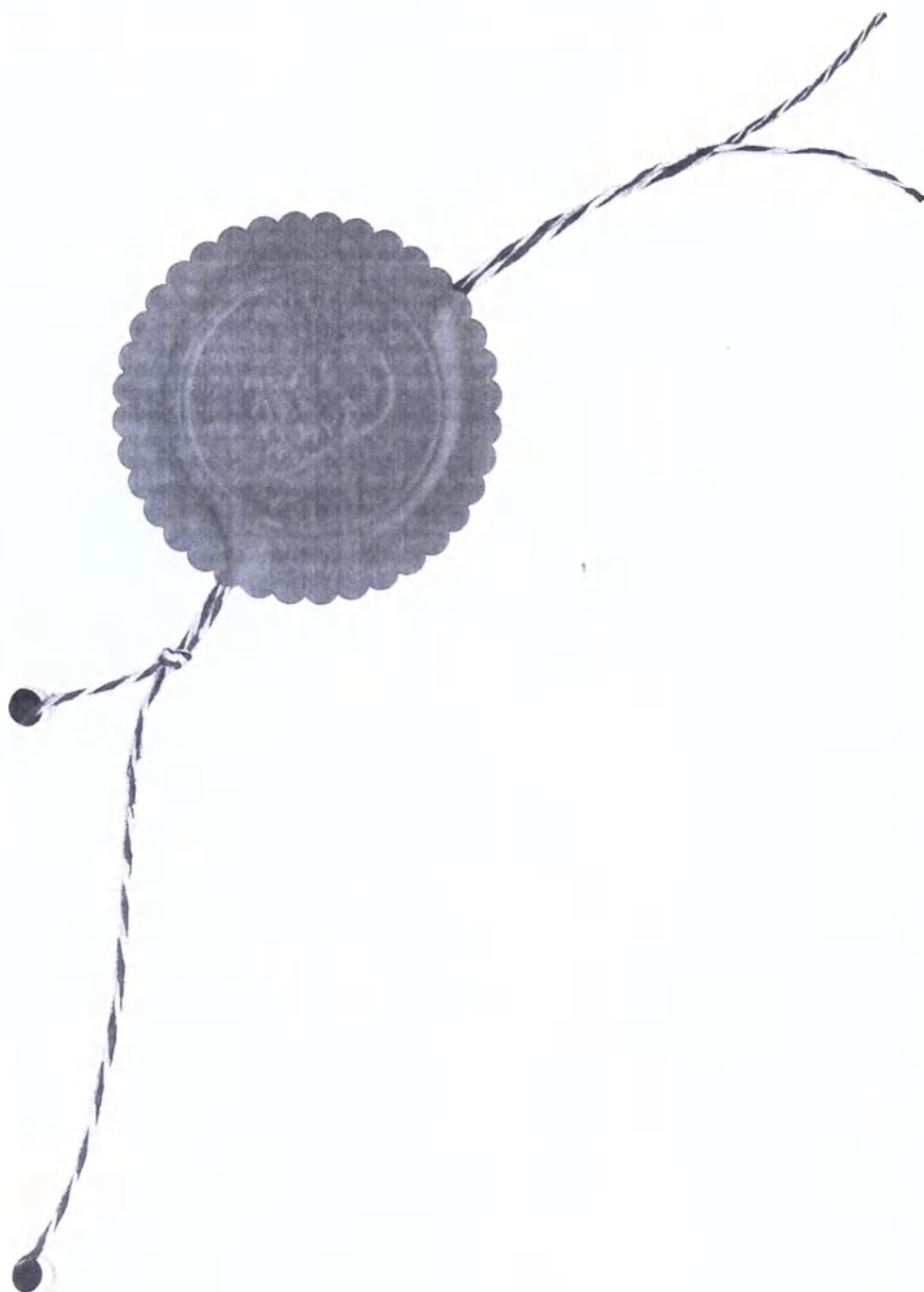
9 Статья: «Клиническая значимость выявления перестроек ROS1 при распространенной плоскоклеточной карциноме» (авт.:

Сесилия Гибелин, Виржини Аврийон, Арно де ла Фушардьерс, Энн Мак Леер-Флорин, Сильви Лантюжюльс, Жером Файет) «Рак легких»

10 Статья: «Слияния RET, ROS1 и ALK при раке легких» (авт.: Кенго Такеучи, Манабу Сода, Юки Тогаси, Рицуро Сузуки, Сейджи Саката, Сатоко Хатано, Рейми Асака, Вакако Хаманако, Хиронори Ниномия, Хирофуми Уэхара, Юн Лим Чои, Юкитоси Сато, Саказ Окомура, Кен Накагава, Хироюки Мано и Юйчи Исигава) «Естественная медицина»

