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

NOTARE SEELER & DR. FELLMETH · Q7, 23 · 68161 MANNHEIM · UST-IDNR. DE308834223
TEL +49 621 860 862 - 0 · FAX +49 621 860 862 - 89 · KANZLEI@NOTARIAT-Q7.DE · WWW.NOTARIAT-Q7.DE

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

CINtec® PLUS

Roche

V1.1

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

(INSTRUCTION FOR USE)

НА МЕДИЦИНСКОЕ ИЗДЕЛИЕ

Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit для одновременного качественного определения белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах иммуноцитохимическим методом в диагностике in vitro к иммуностейнерам 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

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

CINtec® *PLUS*

Roche

CINtec® *PLUS* Cytology Kit

REF 605-100

06889565001

IVD Σ 100

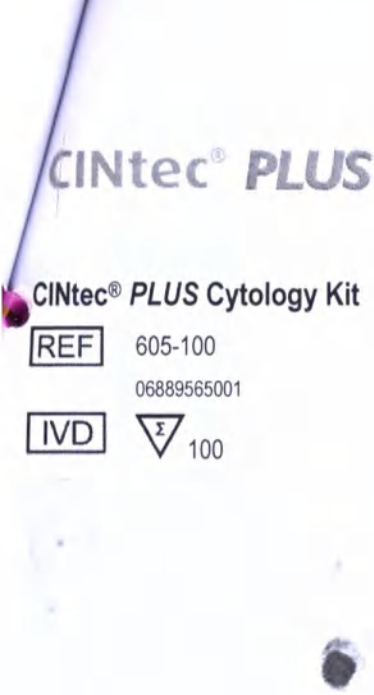


Рисунок 1. Цервикальная эпителиальная p16^{INK4a} (коричневое цитоплазматическое окрашивание) и Ki-67 (красное окрашивание ядер) положительная клетка

НАЗНАЧЕНИЕ

CINtec *PLUS* Cytology Kit представляет собой набор реагентов для проведения иммуноцитохимического анализа, направленный на одновременное качественное определение белков p16^{INK4a} и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах. Он предназначен для использования в качестве средства, позволяющего выявить цервикальные интраэпителиальные поражения высокой степени выраженности у женщин в популяции скринингового исследования, а также в подгруппах пациентов с цитологическим результатом PAP-теста в категории ASC-US (атипичные клетки плоского эпителия неясного значения) или LSIL (плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени) или у пациентов с положительными результатами ВПЧ-теста высокой степени риска.

Интерпретация результатов теста может проводиться только сертифицированным специалистом во взаимосвязи с данными истории болезни пациента и проведенных дополнительных диагностических тестов.

Данный продукт предназначен для диагностики *in vitro* (IVD).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

В эукариотических клетках контроль клеточного деления осуществляется с помощью комплексной модели контролируемой экспрессии и посттрансляционных модификаций белков, регулирующих клеточный цикл. Белок p16^{INK4a} играет важную роль в данном механизме регуляции цикла эукариотических клеток. Он является частью pRb-опосредованного контроля белком ретинобластомы перехода в фазу G1/S и инициирует задержку клеточного цикла в процессах клеточной дифференциации. Таким образом, p16^{INK4a} оказывает антипролиферативный эффект при обычном развитии клеточного цикла. В окончательно дифференцированных эпителиальных клетках p16^{INK4a} экспрессия подавляется до уровней, как правило, не выявляемых иммуноцитохимическими методами [1].

Ki-67 представляет собой связанный с пролиферацией белок, который обнаруживается исключительно в ядре пролиферирующих клеток. Детальные анализы клеточного цикла показали, что антиген Ki-67 присутствует в обнаруживаемых уровнях на всех фазах пролиферации клеток, а также при митотическом делении, в то время как неактивные или дремлющие клетки в фазе G0 не экспрессируют антиген [2].

В связи с тем, что клетки с повышенной экспрессией p16^{INK4a} могут активно пролиферировать только при нарушении механизма контроля клеточного цикла, экспрессия маркеров p16^{INK4a} и Ki-67 в одной клетке при нормальных физиологических условиях взаимоисключается. Таким образом, сопутствующая экспрессия p16^{INK4a} и Ki-67 в отдельных клетках может использоваться как индикатор нарушения регуляции контроля клеточного цикла в таких клетках.

При цервикальной неоплазии отмечается значительное повышение экспрессии p16^{INK4a} в результате функциональной инактивации pRB-опосредованного онкобелком E7 вируса папилломы человека (HR-HPV) высокой степени риска [3;4]. Так как E7 требуется для установления и поддержания злокачественного фенотипа при HPV-ассоциированных предраковых и раковых патологических изменениях, повышенная экспрессия p16^{INK4a} напрямую связана с онкогенной активностью различных типов HR-HPV, и поэтому предлагается считать ее суррогатным маркером трансформации инфекций HPV [1;5].

В ходе многочисленных исследований был проведен анализ и показана клиническая применимость p16^{INK4a} иммуноокрашивания в гистологических исследованиях [1;3;5;7;8;4;9;10] и цитологических исследованиях [5;11;12]. В различных исследованиях показано, что связанная интерпретация образцов на стеклах, окрашенных с целью определения p16^{INK4a}, значительно увеличивает согласованность заключений различных квалифицированных специалистов, а также диагностическую точность при определении CIN2 и патологических изменений высокой степени выраженности в образцах цервикальных тканей для цитологических исследований [6;10;12]. В цитологических исследованиях показано, что иммуноокрашивание с целью определения p16^{INK4a} является важным инструментом эффективной сортировки цитологических случаев, выделенных в категории ASC-US или LSIL, с уровнями чувствительности для определения лежащих в основе CIN2 или более патологических изменениях, сходных при тестировании на "ВПЧ", но при со значительно высокой специфичностью [12]. Более того, обнаружение p16^{INK4a} цитологических образцах считается значимым вспомогательным маркером для сортировки тест положительными результатами у женщин на HPV высокого онкогенного риска при проведении скринингового исследования рака шейки матки [11;13].

Фактически при всех цервикальных интраэпителиальных патологических изменениях высокой степени выраженности (таких как CIN2, CIN3 или выше) наблюдается повышенная экспрессия p16^{INK4a} [3;6;8]. Так как значительная часть клеток эпителия при патологических изменениях CIN также демонстрирует пролиферативную активность, определение цервикальных эпителиальных клеток, одновременно экспрессирующих p16^{INK4a} и Ki-67, может использоваться как индикатор статуса трансформации клеток. Следовательно, подход, основанный на оценке цервикальных образцов для цитологических исследований с учетом наличия отдельных цервикальных эпителиальных клеток, проявляющих положительный результат на двойное окрашивание для выявления p16^{INK4a} и Ki-67, обеспечивает как высокую чувствительность, так и специфичность при определении предраковых состояний и раковых заболеваний [14–29].

ПРИНЦИП ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

CINtec *PLUS* Cytology Kit включает набор реагентов для одновременного иммуноцитохимического выявления белков p16^{INK4a} и Ki-67 в цитологических образцах, полученных из шейки матки. Белки обнаруживаются с помощью готового к применению набора первичных моноклональных антител, ссодержащего моноклональные мышиные антитела, направленные против белка p16^{INK4a} (клон E6H4) и первичные рекомбинантные кроличьи антитела Ki-67 (клон 274-11 AC3). На основании предварительной обработки клеток, ингибирования активности эндогенной пероксидазы и инкубации с коктейлем антител в анализе применяются две готовые к применению системы обнаружения, оптимизированные для использования на цервикальных образцах для цитологических исследований:

- козье анти-мышиное вторичное антитело, ковалентно связанное с HQ гаптенами (собственный гаптен) и anti-HQ гаптеном , конъюгированное с пероксидазой хрена (HRP) третичное антитело, оптимизированное для обнаружения клона моноклонального мышиного антитела E6H4;
- козье анти-кроличье вторичное антитело, ковалентно связанное с NP гаптенами (собственный гаптен) и anti-NP гаптеном, конъюгированное с щелочной фосфатазой (AP) третичное антитело, оптимизированное для обнаружения клона рекомбинантного кроличьего антитела 274-11 AC3.

Хромогенные реакции основаны на HRP-опосредованной конверсии 3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлорида (DAB) и AP-опосредованной конверсии Fast Red с фосфатом нафтола, что приводит к образованию коричневого осадка в месте обнаружения антигена p16^{INK4a} и красного осадка в месте обнаружения антигена Ki-67 соответственно.

После автоматического контрастного окрашивания и синего окрашивания проводится двухэтапная процедура заливки. Вначале стекло покрывают водорастворимой заливочной средой. Затем стекло накрывают покровным стеклом с постоянной заливочной средой. Результаты окрашивания оцениваются методом световой микроскопии.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

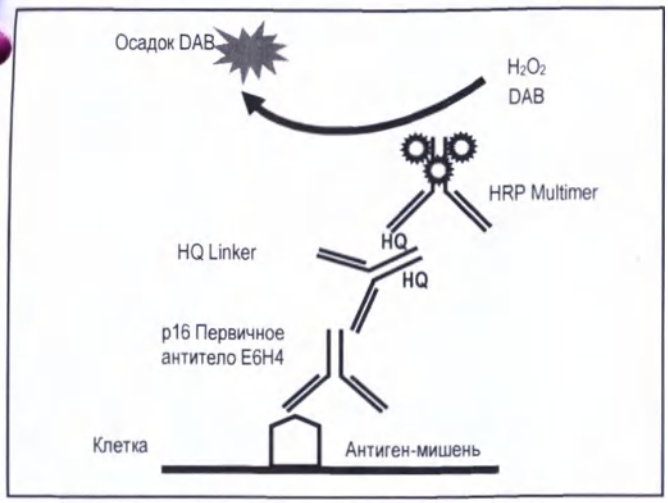


Рисунок 2. Обнаружение белка человека p16^{INK4a}

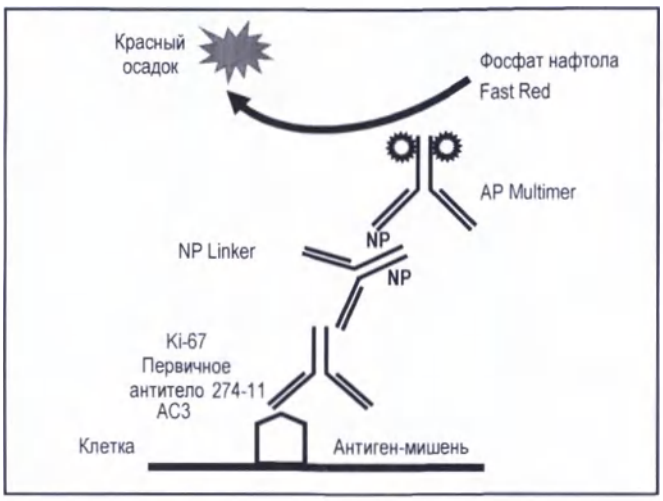


Рисунок 3. Обнаружение белка человека Ki-67

РЕАГЕНТЫ В КОМПЛЕКТЕ ПОСТАВКИ

CINtec *PLUS* Cytology Kit содержит реагент в количестве, достаточном для выполнения 100 анализов.

Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67) содержит смесь клона E6H4 моноклонального мышиного антитела к белку человека p16^{INK4a} и клона 274-11 AC3 первичного рекомбинантного кроличьего антитела к белку человека Ki-67 (общее содержание антитела <5 мкг/мл) в буфере с содержанием белка с консервантом ProClin 300.
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* Red anti-Rabbit NP Linker содержит NP-меченный козий антикроличий иммуноглобулин IgG (<10 мкг/мл; NP — собственный гаптен, ковалентно связанный с козьим антителом) в буфере, содержащем белок с консервантом ProClin 300.
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* Red AP Multimer содержит мышиное моноклональное anti-NP-меченное, содержащее AP третичное антитело в буфере (<20 мкг/мл), содержащем белок с консервантом ProClin 300.
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* Red Naphthol Phosphate содержит фосфат нафтола (<1 %) с консервантом ProClin 300.
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* Fast Red содержит Fast Red (<1 %) в ацетатном буфере с консервантом ProClin 300.
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* DAB Peroxidase Inhibitor содержит раствор перекиси водорода (<5 %).
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* DAB anti-Mouse HQ Linker содержит HQ-меченный козий антимышиный иммуноглобулин IgG (<40 мкг/мл; HQ — собственный гаптен, ковалентно связанный с козьим антителом) в буфере, содержащем белок с консервантом ProClin 300.
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* DAB HRP Multimer содержит мышиное моноклональное anti-HQ-меченное, содержащее HRP третичное антитело в буфере (<10 мкг/мл), содержащем белок с консервантом ProClin 300.
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* DAB содержит 3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлорид (<1 %) в соответствующем стабилизирующем растворе с соответствующим консервантом.
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* DAB H_2O_2 содержит перекись водорода (<1 %) в фосфатном буферном растворе.

ВОССТАНОВЛЕНИЕ РАСТВОРА, СМЕШИВАНИЕ, РАЗВЕДЕНИЕ И ТИТРОВАНИЕ

CINtec *PLUS* Cytology Kit оптимизирован для использования на стейнерах серии VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA. Восстановление, разведение, смешивание и титрование входящих в комплект реагентов не требуется.

Отклонения от рекомендованных процедур по фиксации и дальнейшей обработке цервикальных образцов для цитологических исследований могут привести к значительной вариабельности результатов, что обуславливает необходимость проведения регулярного внутреннего контроля.

Подробные сведения о процедуре контроля см. в разделе «Контроль качества».

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ

Для окрашивания требуются следующие реагенты и материалы, не входящие в комплект поставки CINtec *PLUS* Cytology Kit.

В некоторых странах могут быть доступны не все перечисленные в листке-вкладыше продукты. Обратитесь к региональному представителю службы поддержки.

1. Соответствующие контрольные образцы (дополнительный материал, см. раздел «Контроль качества»)
2. Hematoxylin Counterstain
3. Реагент Bluing Reagent
4. Reaction Buffer Concentrate (10X)
5. Cell Conditioning Solutions (CC1/ ULTRA CC1)
6. Cell Conditioning Solutions (CC2/ ULTRA CC2), необходим для работы прибора, но не применяется
7. EZ Prep Concentrate (10X), необходим для работы прибора, но не применяется
8. Концентрат SSC (10X), необходим для работы прибора, но не применяется
9. Жидкое покровное стекло Liquid Coverslip (LCS/ ULTRA LCS)
10. Чистый этанол денатурированный (чистота ≥9 5 %)
11. VENTANA BenchMark GX, XT или стейнер ULTRA
12. Рекомендуется использование предметных стекол SuperFrost PLUS (Thermo Fisher Scientific) для стандартных мазков
13. Предметные стекла ThinPrep Arcless илиThinPrep (Заказ Hologic № 70126-002)
14. Предметныестекла BD SurePath PreCoat (включены в комплект SurePath GYN)
15. CC/Mount™ водорастворимая заливочная среда (например, диагностическая система BioSystems Номер: K 002; Sigma-Aldrich Номер: C9368)
16. Дополнительно: Сушилка с поддержанием температуры 60 °C ± 5 °C
17. Ксилол (гистологической степени очистки)
18. деионизированная или дистиллированная вода;
19. Покровные стекла и заливочная среда на основе ксилола или покровная пластиковая пленка, подходящая для покрытия цитологических препаратов
20. Оптический микроскоп
21. Мягкое моющее средство

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ХРАНЕНИЕ

Хранить при температуре 2–8°C. Не замораживать. Данный набор реагентов может использоваться сразу после извлечения из холодильника.

Чтобы обеспечить надлежащую сохранность и стабильность реагентов, после каждого использования дозаторы необходимо сразу закрывать крышкой и ставить в холодильник в вертикальном положении.

CINtec *PLUS* Cytology Kit имеет срок годности. При условии надлежащего хранения реагенты сохраняют свои свойства до даты, указанной на этикетке. Не используйте продукт после истечения срока годности для указанного способа хранения. Поскольку четкие признаки, свидетельствующие о нестабильности данного продукта, отсутствуют, одновременно с исследованием неизвестных образцов следует проводить положительный контроль. При появлении признаков нестабильности реагента следует незамедлительно связаться с ближайшим сервисным центром компании.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Для диагностики *in vitro* (IVD).
2. Только для профессионального использования.
3. Не используйте продукт, если упаковка каких-либо его компонентов нарушена. Если целостность упаковки нарушена или какие-либо компоненты повреждены, убедительная просьба незамедлительно сообщить в сервисный центр компании.
4. Реагенты обладают оптимальной концентрацией. Их дальнейшее разведение может привести к ухудшению окрашивания антигена. Пользователь должен обосновывать подобные изменения.
5. Вещество ProClin 300 используется в качестве консерванта. Оно вызывает раздражение и при контакте с кожей может стать причиной сенсибилизации. Примите меры предосторожности при работе с реагентами. Избегайте попадания реагентов в глаза, на кожу или слизистые оболочки. Используйте защитную одежду и перчатки. Список дозаторов, содержащих этот консервант, см. в разделе «Входящие в комплект поставки реагенты».
6. Материалы человеческого или животного происхождения следует считать биологически опасными материалами и утилизировать, соблюдая все необходимые меры предосторожности.
7. Обращайтесь с реагентами с осторожностью. Избегайте попадания реагентов в глаза, на кожу или слизистые оболочки. Избегайте вдыхания реагентов. При обращении с предполагаемыми канцерогенами или токсичными материалами используйте одноразовые перчатки и защитную одежду.
   При попадании реагентов на чувствительные участки промойте их достаточным количеством воды.
8. Не допускайте микробной контаминации реагентов, поскольку это может привести к получению недостоверных результатов.
9. Относительно рекомендованного способа утилизации проконсультируйтесь с местными и (или) государственными органами власти.
10. Более подробная информация содержится в сертификате безопасности материала, а также в руководстве по условным обозначениям и фразам риска на сайте www.ventana.com.
11. При утилизации и обращении с цитологическими образцами, включая все образцы до и после фиксации, а также все материалы, подверженные их воздействию, соблюдайте меры безопасности при работе с потенциально инфекционным материалом, а также применимые нормативы по утилизации отходов.

ПОДГОТОВКА К ПРОВЕДЕНИЮ АНАЛИЗА ОБРАЗЦА

С цитологическими образцами следует обращаться осторожно, чтобы сохранить образцы для иммуноцитохимических исследований. Все образцы должны подвергаться стандартным методам обработки клеток.

Во избежание затемнения элементов, таких как кровь и слизь, а также с целью получения образца, соответствующего стандартам Bethesda, клиницисты должны соблюдать рекомендованные методы отбора проб [30;31].

Следующие методы подготовки стекол подходят для применения с CINtec *PLUS* Cytology Kit:

- Стекла ThinPrep (Hologic Inc.) подготовлены на ThinPrep 2000 или 5000 Processor (Hologic Inc.) при помощи предметных стекол ThinPrep Arcless или ThinPrep Заказ Hologic № 70126-002) в соответствии с рекомендациями производителя;
- Стекла BD SurePath (BD Diagnostics Tripath) подготовлены в соответствии с рекомендациями производителя;
- Стекла, подготовленные вручную (стандартные стекла для мазков).

Одновременно с исследованием образцов пациента рекомендуется проводить соответствующий контроль (подробная информация представлена в разделе «Контроль качества»).

Подготовка образца Roche Cell Collection Medium

Цитологический образец RCCM, предназначенный для исследования иммуноцитохимическим окрашиванием с помощью CINtec *PLUS* Cytology Kit, должен храниться при температуре от 4 до 30 °C. Образец следует использовать для исследования в течение 6 недель после отбора.

Предметные стекла ThinPrep Arcless или ThinPrep FOR SPECIAL PROCESSING (Заказ Hologic № 70126-002) требуются для иммуноцитохимического окрашивания с CINte *PLUS* Cytology Kit на стейнерах VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA.

Подготовка образцов, собранных с помощью Roche Cell Collection Medium и подготовленных с помощью ThinPrep 2000 ProcessorОбразцы приготовлены из материалов, собранных с помощью Roche Cell Collection Medium и подготовлены на устрс стве обработки ThinPrep 20 00 Processor (Hologic Inc.) в соответствии с инструкциями производителя. После завершения цикла работы устройства обработки ThinPrep 2 000 подготовленные стекла помещаются в пробирку с фиксатором, содержащую чистый раствор этанола ≥ 95 %. Осторожно выньте пробирку из держателя фиксирующего раствора устройства обработкиThinPrep 2000 и перенесите подготовленное стекло из пробирки в сосуд для стекол, содержащий чистый раствор этанола ≥95 %. Инкубируйте стекло в этаноле в течение минимум 15 минут (максимум 60 минут). Замените раствор этанола в пробирке с фиксатором и в сосуде для стекол после подготовки 20 стекол. По истечении времени инкубации выньте стекло из сосуда с этанолом и оставьте просыхать в горизонтальном положении на плоской поверхности в течение минимум 60 минут. Высохшие стекла можно хранить при комнатной температуре в месте, защищенном от попадания солнечных лучей. Они должны быть окрашены CINtec *PLUS* Cytology Kit в течение 3 дней после подготовки.

Подготовка образца PreservCyt Цитологический образец в растворе PreservCyt (PC), предназначенный для исследования иммуноцитохимическим окрашиванием с помощью CINtec PLUS Cytology Kit, должен храниться при температуре от 4 до 30 °C. Образец следует использовать для исследования в течение 6 недель после отбора. Предметные стекла ThinPrep Arcless (Заказ Hologic № 70126-002) требуются для иммуноцитохимического окрашивания с использованием CINtec PLUS Cytology Kit на автоматических стейнерах BenchMark GX. XT и ULTRA.

Подготовка образцов, собранных с помощью PreservCyt и подготовленных с помощью ThinPrep 2000 Processor

Образцы приготовлены из материалов, собранных с помощью PreservCyt и подготовлены на устрой стве обработки ThinPrep 20 00 Processor (Hologic Inc.) в соответствии с инструкциями производителя. После завершения цикла работы устройства обработки ThinPrep 2 000 подготовленные стекла помещаются в пробирку с фиксатором, содержащую чистый раствор этанола ≥ 95 %. Осторожно выньте пробирку из держателя фиксирующего раствора устройства обработкиThinPrep 2000 и перенесите подготовленное стекло из пробирки в сосуд для стекол, содержащий чистый раствор этанола ≥95 %. Инкубируйте стекло в этаноле в течение минимум 15 минут (максимум 60 минут). Замените раствор этанола в пробирке с фиксатором и в сосуде для стекол после подготовки 20 стекол. По истечении времени инкубации выньте стекло из сосуда с этанолом и оставьте просыхать в горизонтальном положении на плоской поверхности в течение минимум 60 минут. Высохшие стекла можно хранить при комнатной температуре в месте, защищенном от попадания солнечных лучей. Они должны быть окрашены CINtec *PLUS* Cytology Kit в течение 3 дней после подготовки.

Подготовка образцов, собранных с помощью PreservCyt и подготовленных с помощью ThinPrep 5000 ProcessorОбразцы приготовлены из материалов, собранных в PreservCyt с использованием устройства обработки ThinPrep 5000 (Hologic Inc.), в соответствии с инструкциямипроизводителя. После завершения цикла раб оты ThinPrep 5000 Processor подготовленные стекла по мещ аются в штатив стекол, погруж енный в чистый раствор эт ан ола ≥95 %, содержащий фикси рующий раствор. Осторожно выньте емкость с фиксирующим раствором из устройства обработки ThinPrep 5000 Processor и инкубируйте стекла в течение минимум 15 минут (максимум 60 минут). Заменяйте раствор этанола в пробирке с фиксатором и в сосуде для стекол после каждого использования. По истечении времени инкубации выньте стекла из сосуда с этанолом и оставьте просыхать в горизонтальном положении на плоской

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

...верхности в течение минимум 60 минут. Высохшие стекла можно хранить при ...натной температуре в месте, защищенном от попадания солнечных лучей. ...ни должны быть окрашены CINtec PLUS Cytology Kit в течение 3 дней после ...подготовки.

Перед началом иммуноцитохимического окрашивания с помощью CINtec PLUS Cytology Kit удалите этикетку с оригинального стекла при помощи ThinPrep 5000 Processor и нанесите этикетку, созданную стейнером VENTANA BenchMark GX, iT или BenchMark ULTRA

Подготовка образца BD SurePath

Допускается хранение в консервирующем растворе цитологического образца SurePath, предназначенного для иммуноцитохимического окрашивания с помощью CINtec *PLUS* Cytology Kit, в течение 4 недель при комнатной температуре (от 15 до 30 °C) или в течение 6 месяцев в холодильнике при температуре от 2 до 10 °C.

Подготовка образца BD SurePath непосредственно после обработки Pap стекла

Сразу после создания обогащенной клеточной массы для подготовки стекла к Pap окрашиванию, она может использоваться для подготовки второго стекла для окрашивания с помощью CINtec PLUS Cytology Kit. Следуйте рекомендациям производителя относительно использования «Приготовления предметных стекол» [параметр 2] образцов GYN на приборе PrepStain. Объем ресуспендирования должен быть изменен до 0 мл в параметре меню «Изменить образец/Параметры окрашивания».

Подготовка образца BD SurePath из Preserved Cell Pellet - законсервированного клеточного осадка.

Допускается консервирование обогащенных клеточных масс путем добавления приблизительно 2 мл консервирующего раствора SurePath, после чего на пробирки с образцами надевают колпачки для хранения (подробное описание см. в инструкциях производителя). С даты сбора образцов клеточные массы, подвергшиеся повторному ресуспендированию в консервирующем растворе, могут храниться до 4 недель при комнатной температуре (от 15 до 30 °C) или в течение 6 месяцев в холодильнике при температуре от 2 до 10 °C. При подготовке стекла для CINtec *PLUS* Cytology Kit сначала следует выдержать образец при комнатной температуре 60 минут. Начните второй этап центрифугирования процесса обогащения GYN и выполните оставшиеся этапы предварительной подготовки, как указано в инструкциях производителя для повторной обработки консервированных клеточных масс. Следуйте рекомендациям производителя относительно использования «Приготовления предметных стекол» [параметр 2] образцов GYNна приборе PrepStain. Для всех перечисленных выше вариантов подготовки следует снять штатив для стекол из прибора PrepStain после завершения этапа переноса образца. Переверните штатив для слива жидкости. Залейте пипеткой 2 мл чистого раствора этанола ≥ 95 % в каждую осадочную камеру и сразу же слейте. Второй раз промойте 2 мл чистого раствора этанола ≥ 95 % и инкубируйте в течение 10 минут. Слейте жидкость, перевернув штатив. Снимите осадочные камеры со стекол и оставьте стекла высыхать в горизонтальном положении на плоской поверхности в течение минимум 60 минут. Высохшие стекла можно хранить при комнатной температуре в месте, защищенном от попадания солнечных лучей. Они должны быть окрашены CINtec *PLUS* Cytology Kit в течение 3 дней после подготовки.

Подготовка стандартных мазков Стандартные мазки фиксируются специальным фиксирующим реагентом для цитологических исследований в виде спрея, содержащим полиэтиленгликоль (например, Safetex Cytology Fixative, Andwin Scientific), сразу после сбора образцов. Стекла с зафиксированным мазком можно хранить при комнатной температуре в месте, защищенном от попадания солнечных лучей. Они должны быть окрашены CINtec *PLUS* Cytology Kit в течение 7 дней после подготовки.

Проведение дальнейшей предварительной подготовки не требуется перед загрузкой стекол в иммуностейнеры VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA.

ПРОЦЕДУРА ОКРАШИВАНИЯ

CINtec *PLUS* Cytology Kpiat зработан для использования на стейнерах VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA со вспомогательными реагентами и вспомогательными принадлежностями VENTANA. Для получения информации о рекомендуемых протоколах окрашивания см. таблицы 1, 2 и 3. CINtec *PLUS* Cytology Kit был оптимизирован в соответствии с параметрами, указанными в таблицах 1, 2 и 3; несмотря на это, пользователь должен проверять результаты, полученные с помощью данного набора.

Параметры автоматических протоколов могут быть отображены на дисплее, напечатаны и отредактированы согласно инструкциям, представленным в руководствах пользователя для каждого прибора.

Таблица 1. Рекомендуемый протокол окрашивания для подготовленных стекол ThinPrep, SurePath и стандартных стекол для мазков на стейнере VENTANA BenchMark GX при помощи Hematoxylin (Номер 760-2021) и Bluing Reagent (Номер 760-2037).