11 Статья: «Слияния генов киназы в определенных подмножествах меланомы.» (авт.: Жаклин Тернер) «Исследование пигментных клеток и меланомы»

12 Статья: «Клинико-патологическое значение экспрессии ROS1 при внутрипеченочной холангиокарциноме.» (авт.: Кьонг-Хун Ли, Кёнг-Бун Ли, Тэ-Йонг Ким, Сэе-Вон Хань, До-Йон О, Сок-Ах Им, Тэ-Ю Ким, Нам-Джун Йи, Кванг-Вун Ли, Кьонг-Сук Сух, Джа-Джун Джанг и Юнг-Джу Банг) «БиЭмСи Рак».



[Перевод с немецкого и английского языков на русский язык]

[На бланке нотариальной конторы «Нотариальная контора Зеелер энд Д-р. Феллмет»]

«Нотариальная контора Зеелер энд Д-р. Феллмет» (Seeler & Dr. Fellmeth) • Q7, 23 • 68161 МАННХАЙМ

Удостоверение копии

Настоящим удостоверяется соответствие приведенной ниже фотокопии представленному мне оригиналу.

г. Маннхайм, [Штамп: 19 января 2021 г.]

/подпись/

Клаудия Зеелер (Claudia Seeler)
Нотариус г. Маннхайм

[Печать:

Клаудия Зеелер (Claudia Seeler)
Нотариус в г. Маннхайм]

[На бланке компании «Рош Диагностикс ГмбХ»]

[Логотип компании «Вентана Медикал Системс, Инк.»]

[Логотип компании «Рош»]

Вер. 1.1

[Заголовок документа «Инструкция по применению на медицинское изделие „Первичное кроличье моноклональное антитело VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody для качественного обнаружения белка ROS1 в диагностике in vitro к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark“ производства компании „Рош Диагностикс ГмбХ“, Сандхофер Штрассе 116, D-68305 Маннхайм, Германия», представленный на русском языке.]

РАЗРАБОТЧИК:

«Вентана Медикал Системс, Инк.» (Ventana Medical Systems, Inc.), 1910 Ист Инновейшн Парк Драйв, Тусон, Аризона 85755, США (1910 East Innovation Park Drive, Tucson, AZ 85755 USA)

Утверждено

«Рош Диагностикс ГмбХ»

(Roche Diagnostics GmbH)

Дата: 19 января 2021 г.

/подпись/

Андреа Вебер (Andrea Weber)

Руководитель проекта по международно-правовому регулированию

Штамп:

[Штамп:

«Рош Диагностикс ГмбХ»

(Roche Diagnostics GmbH)

Сандхофер Штрассе 116

68305 Маннхайм

(Sandhofer Straße 116

68305 Mannheim)]

2021 г.

«Рош Диагностикс ГмбХ» (Roche Diagnostics GmbH); Сандхофер Штрассе 116; D-68305 Маннхайм (Sandhofer Strasse 116; D-68305 Mannheim); телефон: +49-621-759-0; телефакс: +49-621-759-2890

Юридический адрес: Маннхайм — регистрационный суд: Участковый суд Маннхайма HRB 3962, Руководство: Клаус Хаберда (Claus Haberda), Андреас Шмитц (Andreas Schmitz) — председатель наблюдательного совета: Д-р Томас Шинекер (Dr. Thomas Schinecker)

[Далее следует текст документа «Инструкция по применению на медицинское изделие „Первичное кроличье моноклональное антитело VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody для качественного обнаружения белка ROS1 в диагностике in vitro к иммуноштейнерам автоматическим серии BenchMark“», представленного на русском языке.]