Процедура окрашивания	GX CINtec *PLUS* Cytology		
Выбираемые варианты	Тип образца		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Стандартный
ThinPrep	Требуется	Не выбрано	Не выбрано
SurePath	Не выбрано	Требуется	Не выбрано
Другое	Не выбрано	Не выбрано	Требуется
Вариант предварительной обработки клеток	Вариант не может быть выбран	Вариант не может быть выбран	16 мин.
Время инкубации антитела	16 мин.	20 мин.	16 мин.
Время инкубации HQ Linker	12 мин.	16 мин.	12 мин.
Время инкубации HRP Multimer Inc	6 мин.	8 мин.	8 мин.
Время инкубации NP Linker	8 мин.	16 мин.	8 мин.
Время инкубации AP Multimer	8 мин.	8 мин.	8 мин.
Контрастное окрашивание	Hematoxylin 4 мин.	Hematoxylin 4 мин.	Hematoxylin 4 мин.
Контрастное окрашивание	Bluing 4 мин.	Bluing 4 мин.	Bluing 4 мин.

Таблица 2. Рекомендуемый протокол окрашивания для подготовленных стекол ThinPrep, SurePath и стандартных стекол для мазков на стейнере VENTANA BenchMark XT при помощи Hematoxylin (Номер 760-2021) и Bluing Реагент (Номер 760-2037).

Процедура окрашивания	XT CINtec *PLUS* Cytology		
Выбираемые варианты	Тип образца		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Стандартный
ThinPrep	Требуется	Не выбрано	Не выбрано
SurePath	Не выбрано	Требуется	Не выбрано
Другое	Не выбрано	Не выбрано	Требуется
Вариант предварительной обработки клеток	Вариант не может быть выбран	Вариант не может быть выбран	16 мин.
Время инкубации антитела	16 мин.	20 мин.	16 мин.
Время инкубации HQ Linker	12 мин.	16 мин.	12 мин.
Время инкубации HRP Multimer Inc	8 мин.	8 мин.	8 мин.
Время инкубации NP Linker	8 мин.	16 мин.	8 мин.
Время инкубации AP Multimer	8 мин.	8 мин.	8 мин.
Контрастное окрашивание	Hematoxylin 4 мин.	Hematoxylin 4 мин.	Hematoxylin 4 мин.
Контрастное окрашивание	Bluing 4 мин.	Bluing 4 мин.	Bluing 4 мин.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Таблица 3. Рекомендуемый протокол окрашивания подготовленных стекол ThinPrep, SurePath и стандартных стекол для мазков на стейнере VENTANA BenchMark ULTRA при помощи Hematoxylin (Номер 760-2021) и Bluing Reagent (Номер 760-2037).

Процедура окрашивания	U CINtec *PLUS* Cytology		
Выбираемые варианты	Тип образца		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Стандартный
ThinPrep	Требуется	Не выбрано	Не выбрано
SurePath	Не выбрано	Требуется	Не выбрано
Другое	Не выбрано	Не выбрано	Требуется
Вариант предварительной обработки клеток	Вариант не может быть выбран	Вариант не может быть выбран	16 мин.
Время инкубации антитела	16 мин.	16 мин.	16 мин.
Время инкубации HQ Linker	12 мин.	16 мин.	12 мин.
HRP Multimer Inc Время	8 мин.	8 мин.	8 мин.
Время инкубации NP Linker	8 мин.	16 мин.	8 мин.
Время инкубации AP Multimer	8 мин.	8 мин.	8 мин.
Контрастное окрашивание	Hematoxylin 4 мин.	Hematoxylin 4 мин.	Hematoxylin 4 мин.
Контрастное окрашивание	Bluing 4 мин.	Bluing 4 мин.	Bluing 4 мин.

Работа со стейнером BenchMark GX, XT и ULTRA

1. Нанесите на предметное стекло этикетку со штрих-кодом в соответствии с выполняемым протоколом.
2. Загрузите на лоток для реагентов приборов CINtec *PLUS* Cytology Kit и соответствующие вспомогательные реагенты. Установите лоток с реагентами в стейнер.
3. Проверьте наличие растворов и пустого контейнера для отходов.
4. Загрузите предметные стекла в стейнер.
5. Начните цикл окрашивания.
6. После завершения процедуры снимите предметные стекла со стейнера.

ПОСЛЕДУЮЩАЯ ОБРАБОТКА: ЗАЛИВКА И ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПОД ПОКРОВНОЕ СТЕКЛО

Для поддержания оптимальной чувствительности и во избежание выцветания хромогенов требуется проведение двухэтапной процедуры заливки.

Достаньте предметные стекла из стейнеров VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA, аккуратно встряхните и промывайте их водопроводной, деионизированной или дистиллированной водой с мягким моющим средством до тех пор, пока Жидкое покровное стекло не будет полностью удалено со стекол.

ПРИМЕЧАНИЕ. Примите меры, чтобы напор воды не попадал прямо на предметные стекла. Используйте минимальный напор воды.

Заливка стекол производится в два этапа согласно протоколу. Необходимо провести нижеприведенные действия в следующем порядке.

1. Заливка водорастворимой заливочной средой.
   - Инкубируйте стекла в дистиллированной или деионизированной воде в течение минимум 1 минуты.
   - Стекла, не накрытые покровными стеклами, должны оставаться в дистиллированной или деионизированной воде CC/Mount при заливке других стекол водорастворимой заливочной средой.
   - Достаньте одно стекло из дистиллированной или деионизированной воды и осторожно протрите заднюю часть стекла бумажным полотенцем, чтобы удалить излишки воды. Не сливайте и не вытирайте воду с передней части стекла (сторона нанесения образца).
   - Держите предметное стекло под небольшим наклоном и нанесите 4–6 капель водорастворимой заливочной среды CC/Mount (Diagnostic BioSystems Номер: K 002; Sigma-Aldrich Номер: C9368) на стекло ThinPrep или SurePath и 8 капель на стандартное стекло для мазков. Избегайте образования воздушных пузырей. Во избежание образования пузырей первую каплю можно нанести на бумажное полотенце перед нанесением CC/Mount на область подготовки образца предметного стекла.
   - Аккуратно наклоните и поверните предметное стекло, чтобы тонкий слой заливочной среды полностью покрыл область подготовки образца (не накладывайте покровное стекло или пленку); визуально проверьте распределение заливочной среды по стеклу.
   - Сотрите излишки водорастворимой заливочной среды CC/Mount с задней части и краев стекла. Используйте бумажное полотенце, если необходимо.
   - Для сушки положите стекла в горизонтальное положение.
     a) Инкубируйте стекла ThinPrep или SurePath™ при температуре 37–60 °C в течение 1 часа или оставьте их на ночь при комнатной температуре.
     b) Инкубируйте стандартные стекла для мазков при температуре 37 °C в течение 4 часов или при 60 °C в течение 1 часа или оставьте их на ночь при комнатной температуре.
2. Нанесение покровного стекла или пленки.
   - После высыхания водорастворимой заливочной среды CC/Mount оставьте стекла до принятия комнатной температуры, если необходимо. Инкубируйте стекла в ксилоле в течение минимум 1 минуты (максимум 20 минут). Затем накройте предметные стекла покровными стеклами с применением заливочной среды на основе ксилола или покровной пленкой на основе ксилола.

     ПРИМЕЧАНИЕ. Стекла не должны подвергаться дегидратации серией спиртов повышающейся концентрации перед покрытием стеклом или пленкой.
   - Заливочная среда на основе ксилола должна высыхать при комнатной температуре.

ПРИМЕЧАНИЕ. Для снижения выцветания защищайте стекла от попадания солнечных лучей и храните при комнатной температуре.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Отклонения от рекомендованных процедур по фиксации и дальнейшей обработке цервикальных образцов для цитологических исследований могут привести к значительной вариабельности результатов. Признаки дефектов продукции, вызванные неправильным обращением или нестабильностью, не являются явными. В связи с этим, одновременно с анализом исследуемых образцов следует проводить соответствующий контроль.

Положительный контроль

Образцы, подготовленные таким же образом, как и образец(-ы) пациента, должны использоваться в качестве положительных контрольных образцов. Положительные контрольные образцы указывают на правильную подготовку образцов и соответствующие методики окрашивания. В каждый цикл окрашивания должен входить один положительный контрольный образец.

Заведомо положительные контрольные образцы следует использовать только для проверки правильности самой процедуры окрашивания обработанных образцов и качества реагентов, но не для постановки конкретного диагноза на основании исследуемых образцов. Если контрольные образцы не дают соответствующего положительного окрашивания, результаты окрашивания данной партии исследуемых образцов следует считать недействительными.

Отрицательный контроль

Множество различных типов клеток в обычных цервикальных образцах для цитологических исследований и клеток, в которых не была обнаружена экспрессия антигенов $p16^{INK4a}$ и Ki-67 (например, поверхностные клетки), могут служить как внутренний отрицательный контроль для оценки фонового окрашивания.

Верификация теста

Пользователь должен проверить эффективность CINtec *PLUS* Cytology Kit на положительных и отрицательных образцах с известными характеристиками эффективности перед первоначальным проведением диагностической процедуры.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ОКРАШИВАНИЯ И КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ОЖИДАЕМЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате окрашивания CINtec *PLUS* Cytology Kit образуются два различно окрашенных продукта реакции: коричневый осадок в местах скопления антигена $p16^{INK4a}$ и красный осадок в местах расположения антигена Ki-67. Коричневое окрашивание клеток (цитоплазмы и (или) ядра) указывают на повышенную экспрессию $p16^{INK4a}$. Красное окрашивание клеток (ядра) указывает на экспрессию Ki-67. Клетки, содержащие оба антигена, имеют коричневую окраску цитоплазмы с красными выделяющимися ядрами. Квалифицированный патоморфолог/лаборант цитологической лаборатории, имеющий опыт иммуноцитохимических исследований и прошедший обучение по интерпретации окрашенных стекол при помощи CINtec PLUS Cytology Kit, должен проводить оценку контрольных образцов (если применимо) перед интерпретацией результатов.

Интерпретация результатов теста может проводиться только сертифицированным специалистом во взаимосвязи с данными истории болезни пациента и проведенных дополнительных диагностических тестов.

В целях интерпретации стекол с цервикальными образцами для цитологических исследований, окрашенными с помощью CINtec *PLUS* Cytology Kit, необходимо проводить оценку образцов на стеклах с учетом наличия цервикальных эпителиальных клеток, демонстрирующих окрашивание цитоплазмы в коричневый цвет и ядра в красный цвет, что указывает на одновременную экспрессию $p16^{INK4a}$ и Ki-67. Более того, как и при отчете о результатах Pap-теста по цитологии, образцы должны пройти оценку по критериям пригодности согласно стандартам Bethesda 2001 (или TBS) [31] при предоставлении результатов теста CINtec *PLUS* Cytology.

Положительный результат теста

Положительным результатом теста CINtec *PLUS* Cytology считается наличие одной или большего количества клеток с одновременным присутствием особого коричневого иммуноокрашивания цитоплазмы и особого красного иммуноокрашивания ядра в пределах одной клетки.

Отрицательный результат теста

Отрицательным результатом теста CINtec *PLUS* Cytology считается отсутствие цервикальных клеток эпителия, имеющих одновременное коричневое иммуноокрашивание цитоплазмы и красное иммуноокрашивание ядра.

Наличие цервикальных клеток эпителия, проявляющих иммунореактивность только в отношении одного, а не двух маркеров (например, только коричневое окрашивание с указанием на $p16^{INK4a}$ или только красное окрашивание, свидетельствующее о Ki-67), не считается положительным результатом теста CINtec *PLUS* Cytology Kit.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Только для профессионального использования. Для проведения иммуноцитохимических исследований требуется специальное обучение.
2. Оценка предметных стекол, окрашенных с помощью CINtec *PLUS* Cytology Kit, должна осуществляться только сертифицированным специалистом, прошедшим специальный курс обучения по интерпретации результатов теста.
3. Клиническая интерпретация любого положительного или отрицательного окрашивания должна проводиться в контексте клинической картины и других цитологических критериев.
4. Интерпретация результатов окрашивания CINtec *PLUS* Cytology Kit зависит от интенсивности и качества контрастного окрашивания гематоксилином. Отклонения от рекомендаций по применению реагентов и времени инкубации должны быть согласованы с заказчиком, так как чрезмерное или недостаточное контрастное окрашивание может помешать верной интерпретации результатов.
5. Стандартные стекла для мазков, предназначенные для окрашивания с помощью CINtec *PLUS* Cytology Kit подготавливают с применением предметных стекол SuperFrost PLUS (Thermo Fisher Scientific) и фиксирующего реагента для цитологических исследований в виде спрея, содержащего полиэтиленгликоль, Safetex Cytology Fixative (Andwin Scientific). Любые отклонения от данной процедуры должны быть согласованы с заказчиком.
6. Использование ThinPrep 3000 Processor не рекомендуется при подготовке образцов ThinPrep, так как процедура фиксации спреем, проводимая прибором, может привести к значительным потерям клеток при окрашивании подготовленных образцов CINtec *PLUS* Cytology Kit.
7. Предметные стекла ThinPrep Arcless или ThinPrep FOR SPECIAL PROCESSING (Заказ Hologic № 70126-002) требуются для подготовки образцов ThinPrep для иммуноцитохимического окрашивания CINtec *PLUS* Cytology Kit на стейнере VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA. Использование предметных стекол ThinPrep с отпечатанными отметками может привести к получению неоднородных результатов теста.
8. Антитела/реагенты, поставленные производителем, имеют оптимальную концентрацию для использования согласно указанным инструкциям в иммуноцитохимических исследованиях на подготовленных на водной основе стеклах для цитологических исследований (LBC) или на стандартных стеклах для мазков. Любое отклонение от рекомендуемой процедуры тестирования может привести к получению недостоверных результатов; необходимо использовать и регистрировать документально соответствующие контрольные образцы. Пользователь несет полную ответственность при отклонении от рекомендованных процедур анализа ответственность за интерпретацию препаратов пациента.

ВЫЯВЛЕНИЕ И УСТРАНЕНИЕ НЕПОЛАДОК

1. Если из дозатора реагента жидкость не поступает в нужном количестве, проверьте заливочную камеру и лунку на наличие частиц, например волокон или осадка. Если подача жидкости дозатором не осуществляется, не используйте дозатор и обратитесь к региональному представителю службы поддержки. Также можно повторно заправить дозатор. Его следует направить в контейнер для отходов, снять колпачок наконечника и нажать на верхнюю часть дозатора.
2. Если степень окрашивания образца положительного контроля слабее, чем ожидалось, проверьте, соответствует ли выбранный протокол конкретному типу образца, например, цитологические препараты SurePath™ требуют более длительной предварительной обработки клетки, чем ThinPrep® или препараты для стандартных мазков. Кроме этого, проверьте цилиндры дозатора и убедитесь в том, что в них нет инородных частиц.
3. Если положительный контроль дает отрицательный результат, необходимо убедиться, что этикетка на предметном стекле имеет правильный штрих-код. Если маркировка на стекле верная, проверьте цилиндры дозатора и убедитесь в том, что в них нет инородных частиц.
4. При усилении фона сократите время инкубации в протоколах окрашивания. Также убедитесь в том, что основной раствор Reaction Buffer имеет правильные пропорции.
5. При ослаблении окрашивания увеличьте время инкубации в протоколах окрашивания. Время инкубации и предварительной обработки клеток также может регулироваться для стекол со стандартными мазками.
6. Красный осадок, указывающий на экспрессию белка Ki-67, растворяется в спирте. При слабом окрашивании Ki-67 или при его отсутствии убедитесь в том, что спиртосодержащий гематоксилин не использовался и применялась рекомендуемая процедура последующей обработки согласно разделу «Последующая обработка: заливка и заключение под покровное стекло».
7. Если образец вымывается со стекла, необходимо убедиться, что образец был подготовлен согласно разделу «Подготовка образца к проведению анализа». Также убедитесь, что был использован рекомендуемый тип предметного стекла.
8. Способы устранения проблем см. в разделе «Процедура окрашивания» руководства пользователя аппарата. Соответствующую информацию также можно получить у представителя службы поддержки в вашем регионе.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Рабочие характеристики CINtec *PLUS* Cytology Kit оцениваются при помощи аналитической специфичности, воспроизводимости и конкордантности исследований в соответствии с информацией, описанной в следующем разделе.

Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность CINtec *PLUS* Cytology Kit оценивалась при помощи ингибирования клонов первичных антител E6H4 и 274-11 AC3 с соответствующими эпитоп-специфическими пептидами. Стекла, подготовленные на водной основе, для цитологических исследований (LBC) от сверхэкспрессии клеточной линии обоих антигенов использовались для оценки влияния ингибирования специфическими пептидами на характеристики окрашивания обоих антител. Связывание антител с их эпитоп-специфическими пептидами привело к ингибированию антител, которые были обнаружены при сокращении степени окрашивания в сравнение с непептидным контролем. Кроме того, ни один из антител не был ингибирован другим эпитоп-

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

специфическим пептидом антитела, указывая на то, что неспецифические пептиды не будут ингибировать данные антитела.

Воспроизводимость

Исследования воспроизводимости для CINtec *PLUS* Cytology Kit выполнялись для определения следующих параметров:

- воспроизводимость между партиями CINtec *PLUS* Cytology Kit;
- воспроизводимость результатов внутри цикла и результатов окрашивания на стейнерах VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA;
- воспроизводимости в пределах одной платформы на стейнерах VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA;
- воспроизводимости в пределах одной платформы между стейнерами VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA.

Все проведенные исследования соответствовали предварительно заданным критериям приемлемости.

Исследования конкордантности

Характеристики CINtec *PLUS* Cytology Kit для использования на стейнерах VENTANA BenchMark GX, XT и LTRA оценивались в сравнении с CINtec *PLUS* Kit (аналог, Roche mtm laboratories AG, Mannheim), который раннее демонстрировал высокую чувствительность и специфичность при наличии предраковых и раковых состояний в цервикальных образцах при проведении цитологических исследований с учетом наличия отдельных цервикальных эпителиальных клеток, проявляющих положительный результат на двойное окрашивание для $p16^{INK4a}$ и Ki- 67 [14–29].

Исследования конкордантности были выполнены при помощи образцов пациентов, полученных в назначенных популяциях с результатами Pap-теста по цитологии категорий NILM (отрицательная реакция на интраэпителиальные поражения или злокачественные новообразования), ASC-US, LSIL и HSIL по каждому из индивидуальных методов подготовки цервикальных цитологических препаратов: ThinPrep (Hologic Inc.) и BD SurePath (BD Diagnostics) и стандартные стекла для мазков. Для образцов LBC было подготовлено по два стекла для каждого пациента. При взятии стандартных мазков использовалось по два стекла для каждого пациента. Образец, взятый у пациента во время приема был разделен по двум предметным стеклам («техника разделения образцов»). Одно из стекол тестировалось с помощью CINtec *PLUS* Cytology Kit в иммуностейнере VENTANA BenchMark, а второе было окрашено с помощью аналога.

Алгоритм чтения для образцов LBC:

Информация с каждого предметного стекла считывалась двумя квалифицированными специалистами. Если оба квалифицированных специалиста оценили предметное стекло как положительное, конечный результат для этого предметного стекла был положительным.. Если они расходились во мнениях, третий квалифицированный специалист проводил контрольное считывание результатов, и конечный результат засчитывался по принципу большинства.

Алгоритм чтения для стандартных стекол для мазков

Информация с каждого предметного стекла считывалась двумя квалифицированными специалистами. Если оба квалифицированных специалиста расценивали результат как положительный, то конечный результат считался положительным. Если они не сходились во мнениях, предметное стекло изучалось тремя квалифицированными специалистами, и в качестве конечного результата принималось их общее решение. Если оба квалифицированных специалиста расценивали результат как отрицательный, то для подтверждения этого предметное стекло изучал третий квалифицированный специалист. Если третий квалифицированный специалист расценивал результат, как отрицательный, то конечный результат считался отрицательным. Если третий квалифицированный специалист расценивал результат, как положительный, то предметное стекло изучалось тремя квалифицированными специалистами повторно, и их общее решение принималось в качестве конечного результата.

Заключение по результатам испытания определяется в качестве процента совпадения положительных результатов (PPA) и процента совпадения отрицательных результатов (NPA) между CINtec *PLUS* Cytology Kit для использования на стейнере VENTANA BenchMark.

Таблица 4. Согласование результатов тестирования между CINtec *PLUS* Cytology Kit и аналогом на цервикальных цитологических препаратах ThinPrep.

		Аналог (N)	
		+	-
CINtec *PLUS* Cytology Kit (n)	+	140	25
	-	17	147
	Всего	157	172

PPA (n/N) (95 % доверительный интервал) = 140/157 x 100 % = 89,2 % (83,3–93,1 %)

NPA (n/N) (95 % доверительный интервал) = 147/172 x 100 % = 85,5 % (79,4–90,0 %)

Таблица 5. Согласованность результатов тестирования между CINtec *PLUS* Cytology Kit и аналогом на цервикальных цитологических препаратах SurePath

		Аналог (N)	
		+	-
CINtec *PLUS* Cytology Kit (n)	+	56	3
	-	9	108
	Всего	65	111

PPA (n/N) (95 % доверительный интервал) = 56/65 x 100 % = 86,2 % (75,7–92,5 %)

NPA (n/N) (95 % доверительный интервал) = 108/111 x 100 % = 97,3 % (92,4–99,1 %)

Таблица 6. Согласованность результатов тестирования между CINtec *PLUS* Cytology Kit и аналогом на стандартных стеклах для мазков

		Аналог (N)	
		+	-
CINtec *PLUS* Cytology Kit (n)	+	98	17
	-	20	72
	Всего	118	89

PPA (n/N) (95 % доверительный интервал) = 98/118 x 100 % = 83,1% (75,3–88,8 %)

NPA (n/N) (95 % доверительный интервал) = 72/89 x 100 % = 80,9% (71,5–87,7 %)

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Исследование среды Roche Cell Collection Medium

Оценка эффективности Roche Cell Collection Medium в сравнении с раствором PreservCyt выполнена путем окрашивания 616 пар цервикальных образцов (случаев) при помощи CINtec *PLUS* Cytology Kit. В каждом случае препарировалось одно стекло с соответствующей пробиркой PC или RCCM. Все стекла считывались группой лаборантов цитологической/патологической лаборатории вслепую, поскольку стекла были идентичны.

Результаты CINtec *PLUS* Cytology Kit со сравнением по средам (PC и RCCM) приведены в таблице 7. Частота положительных реакций рассчитывалась путем деления количества положительных случаев на общее количество адекватных случаев для каждой среды. Результаты демонстрируют отличие между двумя показателями частоты положительной реакции на 2,4 % (1,5, 6,3).

Таблица 7. Эквивалентность частоты положительных реакций при применении CINtec *PLUS* в среде Roche Cell Collection Medium (RCCM) и PreservCyt (PC)

	Результаты CINtec *PLUS* Cytology в среде PC		
Результаты CINtec *PLUS* Cytology в среде RCCM	Положительно	Отрицательно	Итого
Положительно	170	48	218
Отрицательно	37	204	241
Итого	207	252	459
Частота положительных реакций RCCM, n/N (%):	218/459 (47,5 %)		
Частота положительных реакций PC, n/N (%):	207/459 (45,1 %)		
Разница показателей частоты положительных реакций, n/N (%):	11/459 (2,4 %; 95 % доверительный интервал: -1,5, 6,3)		

Результаты исследования адекватности клеточного содержимого с применением CINtec *PLUS* Cytology, сравнивающего PreservCyt и Roche Cell Collection Medium, приведены в таблице 8. Показатели адекватности клеточного содержимого рассчитывались путем деления количества случаев с адекватным клеточным содержимым на общее количество случаев для каждой среды. Результаты демонстрируют разницу между двумя показателями адекватности в 3,2 % (-0,0, 6,6).

Таблица 8. Сравнение адекватности клеточного содержимого при применении CINtec *PLUS* в среде Roche Cell Collection Medium (RCCM) и PreservCyt (PC)

	Адекватность клеточного содержимого CINtec *PLUS* Cytology в среде PC		
Адекватность клеточного содержимого CINtec *PLUS* Cytology в среде RCCM	Да	Нет	Итого
Да	468	63	531
Нет	43	42	85
Итого	511	105	616
Показатель адекватности RCCM, n/N (%):	531/616 (86,2 %)		
Показатель адекватности PC, n/N (%):	511/616 (83,0 %)		
Разница показателей адекватности, n/N (%):	20/616 (3,2 %; 95 % доверительный интервал: -0,0, 6,6)		

ССЫЛКИ

1. Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. Dis Markers. 2007;23:315-30.
2. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. J Cell Physiol. 2000;182:311-22.
3. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D, et al. Overexpression of p16$_{INK4a}$ as a specific marker for dysplasia and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer 2001;92:276-84.
4. Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, et al. Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. Am J Pathol. 1998;153:1741-8.
5. Cuschieri K, Wentzensen N. Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2008;17:2536-45.
6. Bergeron C, Ordi J, Schmidt D, et al. Conjunctive p16$_{INK4a}$ testing significantly increases accuracy in diagnosing high-grade cervical intraepithelial neoplasia. Am J Clin Pathol. 2010;133:395-406.
7. Del Pino M, Garcia S, Fusté V, et al. Value of p16$_{INK4a}$ as a marker of progression/ regression in cervical intraepithelial neoplasia grade 1. Am J Obstet Gynecol. 2009; 201(5):488.
8. Ordi J, Garcia S, del Pino M, et al. p16$_{INK4a}$ immunostaining identifies occult CIN lesions in HPV-positive women. Int J Gynecol Pathol. 2008;28:90-7.
9. Wang SS, Trunk M, Schiffman M, et al. Validation of p16$_{INK4a}$ as a marker of oncogenic human papillomavirus infection in cervical biopsies from a populationbased cohort in Costa Rica. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2004;13:1355-60.
10. Galgano MT, Castle PE, Atkins KA, et al. Using biomarkers as objective standards in the diagnosis of cervical biopsies. Am J Surg Pathol. 2010;8:1077-87.
11. Carozzi F, Confortini M, Dalla Palma P, et al. Use of p16$_{INK4a}$ over-expression to increase the specificity of human papillomavirus testing: a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. Lancet Oncol. 2008;9:937-45.
12. Denton K, Bergeron C, Klement P, et al. The sensitivity and specificity of p16$_{INK4a}$ Cytology versus HPV Testing for Detecting High-Grade Cervical Disease in the Triage of ASC-US and LSIL Pap Cytology Results. Am J Clin Pathol. 2010;134:12-21.
13. Carozzi F, Gillio-Tos A, Confortini M, et al. Risk of high-grade cervical intraepithelial neoplasia during follow-up in HPV-positive women according to baseline p16-$_{INK4a}$ results: a prospective analysis of a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. Lancet Oncol. 2013;14(2):168-76.
14. Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, et al., PALMS study group (2013). Screening for Cervical Cancer Precursors with p16/Ki-67 Dual-stained Cytology: Results of the PALMS Study. J Natl Cancer Inst. 2013;105(20):1550-7.
15. Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, et al. p16/Ki-67 Dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL Papanicolaou cytology: Results from the European Equivocal or Mildly Abnormal Pap Cytology Study (EEMAPS). Cancer Cytopathol. 2011;119(3):158-66.
16. Petry KU, Schmidt D, Scherbring S, et al. Triaging Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. Gynecol Oncol. 2011;121(3):505-09.
17. Ravarino A, Nemolato S, Macciocu E, et al. CINtec *PLUS* immunocytochemistry as a tool for the cytologic diagnosis of glandular lesions of the cervix uteri. Am J Clin Pathol. 2012;138(5):652-56.
18. Singh M, Mockler D, Akalin A, et al. Immunocytochemical colocalization of p16($_{INK4a}$) and Ki-67 predicts CIN2/3 and AIS/adenocarcinoma. Cancer Cytopathol. 2012;120(1):26-34.
19. Waldstrøm M, Christensen RK, Ornskov D. Evaluation of p16$_{INK4a}$/Ki-67 dual stain in comparison with an mRNA human papillomavirus test on liquid-based cytology samples with low-grade squamous intraepithelial lesion. Cancer Cytopathol. 2013;121(3):136-45.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

20. Wentzensen N, Schwartz L, Zuna RE, et al. Performance of p16/Ki-67 immunostaining to detect cervical cancer precursors in a colposcopy referral population. Clin Cancer Res. 2012;18(15):4154-62.
21. Killeen JL, Dye T, Grace C, et al. Improved Abnormal Pap Smear Triage Using Cervical Cancer Biomarkers. J Low Genit Tract Dis. 2014;18(1):1-7.
22. Wentzensen N, Fetterman B, Tokugawa D, et al. Interobserver reproducibility and accuracy of p16/Ki-67 dual-stain cytology in cervical cancer screening. Cancer Cytopathol, 2014. 122(12):914-20.
23. Uijterwaal MH, Witte BI, Van Kemenade FJ, et al. Triaging borderline/mild dyskaryotic Pap cytology with p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: crosssectional and longitudinal outcome study. Br J Cancer. 2014;110(6):1579-86.
24. Uijterwaal MH, Polman NJ, Witte BI, et al. Triaging HPV-positive women with normal cytology by p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: baseline and longitudinal data. Int J Cancer. 2015;136(10):2361-8.
25. Bergeron C, Ikenberg H, Sideri M, et al. Prospective evaluation of p16/Ki-67 dualstained cytology for managing women with abnormal Papanicolaou cytology: PALMS study results. Cancer Cytopathol, 2015. 123(6):373-81.
26. Wentzensen N, Fetterman B, Castle PE, et al. p16/Ki-67 Dual stain cytology for detection of cervical precancer in HPV-positive women. J Natl Cancer Inst. 2015 Sep 15;107(12):djv257
27. Gustinucci D, Giorgi Rossi P, Cesarini E, et al. Use of cytology, E6/E7 mRNA, and p16INK4a-Ki-67 to define the management of human papillomavirus HPV)-positive women in cervical cancer screening. Am J Clin Pathol, 2016. 145(1):35-45.
28. Wright TC Jr, Behrens CM, Ranger-Moore J, et al. Triaging HPV-positive women with p16/Ki-67 dual-stained cytology: Results from a sub-study nested into the ATHENA trial. Gynecol Oncol. 2017 Jan;144(1):51-56.
29. Ebisch RM, van der Horst J, Hermsen M, et al. Evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology as triage test for high-risk human papillomavirus-positive women. Mod Pathol. 2017 Mar 17. doi: 10.1038.
30. Birdsong G., Husain M., Faison T, et al. Cervicovaginal Cytology Based on the Papanicolaou Technique; Approved Guideline- Third Edition. CLSI document GP15-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
31. Solomon D, Davey D, Kurman R, et al. The 2001 Bethesda system. Terminology for reporting results of cervical cytology. JAMA. 2002;287:2114-9.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

BENCHMARK, CINtec, VENTANA и логотип VENTANA являются товарными знаками компании Roche.