1. Варелла-Гарсия М., Йошида А. «Тестирование гена ROS1 методом флуоресцентной гибридизации in situ. Атлас Международной ассоциации по изучению рака легких по тестированию ALK и ROS1 у пациентов с раком легких». Ред. Цао М., Ред. Хирш Ф., Ред. Ятабе Ю. 2-е издание. Оропа, штат Колорадо, США. «Эдиториал ЭрИкс Пресс»; 2016 г. 55-61. Печать (Varella-Garcia M, Yoshida A. ROS1 Testing with FISH. IASLC Atlas of ALK and ROS1 Testing in Lung Cancer. Ed. Tsao M, Ed. Hirsch F, Ed. Yatabe Y. 2nd Edition. Aurora, CO, USA. Editorial Rx Press; 2016.55-61. Print).
2. Чарест А., Лэйн К., МакМахон К. и др. «Слияние белка FIG с рецепторной тирозинкиназой ROS в глиобластоме с хромосомной интерстициальной делецией (6)(q21q21)». Гены, хромосомы и рак, 2003 г.; 37: 58-71 (Charest A, Lane K, McMahon K, et al. Fusion of FIG to the receptor tyrosine kinase ROS in a glioblastoma with an interstitial del(6)(q21q21). Genes Chromosomes Cancer 2003;37:58-71).
3. Рикова К., Го А., Зенг К. и др. «Глобальная оценка передачи сигналов фосфотирозина выявляет онкогенные киназы при раке легких». Клетка, 2007 г.; 131:1190-120 (Rikova K, Guo A, Zeng Q, et al. Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. Cell 2007;131:1190-120).
4. Ли Дж., Ли С.Е., Канг С.Ю. и др. «Определение гена ROS1 при аденокарциноме желудка». Рак, 2013 г.; 119: 1627-1635 (Lee J, Lee SE, Kang SY, et al. Identification of ROS1 rearrangement in gastric adenocarcinoma. Cancer 2013;119:1627-1635).
5. Гу Т.Л., Дэн Х., Хуан Ф. и др. «Исследование передачи сигнала тирозинкиназы выявляет слияние киназы ROS при холангиокарциноме». ПLoC Уан, 2011 г.; 6: e15640-e15640 (Gu TL, Deng X, Huang F, et al. Survey of tyrosine kinase signaling reveals ROS kinase fusions in human cholangiocarcinoma. PLoS One 2011;6:e15640-e15640).
6. Бирч А.Х., Арканд С.Л., Орос К.К. и др. «Аномалии хромосомы 3, изученные методом полногеномного анализа SNP доброкачественных, пограничных и низкоккачественных серозных опухолей яичников». ПLoC Уан, 2011 г.; 6: e28250-e28250 (Birch AH, Arcand SL, Ores KK, et al. Chromosome 3 anomalies investigated by genome wide SNP analysis of benign, low malignant potential and low grade ovarian serous tumours. PLoS One 2011;6:e28250-e28250).
7. Карсон Ф., Хладик С. «Гистотехнология: материал для самостоятельного изучения, 3-е издание». Гонконг: Издательство Американского общества клинической патологии; 2009 г. (Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009).
8. Рош П.С., Хси Э.Д. «Иммуногистохимия — принципы и достижения. Руководство по клинической лабораторной иммунологии, 6-е издание». Отв.: Роуз Н.Р., ред. «АСМ Пресс»; 2002 г. (Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002).

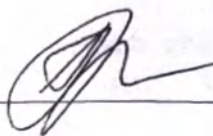
[Далее следует текст документа «Приложение 1 к инструкции по применению на медицинское изделие „Первичное кроличье моноклональное антитело VENTANA ROS1 (SP384) Rabbit Monoclonal Primary Antibody для качественного обнаружения белка ROS1 в диагностике in vitro к иммуноштейнерам автоматическим серии BenchMark“», представленного на русском языке.]

[Рельефная печать:

Клаудия Зеелер (Claudia Seeler)

Нотариус в г. Маннхайм]

Перевела Громова Александра Дмитриевна



Российская Федерация

Город Москва

Двадцать второго января две тысячи двадцать первого года

Я, Король Виктория Алексеевна, нотариус города Москвы, свидетельствую подлинность подписи переводчика Громовой Александры Дмитриевны.

Подпись сделана в моем присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре: №08/82-н/77-2021- 8-383

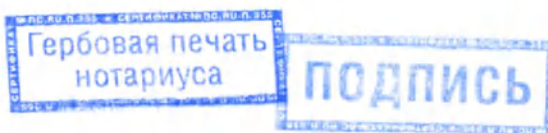
Уплачено за совершение нотариального действия: 400 руб. 00 коп.



В.А. Король

Пронумеровано, пронумеровано и скреплено печатью 18 лист(-а,-ов)

В.А. Король



Российская Федерация
Город Москва

Двадцать второго января две тысячи двадцать первого года

Я, Король Виктория Алексеевна, нотариус города Москвы, удостоверяю верность копии с представленного мне документа.

Зарегистрировано в реестре: N 08/82 от 15.05.2014

Уплачено за совершение нотариального действия:

8-587

1 200 руб.

В.А. Король



Всего прошнуровано,
пронумеровано и скреплено
печатью 22 лист(-а,-ов)