Все другие товарные знаки являются собственностью их владельцев.

© 2017 Ventana Medical Systems, Inc.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

www.ventana.com

CE

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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

Полное наименование изделия на русском языке

Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit для одновременного качественного определения белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах иммуноцитохимическим методом в диагностике in vitro к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark

(далее по тексту может использоваться набор реагентов, набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit, CINtec PLUS Cytology Kit, тест CINtec PLUS Cytology Kit)

Специфичность назначения для обращения на территории Российской Федерации

CINtec PLUS Cytology Kit представляет собор набор реагентов для проведения иммуноцитохимического анализа, направленный на одновременное качественное определение белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах в диагностике in vitro к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark.

Он предназначен для использования в качестве средства, позволяющего выявить цервикальные интраэпителиальные поражения высокой степени выраженности у женщин в популяции скринингового исследования, а также в подгруппах пациентов с цитологическим результатом PAP-теста в категории ASC-US (атипичные клетки плоского эпителия неясного значения) или LSIL (плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени) или у пациентов с положительными результатами ВПЧ-теста высокой степени риска для дальнейшего определения предраковых состояний.

Интерпретация результатов теста может проводиться только сертифицированным специалистом во взаимосвязи с данными истории болезни пациента и проведенных дополнительных диагностических тестов.

Данный продукт предназначен для диагностики in vitro (IVD).

ВАЖНО!
Обращаем ваше внимание, что нижеуказанные способы подготовки образцов и стекол не применимы на территории Российской Федерации:
-подготовка образцов с применением Roche Cell Collection Medium;
-подготовка предметных стекол ThinPrep на аппарате для подготовки образцов для цитологических исследований ThinPrep 2000.

Состав (дополнение)

Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit содержит следующие материалы животного происхождения:
1Название материала - Козий глобулин
Характер - Потенциальный возбудитель инфекции*
Тип - Белок, полученный из плазмы крови
Источник – Коза
2Название материала - Казеин
Характер - Потенциальный возбудитель инфекции*
Тип - Белок из коровьего молока (очищенный порошок)
Источник – Корова
3Название материала - Бычий сывороточный альбумин; фракция V
Характер - Потенциальный возбудитель инфекции*
Тип - Бычья сыворотка (фракция V)
Источник – Корова
4Название материала - Нормальная сыворотка козла
Характер - Потенциальный возбудитель инфекции*
Тип - Сыворотка
Источник – Коза

* 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.

Срок годности
CINtec PLUS Cytology Kit стабилен максимально 24 месяца с даты производства. Дату производства см. на упаковке.
CINtec PLUS Cytology Kit следует хранить при 2-8°C. Не замораживать!
Набор реагентов может использоваться сразу после извлечения из холодильника.
При вскрытой упаковке флакон-дозаторы с реагентами необходимо сразу закрывать крышкой и хранить в холодильнике в вертикальном положении до истечения срока годности, указанного на этикетке.
На каждом флаконе-дозаторе с реагентом указан срок годности. Не использовать набор реагентов после истечения срока годности.

Стабильность
До вскрытия упаковки флакон-дозаторы с реагентами можно хранить – максимально 24 месяца с даты производства. Дату производства см. на упаковке.
После вскрытия флакон-дозаторы с реагентами можно хранить при 2-8°C – максимально 24 месяца с даты производства. Дату производства см. на упаковке.
Стабильность установленных на прибор реагентов после вскрытия флакон-дозаторов – не менее 21 дня при температуре не более 35°C.

Меры предосторожности и предупреждения (дополнение)
-Только для in vitro диагностики (IVD).
-Только для профессионального использования медицинским персоналом клинико-диагностических лабораторий.

Предупреждения:

- Корродирующий элемент
-H315 - При попадании на кожу вызывает раздражение.
-H318 - При попадании в глаза вызывает необратимые последствия
-H317 – Может вызывать аллергическую кожную реакцию.
-H319 – Вызывает серьезное раздражение глаз
-H350 – Может вызывать рак (указать путь воздействия, если явно доказано, что ни какие другие пути воздействия не вызывают такой опасности)
-P201 – Перед использованием получить специальные инструкции.
-P202 – Не приступать к обработке до тех пор, пока не прочитана и не понята информация о мерах предосторожности.
-P261 – Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/паров/распылителей жидкости.
-P264 – После работы тщательно вымыть ...
-P272 – Не выносить загрязненную одежду с рабочего места.
-P280 – Пользоваться защитными перчатками/защитной одеждой/средствами защиты глаз/лица.
-P302+P352 – ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды/...
-P305+P351+P338 – ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз.
-P308+P313 – ПРИ оказании воздействия или обеспокоенности: Обратиться к врачу.
-P333+P313 – При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться к врачу.
-P337+P313 – Если раздражение глаз продолжается: обратиться к врачу.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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

-P363 – Постирать загрязненную одежду перед последующим использованием.
-P405 – Хранить под замком.
-P501 – Удалить содержимое/контейнер в ...

Интерферирующие вещества
Тестирование веществ, влияющих на воздействие, в контексте цитологического анализа с использованием набора реагентов CINtec PLUS Cytology Kit технически не применимо.

Комплект поставки
Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit поставляется в коробке из мелованной бумаги, в каждой коробке находится 10 пластиковых дозаторов.
В комплект поставки входит:
Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit для одновременного качественного определения белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах иммуноцитохимическим методом в диагностике in vitro к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark
Состав:
1. Коктейль первичных антител (p16/Ki-67) (CINtec PLUS Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
2. Линкер кроличий (CINtec PLUS Red anti-Rabbit NP Linker) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
3. Мышиный мультимер (CINtec PLUS Red AP Multimer) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
4. Нафтол фосфат (CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
5. Хромоген Fast Red (CINtec PLUS Fast Red) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
6. Ингибитор пероксидазы (CINtec PLUS DAB Peroxidase Inhibitor) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
7. HQ линкер (CINtec PLUS DAB anti-Mouse HQ Linker) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
8. Мультимер пероксидазы хрена (CINtec PLUS DAB HRP Multimer) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
9. 3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлорид DAB (CINtec PLUS DAB) в дозаторе, объем10 мл, 1 шт.;
10. Перекись водорода (CINtec PLUS DAB H2O2) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.

Восстановление раствора, смешивание, разведение и титрование (дополнение)
Реагенты в наборе готовы к применению.

Показания к применению

CINtec PLUS Cytology Kit представляет собор набор реагентов для проведения иммуноцитохимического анализа, направленный на одновременное качественное определение белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах в диагностике in vitro к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark.

Он предназначен для использования в качестве средства, позволяющего выявить цервикальные интраэпителиальные поражения высокой степени выраженности у женщин в популяции скринингового исследования, а также в подгруппах пациентов с цитологическим результатом PAP-теста в категории ASC-US (атипичные клетки плоского эпителия неясного значения) или LSIL (плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени) или у пациентов с положительными результатами ВПЧ-теста высокой степени риска для дальнейшего определения предраковых состояний.

Интерпретация результатов теста может проводиться только сертифицированным специалистом во взаимосвязи с данными истории болезни пациента и проведенных дополнительных диагностических тестов.

Данный продукт предназначен для диагностики in vitro (IVD).

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)
Положительный контроль
Образцы, подготовленные таким же образом, как и образец-(ы) пациента, должны использоваться в качестве положительных контрольных образцов. Положительные контрольные образцы указывают на правильную подготовку образцов и соответствующие методики окрашивания. В каждый цикл окрашивания должен входить один положительный контрольный образец.
Заведомо положительные контрольные образцы следует использовать только для проверки правильности самой процедуры окрашивания обработанных образцов и качества реагентов, но не для постановки конкретного диагноза на основании исследуемых образцов. Если контрольные образцы не дают соответствующего положительного окрашивания, результаты окрашивания данной партии исследуемых образцов следует считать недействительными.
Заведомо положительным контрольным образцом считается тот цервикальный образец для цитологических исследований, который имеет одну или более количество клеток с одновременным присутствием особого коричневого иммуноокрашивания цитоплазмы, указывающего на повышенную экспрессию p16INK4a и особого красного иммуноокрашивания ядра, указывающее на экспрессию Ki-67 в пределах одной клетки.

Образец пациента
Квалифицированный специалист классифицирует образцы по положительному и отрицательному результату теста, фоновому окрашиванию и адекватности образца.

Положительный результат теста
Положительным результатом теста CINtec PLUS Cytology Kit считается наличие одной или большего количества клеток с одновременным присутствием особого коричневого иммуноокрашивания цитоплазмы, указывающего на повышенную экспрессию p16INK4a и особого красного иммуноокрашивания ядра, указывающее на экспрессию Ki-67 в пределах одной клетки.

Отрицательный результат теста
Отрицательным результатом теста CINtec PLUS Cytology Kit считается отсутствие цервикальных клеток эпителия, имеющих одновременное коричневое иммуноокрашивание цитоплазмы, указывающего на повышенную экспрессию p16INK4a и красное иммуноокрашивание ядра, указывающее на экспрессию Ki-67.
Наличие цервикальных клеток эпителия, проявляющих иммунореактивность только в отношении одного, а не двух маркеров (например, только коричневое окрашивание с указанием на экспрессию p16INK4a или только красное окрашивание, свидетельствующее о экспрессии Ki-67), не считается положительным результатом теста CINtec PLUS Cytology Kit.

Фоновое окрашивание набором реагентов CINtec PLUS Cytology Kit
Коричневое окрашивание клеток (цитоплазмы и (или) ядра), указывающее на повышенную экспрессию p16INK4a и красное окрашивание клеток (ядра), указывающее на экспрессию Ki-67 должно иметь приемлемое фоновое окрашивание.
Приемлемое фоновое окрашивание должно составлять ≤0,75 балла в соответствии с критериями, приведенными вТаблице 3.

Таблица 3. Критерии фонового окрашивания набором реагентов CINtec PLUS Cytology Kit.

Классификация	Наблюдение под микроскопом	Оценка

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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

Приемлемо	Отсутствует различимое неспецифическое (фоновое) окрашивание	0,00
	Едва различимое неспецифическое окрашивание, которое не мешает интерпретации окрашивания.	0,25
	В некоторой степени различимое неспецифическое окрашивание, которое не мешает интерпретации окрашивания.	0,50
	Выраженное различимое неспецифическое окрашивание, которое не мешает интерпретации окрашивания.	0,75
Не приемлемо	Значительно различимое неспецифическое окрашивание, которое мешает интерпретации окрашивания.	1,00

Фоновое окрашивание на участках высокой плотности клеток, слизи или бактерий является приемлемым и не должно включаться в оценку фонового окрашивания.

Красный ядерный пятнистый фон должен учитываться в общей оценке красного фонового окрашивания.

Адекватность образца

Образец считается адекватным, если имеет адекватную клеточность (имеет ≥5000 хорошо сохранившихся цервикальных клеток эпителия)

Образец считается не адекватным, если не имеет адекватную клеточность (имеет <5000 хорошо сохранившихся цервикальных клеток эпителия)

Затемненные элементы (то есть, бактерии, слизь, воспаление, кровь и т.д.) должны присутствовать не более чем на 25% от площади образца.

Эксплуатационные характеристики - аналитическая чувствительность и специфичность (дополнение)

Аналитическая чувствительность:

В целом набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit не позволяет напрямую определять «аналитическую чувствительность». Причины неприменимости описаны далее.

«Аналитическая чувствительность» по уровню белка

Согласно назначению «CINtec PLUS Cytology Kit представляет собой набор реагентов для проведения иммуноцитохимического анализа, направленный на одновременное качественное определение белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах.» Таким образом, иммуноцитохимический анализ CINtec PLUS Cytology Kit не измеряет концентрации целевого аналита (белки p16 и Ki-67). Наименьшее количество аналита (например, молекулы белка, концентрация белка), которое может быть обнаружено с помощью цитологического набора CINtec PLUS Cytology Kit, не может быть определено как конкретное значение или диапазон, как это было бы в случае количественного или полуколичественного анализа.

Кроме того, оценка самого низкого уровня экспрессии, который может быть обнаружен для обоих биомаркеров, зависит от субъективной оценки сертифицированного специалиста, а не от вывода устройства компьютерного анализа изображений, которое может позволить беспристрастное измерение уровни интенсивности для конкретных хромогенов.

«Аналитическая чувствительность» на клеточном уровне

Согласно интерпретации результатов:

«В целях интерпретации стекол с цервикальными образцами для цитологических исследований, окрашенными с помощью CINtec PLUS Cytology Kit, необходимо проводить оценку образцов на стеклах с учетом наличия цервикальных эпителиальных клеток, демонстрирующих окрашивание цитоплазмы в коричневый цвет и ядра в красный цвет, что указывает на одновременную экспрессию p16INK4a и Ki-67.»

Положительным результатом теста CINtec PLUS Cytology считается наличие одной или большего количества клеток с одновременным присутствием особого коричневого иммуноокрашивания цитоплазмы и особого красного иммуноокрашивания ядра в пределах одной клетки.

Пограничное значение точки реакции, ниже которого качественный результат теста считается отрицательным и выше которого результат определяется как положительный (или наоборот)], не связано с определенным уровнем выражения для интенсивности окрашивания) обоих биомаркеров в одной и той же клетке, но на основе присутствия одной или нескольких цервикальных эпителиальных клеток с совместной локализацией p16 в виде коричневого цитоплазматического иммуноокрашивания, а также Ki-67 в виде красного ядерного иммуноокрашивания в одной и той же клетке.

Поэтому результаты теста являются номинальными (положительными или отрицательными), такими как наличие или отсутствие клетки, которая показывает экспрессию обоих белков (генных продуктов) на основе субъективной оценки квалифицированного специалиста, как обсуждалось ранее.

Пограничное значение также основано на биологическом рационализме, согласно которому экспрессия маркера пролиферации Ki-67 и p16INK4a в одной и той же клетке должна взаимно исключать друг друга в нормальных физиологических условиях. Таким образом, сопутствующая экспрессия Ki-67 и p16INK4a в одной отдельной клетке может использоваться в качестве индикатора для дерегуляции контроля клеточного цикла в этой соответствующей клетке. На основании этого пограничного значения было показано, что одновременное обнаружение экспрессии регуляторного белка p16INK4a клеточного цикла и маркера пролиферации Ki-67 позволяет идентифицировать женщин с высокоспецифичной цервикальной интраэпителиальной неоплазией (CIN) с высокой чувствительностью и специфичностью [например, Шмидт и соавт., Цитопатология рака 2011].

В связи с тем, что определить «аналитическую чувствительность» напрямую не предоставляется возможным, результаты анализа цитологии с помощью CINtec PLUS Cytology Kit были тщательно проанализированы путем сравнения результатов теста с представленным в настоящее время на рынке продуктом (Набор диагностический для цитологии CINtec PLUS (CINtec Cytology PLUS Kit) для ретроспективных образцов и представлены как PPA (положительная согласованность) и NPA (отрицательное согласованность) в соответствии с критериями приемлемости, указанными в внутренних протоколах производителя и в соответствии со Статистическим руководством FDA по представлению результатов исследований, оценивающих диагностические тесты (выпущено: 13 марта 2007, Docket No. 2003D-0044). Описание исследования и результаты описаны в главе «Исследование конкорданности».

Повторяемость и воспроизводимость

Воспроизводимость между партиями CINtec PLUS Cytology Kit

Для оценки воспроизводимости результатов между партиями CINtec PLUS Cytology Kit было использовано по три образца для каждого подготовленного предметного стекла ThinPrep и ShurePath на иммуностейнере автоматическом VENTANA BenchMark XT. Каждое подготовленное предметное стекло ThinPrep и ShurePath было окрашено тремя партиями набора реагентов CINtec PLUS Cytology Kit. Стандартные стекла для мазков не были включены в данное исследование, потому что они являются уникальными предметными стеклами, которые не могут быть проверены на воспроизводимость.

Воспроизводимость результатов внутри цикла на иммуностейнерах VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (внутрисуточная воспроизводимость)

Для оценки воспроизводимости результатов внутри цикла для набора реагентов CINtec PLUS Cytology Kit было проведено по два прогона (по одному для каждого типа подготовленных предметных стекол (ThinPrep и SurePath)) на каждом иммуностейнере автоматическом VENTANA BenchMark XT, VENTANA BenchMark GX и VENTANA BenchMark ULTRA в течение одного дня. Для иммуностейнеров автоматических VENTANA

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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

BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA всего было исследовано 27 предметных стекол ThinPrep и 27 предметных стекол SurePath, а для иммуностейнера автоматического VENTANA BenchMark GX всего было исследовано 18 предметных стекол ThinPrep и 18 предметных стекол SurePath. Стандартные стекла для мазков не были включены в данное исследование, потому что они являются уникальными предметными стеклами, которые не могут быть проверены на воспроизводимость.

Воспроизводимость результатов окрашивания на иммуностейнерах VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (межсуточная воспроизводимость)
Для оценки воспроизводимости результатов окрашивания (межсуточная воспроизводимость) для набора реагентов CINtec PLUS Cytology Kit было проведено по три прогона каждого типа предметных стекол (ThinPrep и SurePath)) на каждом иммуностейнере автоматическом VENTANA BenchMark XT, VENTANA BenchMark GX и VENTANA BenchMark ULTRA в течение пяти непоследовательных дней. Для иммуностейнеров автоматических VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA всего было исследовано 27 предметных стекол ThinPrep и 27 предметных стекол SurePath, а для иммуностейнера автоматического VENTANA BenchMark GX было исследовано 30 предметных стекол ThinPrep и 30 предметных стекол SurePath. Стандартные стекла для мазков не были включены в данное исследование, потому что они являются уникальными предметными стеклами, которые не могут быть проверены на воспроизводимость.

Воспроизводимость в пределах одной платформы на иммуностейнерах VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (внутриплатформенная воспроизводимость)
Воспроизводимость в пределах одной платформы на иммуностейнерах VENTANA BenchMark GX.
Для оценки воспроизводимости в пределах одной платформы для набора реагентов CINtec PLUS Cytology Kit было использовано три иммуностейнера автоматических VENTANA BenchMark GX. Всего было исследовано 30 предметных стекол ThinPrep и 30 предметных стекол SurePath. Стандартные стекла для мазков не были включены в данное исследование, потому что они являются уникальными предметными стеклами, которые не могут быть проверены на воспроизводимость.

Воспроизводимость в пределах одной платформы на иммуностейнерах VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA.
Для оценки воспроизводимости в пределах одной платформы для набора реагентов CINtec PLUS Cytology Kit было использовано три иммуностейнера автоматических VENTANA BenchMark XT и три иммуностейнера автоматических VENTANA BenchMark ULTRA. Всего было исследовано 6 предметных стекол ThinPrep и 6 предметных стекол SurePath. Стандартные стекла для мазков не были включены в данное исследование, потому что они являются уникальными предметными стеклами, которые не могут быть проверены на воспроизводимость.

Воспроизводимость в пределах одной платформы между иммуностейнерами VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (межплатформенная воспроизводимость)
Для оценки воспроизводимости в пределах одной платформы между стейнерами VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA для набора реагентов CINtec PLUS Cytology Kit было использовано три иммуностейнера автоматических BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA. Всего было исследовано 30 предметных стекол ThinPrep и 30 предметных стекол SurePath. Стандартные стекла для мазков не были включены в данное исследование, потому что они являются уникальными предметными стеклами, которые не могут быть проверены на воспроизводимость.

Критерии приемлемости:
Воспроизводимость между партиями CINtec PLUS Cytology Kit:
Образцы предметных стекол (ThinPrep и SurePath), окрашенные при помощи CINtec PLUS Cytology Kit, должны демонстрировать согласованность результатов окрашивания как минимум 90% окрашенных адекватных образцов для всех трех различных партий с интенсивностью фонового окрашивания ≤0,75 балла.

Воспроизводимость результатов внутри цикла на иммуностейнерах VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (внутрисуточная воспроизводимость):
Образцы предметных стекол (ThinPrep и SurePath), окрашенные при помощи CINtec PLUS Cytology Kit, должны демонстрировать согласованность результатов окрашивания как минимум 90% окрашенных адекватных образцов с интенсивностью фонового окрашивания ≤0,75 балла в течение одного дня.

Воспроизводимость результатов окрашивания на иммуностейнерах VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (межсуточная воспроизводимость):
Образцы предметных стекол (ThinPrep и SurePath), окрашенные при помощи CINtec PLUS Cytology Kit, должны демонстрировать согласованность результатов окрашивания как минимум 90% окрашенных адекватных образцов с интенсивностью фонового окрашивания ≤0,75 балла в течение пяти непоследовательных дней.

Воспроизводимость в пределах одной платформы на иммуностейнерах VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (внутриплатформенная воспроизводимость):
Образцы предметных стекол (ThinPrep и SurePath), окрашенные при помощи CINtec PLUS Cytology Kit, должны демонстрировать согласованность результатов окрашивания как минимум 90% окрашенных адекватных образцов с интенсивностью фонового окрашивания ≤0,75 балла между тремя приборами одной и той же платформы.

Воспроизводимость в пределах одной платформы между стейнерами VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (межплатформенная воспроизводимость):
Образцы предметных стекол (ThinPrep и SurePath), окрашенные при помощи CINtec PLUS Cytology Kit, должны демонстрировать согласованность результатов окрашивания как минимум 90% окрашенных адекватных образцов с интенсивностью фонового окрашивания ≤0,75 балла в трех приборах.

Конкордантность (дополнение)
Критерии приемлемости:
Наборы реагентов должны показать конкордантное положительное/отрицательное окрашивание на цервикальных цитологических препаратах ThinPrep как минимум у 80% окрашенных образцов с нижней границей ДИ 95%.
Наборы реагентов должны показать конкордантное положительное/отрицательное окрашивание на цервикальных цитологических препаратах SurePath как минимум у 80% окрашенных образцов с нижней границей ДИ 95%.
Наборы реагентов должны показать конкордантное положительное/отрицательное окрашивание на стандартных стеклах для мазков как минимум у 80% окрашенных образцов с нижней границей ДИ 95%.

Упаковка
Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit поставляется в коробке из мелованной бумаги, в каждой коробке находится 10 пластиковых дозаторов. Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit содержит достаточное количество реагентов для проведения 100 анализов.
На каждой упаковочной коробке находится магнитная «кнопка памяти», которая содержит всю необходимую информацию о наборе реагентов. Более подробно о «кнопке памяти» читайте в Руководстве по эксплуатации к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark.

Первичная упаковка - дозатор.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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

Коктейль первичных антител (p16/Ki-67) (CINtec PLUS Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67) – упакован в пластиковый дозатор белого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
Линкер кроличий (CINtec PLUS Red anti-Rabbit NP Linker) – упакован в пластиковый дозатор коричневого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
Мышиный мультимер (CINtec PLUS Red AP Multimer) – упакован в пластиковый дозатор коричневого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
Нафтол фосфат (CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate) – упакован в пластиковый дозатор коричневого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
Хромоген Fast Red (CINtec PLUS Fast Red) – упакован в пластиковый дозатор коричневого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
Ингибитор пероксидазы (CINtec PLUS DAB Peroxidase Inhibitor) – упакован в пластиковый дозатор коричневого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
HQ линкер (CINtec PLUS DAB anti-Mouse HQ Linker) – упакован в пластиковый дозатор коричневого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
Мультимер пероксидазы хрена (CINtec PLUS DAB HRP Multimer) – упакован в пластиковый дозатор коричневого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлорид DAB (CINtec PLUS DAB) – упакован в пластиковый дозатор белого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
Перекись водорода (CINtec PLUS DAB H_2O_2) – упакован в пластиковый дозатор коричневого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл

Размеры всех дозаторов идентичные и составляют:
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 (260 x 134 x 145) мм, магнитная «кнопка памяти» (диаметр не более 17 мм).
Упаковка изделия обеспечивает достаточную защиту от механических, климатических воздействий при условии соблюдения правил транспортировки.

Маркировка
В соответствии с ДИРЕКТИВАМИ ЕС производитель использует следующие символы и знаки:

Символ	Определение	Символ	Определение
	Смотрите инструкцию по применению	IVD	Для диагностики in vitro
REF	Каталожный номер	LOT	Код партии
	Производитель		Использовать до (срок годности)
CE	CE-маркировка		Опасность для здоровья
GTIN	Глобальный номер предмета торговли		Пригоден для вторичной переработки
	Температурные ограничения		Не использовать повторно
	Дата изготовления		QR-код
	Серьезная опасность для здоровья		Содержит достаточно для n-исследований
Danger	Опасно!		

Маркировка дозатора Коктейль первичных антител (p16/Ki-67) (CINtec PLUS Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Знак «Опасность для здоровья»
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора Линкер кроличий (CINtec PLUS Red anti-Rabbit NP Linker)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Знак «Опасность для здоровья»
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора Мышиный мультимер (CINtec PLUS Red AP Multimer)
Логотип производителя

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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

Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Знак «Опасность для здоровья»
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора Нафтол фосфат (CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Знак «Опасность для здоровья»
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора Хромоген Fast Red (CINtec PLUS Fast Red)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Знак «Опасность для здоровья»
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора Ингибитор пероксидазы (CINtec PLUS DAB Peroxidase Inhibitor)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора HQ линкер (CINtec PLUS DAB anti-Mouse HQ Linker)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Знак «Опасность для здоровья»
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора Мультимер пероксидазы хрена (CINtec PLUS DAB HRP Multimer)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Знак «Опасность для здоровья»
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора 3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлорид DAB (CINtec PLUS DAB)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Знак «Серьезная опасность для здоровья»
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора Перекись водорода (CINtec PLUS DAB H2O2)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Температура хранения
Предупреждение - не использовать повторно
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка картонной упаковки
Логотип производителя
Наименование изделия
Содержимое набора
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Дата производства
Срок годности
Количество тестов, которые можно сделать
Температура хранения
Предупреждение для диагностики in vitro
CE-маркировка

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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

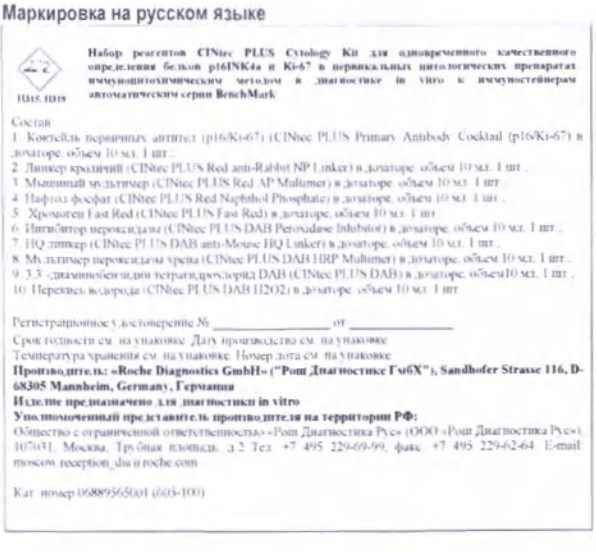
QR-код
Штрих-код
Производственный код
Глобальный номер предмета торговли
Предупреждение - не использовать повторно
Полное название, адрес, телефон производителя
Ссылка на электронную инструкцию на русском языке
Страна происхождения
Обозначение, что пригодно для вторичной переработки
Знак «Серьезная опасность для здоровья»
Знак «Опасно»
Знак «Опасность для здоровья»

Знаки предупреждения:

- Корродирующий элемент

Предупреждения:
-H317 – Может вызывать аллергическую кожную реакцию.
-H319 – Вызывает серьезное раздражение глаз
-H350 – Может вызывать рак (указать путь воздействия, если явно доказано, что ни какие другие пути воздействия не вызывают такой опасности)
-P201 – Перед использованием получить специальные инструкции.
-P202 – Не приступать к обработке до тех пор, пока не прочитана и не понята информация о мерах предосторожности.
-P261 – Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/паров/распылителей жидкости.
-P264 – После работы тщательно вымыть ...
-P272 – Не выносить загрязненную одежду с рабочего места.
-P280 – Пользоваться защитными перчатками/защитной одеждой/средствами защиты глаз/лица.
-P302+P352 – ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды/...
-P305+P351+P338 – ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз.
-P308+P313 – ПРИ оказании воздействия или обеспокоенности: Обратиться к врачу.
-P333+P313 – При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться к врачу.
-P337+P313 – Если раздражение глаз продолжается: обратиться к врачу.
-P363 – Постирать загрязненную одежду перед последующим использованием.
-P405 – Хранить под замком.
-P501 – Удалить содержимое/контейнер в ...

Маркировка на русском языке



Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit для одновременного качественного определения белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах иммуноцитохимическим методом в диагностике in vitro к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark

Состав:
1. Коктейль первичных антител (p16/Ki-67) (CINtec PLUS Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
2. Линкер кроличий (CINtec PLUS Red anti-Rabbit NP Linker) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
3. Мышиный мультимер (CINtec PLUS Red AP Multimer) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
4. Нафтол фосфат (CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
5. Хромоген Fast Red (CINtec PLUS Fast Red) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
6. Ингибитор пероксидазы (CINtec PLUS DAB Peroxidase Inhibitor) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
7. HQ-линкер (CINtec PLUS DAB anti-Mouse HQ Linker) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
8. Мультимер пероксидазы хрена (CINtec PLUS DAB HRP Multimer) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
9. 3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлорид DAB (CINtec PLUS DAB) в дозаторе, объем10 мл, 1 шт.;
10. Перекись водорода (CINtec PLUS DAB H2O2) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.

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 Диагностикс 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 06889565001 (005-100)

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 Диагностикс 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 Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit для одновременного качественного определения белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах иммуноцитохимическим методом в диагностике in vitro к иммуностейнерам 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 Диагностикс 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 Диагностикс ГмбХ")) гарантирует, что CINtec PLUS Cytology Kit для одновременного качественного определения белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах иммуноцитохимическим методом в диагностике in vitro к иммуностейнерам автоматическим серии

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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

BenchMark соответствуют спецификациям, заявленным на упаковке. 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 CINtec PLUS Cytology Kit 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 CINtec PLUS Cytology Kit по назначению в условиях, предусмотренных производителем.

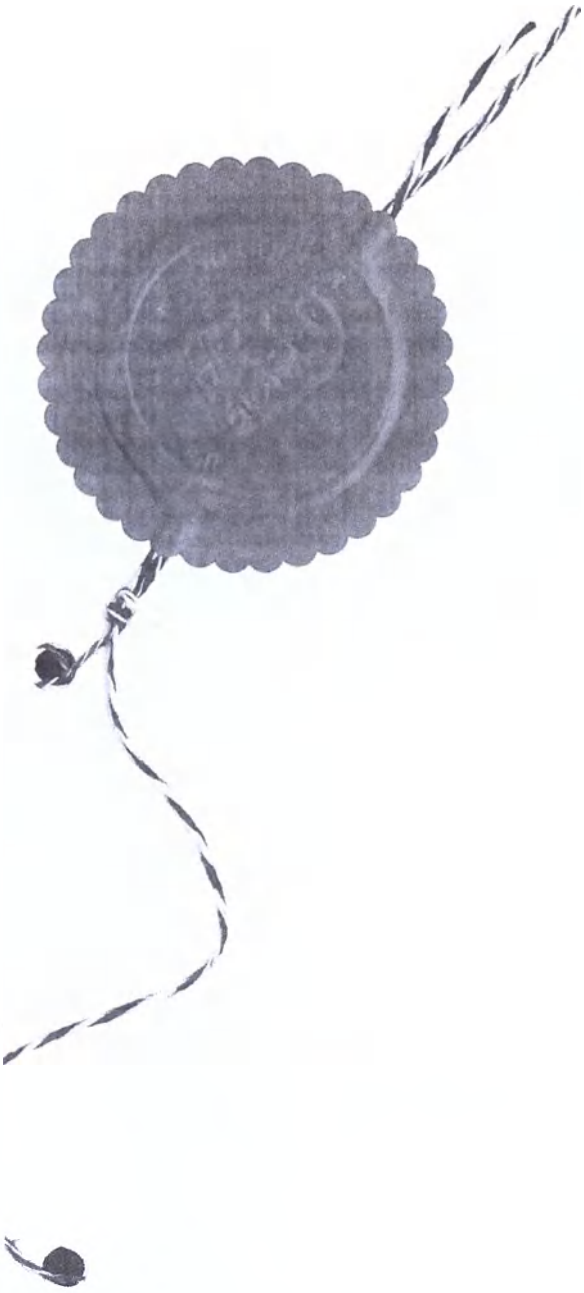
Изделия должны использоваться только до истечения срока годности, который указан на упаковке.
НАСТОЯЩАЯ ОГРАНИЧЕННАЯ ГАРАНТИЯ ЗАМЕНЯЕТ СОБОЙ ИНЫЕ ГАРАНТИИ, ОДНОЗНАЧНО ВЫРАЖЕННЫЕ ИЛИ ПОДРАЗУМЕВАЕМЫЕ, ВКЛЮЧАЯ ЛЮБУЮ ПОДРАЗУМЕВАЕМУЮ ГАРАНТИЮ ПРИГОДНОСТИ ДЛЯ КОММЕРЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИЛИ ДЛЯ ЛЮБОЙ ИНОЙ 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

Претензии 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:
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:
Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit предназначен для использования со следующими иммуностейнерами автоматическими серии VENTANA BenchMark:
- BenchMark GX (Иммуногистостейнер автоматический BenchMark GX с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2011-08976 от 27.01.2017 г.))
- BenchMark XT (Иммуностейнер автоматический Ventana BenchMark XT с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05251от 28.01.2016 г.))
- BenchMark ULTRA (Иммуностейнер автоматический Ventana BenchMark ULTRA с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05250 от 28.01.2016 г.)).

Рекомендуемые материалы для использования:
- Hematoxylin (Гистологический краситель Гематоксилин) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.
- Bluing Reagent (Реагент для придания окраске синего цвета) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.
- Reaction Buffer Concentrate (10X) (Реакционный буфер (концентрат – 10X)) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.
- CC1 (Pre-dilute) (TRIS/Борат/ЭДТА буфер (CC1) для демаскировки антигена, разведенный) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.
- ULTRA CC1 (TRIS/Борат/ЭДТА буфер (CC1) для демаскировки антигена, разведенный) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.
- CC2 Pre-dilute (Цитратный буфер для демаскировки антигена, разведенный) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г..
- ULTRA CC2 (Цитратный буфер (CC2) для демаскировки антигена, разведенный) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.
- EZ Prep Concentrate (10X) (Раствор для проведения депарафинизации, концентрированный) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.
- LCS (Pre-dilute) (Жидкое покровное стекло высокотемпературное, разведенное) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.
- ULTRA LCS (Жидкое покровное стекло высокотемпературное, разведенное) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU



ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

[*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]

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

[*На бланке компании «Рош Диагностикс ГмбХ»*]

[*Логотип «СИНтек ПЛЮС»*]
[*Логотип компании «Рош»*]
Вер. 1.1

[*Заголовок документа «Инструкция по применению на медицинское изделие „Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit для одновременного качественного определения белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах иммуноцитохимическим методом 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.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

[*Далее следует текст документа «Инструкция по применению на медицинское изделие „Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit для одновременного качественного определения белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах иммуноцитохимическим методом в диагностике in vitro к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark“», представленный на русском языке.*]

1. Вентцензен Н., фон Кнебель Дёберитц М. Биомаркеры при скрининге рака шейки матки. Маркеры заболеваний. 2007 г.;23:315-30 (Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. Dis Markers. 2007;23:315-30).

2. Шольцен Т., Гердес Й. Белок Ki-67: от известного и неизвестного. Журнал клеточной физиологии, 2000 г.;182:311-22 (Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. J Cell Physiol. 2000;182:311-22).

3. Клэс Р., Фридрих Т., Спитковски Д. и соавт. Избыточная экспрессия $p16_{INK4a}$ как особый маркер для дисплазии и опухолевых клеток эпителия шейки матки. Международный журнал рака, 2001 г.;92:276-84 (Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D, et al. Overexpression of $p16_{INK4a}$ as a specific marker for dysplasia and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer 2001;92:276-84).

4. Сано Т., Ояма Т., Касивабара К. и соавт. Статус экспрессии белка p16 связан с онкогенным потенциалом вируса папилломы человека при поражениях шейки матки и гениталий. Американский журнал патологии, 1998 г.;153:1741-8 (Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, et al. Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. Am J Pathol. 1998;153:1741-8).

5. Кушиери К., Вентцензен Н. Выявление мРНК вируса папилломы человека и p16 в качестве биомаркеров для более эффективной диагностики неоплазии шейки матки. Эпидемиология, биомаркеры и профилактика рака. 2008 г.;17:2536-45 (Cuschieri K, Wentzensen N. Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2008;17:2536-45).

6. Бержерон К., Орди Дж., Шмидт Д. и соавт. Дополнительное тестирование на $p16_{INK4a}$ значительно повышает точность диагностики цервикальной интраэпителиальной неоплазии высокой степени тяжести. Американский журнал клинической патологии. Американский журнал клинической патологии, 2010 г.;133:395-406 (Bergeron C, Ordi J, Schmidt D, et al. Conjunctive $p16_{INK4a}$ testing significantly increases accuracy in diagnosing high-grade cervical intraepithelial neoplasia. Am J Clin Pathol. 2010;133:395-406).

7. Дель Пино М., Гарсиа С., Фусте В. и соавт. Значимость $p16_{INK4a}$ как маркера прогрессирования / регрессии цервикальной интраэпителиальной неоплазии 1 степени. Американский журнал акушерства и гинекологии, 2009 г.;201 (5):488 (Del Pino M, Garcia S, Fuste V, et al. Value of $p16_{INK4a}$ as a marker of progression/ regression in cervical intraepithelial neoplasia grade 1. Am J Obstet Gynecol. 2009; 201 (5):488).

8. Орди Дж., Гарсиа С., дель Пино М. и соавт. Иммуноокрашивание с использованием $p16_{INK4a}$ выявляет скрытые очаговые поражения шейки матки у ВПЧ-положительных женщин. Международный журнал гинекологической патологии 2008 г.;28:90-7

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

(Ordi J, Garcia S, del Pino M, et al. $p16_{INK4a}$ immunostaining identifies occult CIN lesions in HPV-positive women. Int J Gynecol Pathol. 2008;28:90-7).

9. Ван С.С., Транк М., Шиффман М. и соавт. Валидация белка $p16_{INK4a}$ как маркера онкогенного вируса папилломы человека при биопсии шейки матки у группы популяции в Коста-Рике. Эпидемиология, биомаркеры и профилактика рака, 2004 г.;13:1355-60 (Wang SS, Trunk M, Schiffman M, et al. Validation of $p16_{INK4a}$ as a marker of oncogenic human papillomavirus infection in cervical biopsies from a populationbased cohort in Costa Rica. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2004;13:1355-60).

10. Галгано М.Т., Касл П.Э., Аткинс К.А. и соавт. Применение биомаркеров как объективных стандартов при проведении диагностики с помощью биопсия шейки матки. Американский журнал хирургической патологии, 2010 г., 8:1077-87 (Galgano MT, Castle PE, Atkins KA, et al. Using biomarkers as objective standards in the diagnosis of cervical biopsies. Am J Surg Pathol. 2010;8:1077-87).

11. Кароцци Ф., Конфортини М., Далиа Палма Р., и соавт. Использование избыточной экспрессии $p16_{INK4a}$ для повышения специфичности тестирования на вирус папилломы человека: гнездовое подисследование в рамках рандомизируемого контролируемого испытания NTCC. Хирургическая онкология, 2008 г.;9:937-45 (Carozzi F, Confortini M, Dalia Palma P, et al. Use of $p16_{INK4a}$ over-expression to increase the specificity of human papillomavirus testing: a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. Lancet Oncol. 2008;9:937-45).

12. Дентон К., Бержерон К., Клемент П. и соавт. Чувствительность и специфичность цитологии $p16_{INK4a}$ по сравнению с тестом на ВПЧ при выявлении заболеваний шейки матки высокой степени тяжести при сортировке результатов анализа мазка на цитологию ASC-US и LSIL. Американский журнал клинической патологии, 2010 г.;134:12-21 (Denton K, Bergeron C, Klement P, et al. The sensitivity and specificity of $p16_{INK4a}$ Cytology versus HPV Testing for Detecting High-Grade Cervical Disease in the Triage of ASC-US and LSIL Pap Cytology Results. Am J Clin Pathol. 2010;134:12-21).

13. Кароцци Ф., Гиллио-Тос А., Конфортини М. и соавт. Риски возникновения интраэпителиальной цервикальной неоплазии с высокой степенью озлокачествления при последующем наблюдении женщин с ВПЧ в соответствии с изначальными результатами $p16_{INK4a}$: подисследование в рамках рандомизируемого контролируемого испытания NTCC, Ланцет, онкология, 2013 г., 14(2):168-76 (Carozzi F, Gillio-Tos A, Confortini M, et al. Risk of high-grade cervical intraepithelial neoplasia during follow-up in HPV-positive women according to baseline $p16_{INK4a}$ results: a prospective analysis of a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. Lancet Oncol. 2013;14(2):168-76).

14. Икенберг Х., Бержерон К., Шмидт Д. и соавт. Группа исследователей PALMS (2013 г.) Скрининг предвестников рака шейки матки с цитологическим исследованием методом двойного окрашивания на p16/Ki-67: результаты исследования PALMS. Журнал национального института онкологии США, 2013 г., 105(20):1550-7 (Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, et al., PALMS study group (2013). Screening for Cervical Cancer Precursors with p16/Ki-67 Dual-stained Cytology: Results of the PALMS Study. J Nad Cancer Inst. 2013;105(20):1550-7).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

15. Шмидт Д., Бержерон К., Дентон К.Дж. и соавт. Цитологическое исследование методом двойного окрашивания p16/Ki-67 при сортировке результатов цитологического исследования мазка по Папаниколау по ASC-US и LSIL: результаты европейского исследования неоднозначных или умеренно патологических результатов ПАП-теста (EEMAPS). Цитопатология рака, 2011 г., 119(3):158-66 (Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, et al. p16/Ki-67 Dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL Papanicolaou cytology: Results from the European Equivocal or Mildly Abnormal Pap Cytology Study (EEMAPS). Cancer Cytopathol. 2011;119(3):158-66).

16. Петри К.У., Шмидт Д., Шербринг С. и соавт. Сортировка ПАП-отрицательных ВПЧ-положительных результатов скринингового обследования на рак шейки матки при помощи цитологического исследования с двойным окрашиванием на p16/Ki-67, Гинекологическая онкология, 2011 г., 121(3):505-09 (Petry KU, Schmidt D, Scherbring S, et al. Triaging Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. Gynecol Oncol. 2011;121(3):505-09).

17. Раварино А., Немолато С., Макдоку Э. и соавт. Применение иммуногистохимического исследования CINtec PLUS в качестве инструмента для проведения цитологической диагностики гландулярных поражений шейки матки, Американский журнал клинической патологии, 2012 г., 138(5):652-56 (Ravarino A, Nemolato S, Macdocu E, et al. CINtec PLUS immunocytochemistry as a tool for the cytologic diagnosis of glandular lesions of the cervix uteri. Am J Clin Pathol. 2012;138(5):652-56).

18. Синг М., Моклер Д., Акалин А. и соавт. Иммуногистохимиечская колокализация $p16_{INK4a}$ и Ki-67 прогнозирует возникновение аденокарциномы CIN2/3 и AIS, Цитопатология рака, 2012 г., 120(1):26-34 (Singh M, Mockler D, Akalin A, et al. Immunocytochemical colocalization of $p16_{INK4a}$ and Ki-67 predicts CIN2/3 and AIS/adenocarcinoma. Cancer Cytopathol. 2012;120(1):26-34).

19. Валдстром М., Кристенсен Р.К., Омсков Д. Оценка двойного окрашивания $p16_{INK4a}$/Ki-67 по сравнению с тестом на мРНК вируса папилломы человека с использованием образцов жидкостной цитологии с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями низкой степени тяжести. Цитопатология рака, 2013 г., 121(3):136-45 (Waldstrøm M, Christensen RK, Omskov D. Evaluation of $p16_{INK4a}$/Ki-67 dual stain in comparison with an mRNA human papillomavirus test on liquid-based cytology samples with low-grade squamous intraepithelial lesion. Cancer Cytopathol. 2013;121(3):136-45).

20. Вентцензен Н., Шварц Л., Зуна Р.Э. и соавт. Эффективность иммуноокрашивания на онкобелки p16/Ki-67 для выявления предшественников рака шейки матки в популяции пациенток, направленных на проведение кольпоскопии. Клинические исследования рака, 2012 г., 18(15):4154-62 (Wentzensen N, Schwartz L, Zuna RE, et al Performance of p16/Ki-67 immunostaining to detect cervical cancer precursors in a colposcopy referral population. Clin Cancer Res. 2012;18(15):4154-62).

21. Киллин Дж.Л., Дай Т., Грейс К. и соавт. Улучшенная сортировка отклоняющихся от нормы мазков по Папаниколау с использованием биомаркеров рака шейки матки. Журнал заболеваний нижних половых путей, 2014 г., 18(1):1-7 (Killeen JL, Dye T, Grace C, et al. Improved Abnormal Pap Smear Triage Using Cervical Cancer Biomarkers. J Low Genit Tract Dis. 2014;18(1):1-7).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

22. Вентцензен Н., Феттерман Б., Токугава Д. и соавт. Воспроизводимость между различными исследователями и точность цитологии с двойным окрашиванием p16/Ki-67 при скрининге на рак шейки матки. Цитопатология рака, 2014 г., 122(12):914-20 (Wentzensen N, Fetterman B, Tokugawa D, et al. Interobserver reproducibility and accuracy of p16/Ki-67 dual-stain cytology in cervical cancer screening. Cancer Cytopathol, 2014.122(12):914-20).

23. Эйтервал М.Х., Витте Б.Л., Ван Кеменаде Ф.Й. и соавт. Сортировка ПАП-теста на пограничный или легкий дискариоз с цитологическим исследованием методом двойного окрашивания на p16/Ki-67: перекрестное и лонгитюдное исследование результатов. Британский журнал рака, 2014 г., 110(6):1579-86 (Uijterwaal MH, Witte Bl, Van Kemenade FJ, et al. Triaging borderline/mild dyskaryotic Pap cytology with p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: crosssectional and longitudinal outcome study. Br J Cancer. 2014;110(6):1579-86).

24. Эйтервал М.Х., Полман Н.Дж., Витте Б.Л. и соавт. Сортировка ВПЧ-положительных женщин с нормальной цитологией путем цитологического теста с двойным окрашиванием на p16/Ki-67: исходные и лонгитюдные данные. Международный журнал рака, 2015 г., 136(10):2361-8 (Uijterwaal MH, Polman NJ, Witte Bl, et al. Triaging HPV-positive women with normal cytology by p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: baseline and longitudinal data. Int J Cancer. 2015;136(10):2361-8).

25. Бержерон К., Икенберг Х., Сидери М. и соавт. Проспективная оценка цитологического исследования с двойным окрашиванием и применением p16/Ki-67 для ведения женщин с отклоняющимися от нормы результатами цитологии по Папаниколау: результаты исследования PALMS. Цитопатология рака, 2015 г., 123(6):373-81 (Bergeron C, Ikenberg H, Sideri M, et al. Prospective evaluation of p16/Ki-67 dualstained cytology for managing women with abnormal Papanicolaou cytology: PALMS study results. Cancer Cytopathol, 2015.123(6):373-81).

26. Вентцензен Н., Феттерман Б., Касл П.Э. и соавт. Цитология с двойным окрашиванием p16/Ki-67 для выявления предрака шейки матки у ВПЧ-положительных женщин. Журнал национального института онкологии США, 15 сентября 2015 г., 107(12):djv257 (Wentzensen N, Fetterman B, Castle PE, et al. p16/Ki-67 Dual stain cytology for detection of cervical precancer in HPV-positive women. J Natl Cancer Inst. 2015 Sep 15;107(12):djv257).

27. Густинуччи Д., Гиорги Росси П., Цезарини Э. и соавт. Использование цитологии, мРНК E6/E7 и p16INK4a-Ki-67 для определения ведения женщин с положительными результатами тестов на вирус папилломы человека (ВПЧ) при скрининге рака шейки матки. Американский журнал клинической патологии, 2016 г., 145(1):35-45 (Gustinucd D, Giorgi Rossi P, Cesarini E, et al. Use of cytology, E6/E7 mRNA, and p16INK4a-Ki-67 to define the management of human papillomavirus (HPV)-positive women in cervical cancer screening. Am J Clin Pathol, 2016. 145(1):35-45).

28. Райт Т.С. мл., Беренс К.М., Рэнджер-Моор Дж. и соавт. Сортировка ВПЧ-положительных женщин посредством цитологического исследования методом двойного окрашивания на p16/Ki-67: результаты подисследования в рамках исследования ATHENA, Гинекологическая онкология, янв. 2017 г., 144(1):51-56 (Wright TC Jr, Behrens CM, Ranger-Moore J, et al. Triaging HPV-positive women with p16/Ki-67 dual-stained cytology: Results from a sub-study nested into the ATHENA trial. Gynecol Oncol. 2017 Jan;144(1):51-56).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

29. Эбиш Р.М., ван дер Хорст Дж., Хермзен М. и соавт. Оценка результатов цитологического исследования методом двойного окрашивания на p16/Ki-67 как сортировочного теста для ВПЧ-положительных женщин. Современная патология, 17 марта 2017 г. doi: 10.1038 (Ebisch RM, van der Horst J, Hermsen M, et al. Evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology as triage test for high-risk human papillomavirus-positive women. Mod Pathol. 2017 Mar 17. doi: 10.1038).

30. Бердсонг Г., Хуссейн М., Фэйсон Т. и соавт. Цервиковагинальная цитологическое исследование на основе метода Папаниколау; Утвержденные рекомендации, третье издание. Документ Института клинических и лабораторных стандартов GP15-A3, г. Уэйн, штат Пенсильвания: Институт клинических и лабораторных стандартов, 2008 г. (Birdsong G., Husain M., Faison T, et al. Cervicovaginal Cytology Based on the Papanicolaou Technique; Approved Guideline- Third Edition. CLSI document GP15-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008).

31. Соломон Д., Дейви Д., Курман Р. и соавт. Система Bethesda 2001 г. Терминология для представления результатов цитологического исследования шейки матки. Журнал Американской медицинской ассоциации, 2002 г., 287:2114-9 (Solomon D, Davey D, Kurman R, et al. The 2001 Bethesda system. Terminology for reporting results of cervical cytology. JAMA. 2002;287:2114-9).

[*Рельефная печать*:
Клаудия Зеелер (Claudia Seeler)
Нотариус в г. Маннхайм]

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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- 8-594

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

ПОДПИСЬ В.А. Король

Гербовая печать нотариуса

Прошнуровано, пронумеровано и скреплено печатью 26 лист(-а,-ов)

В.А. Король

Гербовая печать нотариуса

ПОДПИСЬ

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Российская Федерация
Город Москва

Двадцать второго января две тысячи двадцать первого года

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

Зарегистрировано в реестре: N 08/82-н/77- 2021- 8-395

Уплачено за совершение нотариального действия: 1680 руб.

В.А. Король

Всего прошнуровано,
пронумеровано и скреплено
печатью 28 лист(-а,-ов)

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

«СОГЛАСОВАНО»
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

_____ Варнавичус П.К.

«15» 09 2020 г.

М.П..

Общество с ограниченной ответственностью «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
СОГЛАСОВАНА
инструкция по применению для МИ Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit для одновременного качественного определения белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах иммуноцитохимическим методом в диагностике in vitro к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark, производства Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim, Germany.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

КОПИЯ

SEELER & DR. FELLMETH
NOTARE

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

Beglaubigte Ablichtung

Die Übereinstimmung nachstehender Fotokopie mit der vorgelegten Urschrift wird hiermit beglaubigt.

Mannheim, den 30. JUNI 2020

Claudia Seeler
Notarin in Mannheim

CLAUDIA SEELER
NOTARIN IN MANNHEIM

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

CINtec® PLUS

Roche

V1.0

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

(INSTRUCTION FOR USE)

НА МЕДИЦИНСКОЕ ИЗДЕЛИЕ

Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit для одновременного качественного определения белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах иммуноцитохимическим методом в диагностике in vitro к иммуностейнерам 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: 29 June, 2020

Andrea Weber
Manager Global Regulatory Affairs

Stamp Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Straße 116
68305 Mannheim

2020

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

CINtec® *PLUS*

Roche

CINtec® *PLUS* Cytology Kit

REF 605-100

06889565001

IVD Σ 100

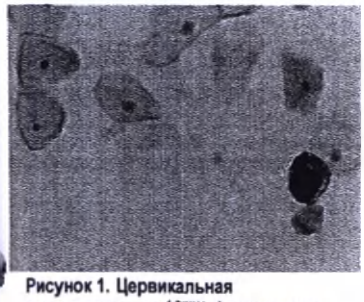


Рисунок 1. Цервикальная эпителиальная p16^{INK4a} (коричневое цитоплазматическое окрашивание) и Ki-67 (красное окрашивание ядер) положительная клетка

НАЗНАЧЕНИЕ

CINtec *PLUS* Cytology Kit представляет собой набор реагентов для проведения иммуноцитохимического анализа, направленный на одновременное качественное определение белков p16^{INK4a} и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах. Он предназначен для использования в качестве средства, позволяющего выявить цервикальные интраэпителиальные поражения высокой степени выраженности у женщин в популяции скринингового исследования, а также в подгруппах пациентов с цитологическим результатом PAP-теста в категории ASC-US (атипичные клетки плоского эпителия неясного значения) или LSIL (плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени) или у пациентов с положительными результатами ВПЧ-теста высокой степени риска.

Интерпретация результатов теста может проводиться только сертифицированным специалистом во взаимосвязи с данными истории болезни пациента и проведенных дополнительных диагностических тестов.

Данный продукт предназначен для диагностики *in vitro* (IVD).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

В эукариотических клетках контроль клеточного деления осуществляется с помощью комплексной модели контролируемой экспрессии и посттрансляционных модификаций белков, регулирующих клеточный цикл. Белок p16^{INK4a} играет важную роль в данном механизме регуляции цикла эукариотических клеток. Он является частью pRb-опосредованного контроля белком ретинобластомы перехода в фазу G1/S и инициирует задержку клеточного цикла в процессах клеточной дифференциации. Таким образом, p16^{INK4a} оказывает антипролиферативный эффект при обычном развитии клеточного цикла. В окончательно дифференцированных эпителиальных клетках p16^{INK4a} экспрессия подавляется до уровней, как правило, не выявляемых иммуноцитохимическими методами [1].

Ki-67 представляет собой связанный с пролиферацией белок, который обнаруживается исключительно в ядре пролиферирующих клеток. Детальные анализы клеточного цикла показали, что антиген Ki-67 присутствует в обнаруживаемых уровнях на всех фазах пролиферации клеток, а также при митотическом делении, в то время как неактивные или дремлющие клетки в фазе G0 не экспрессируют антиген [2].

В связи с тем, что клетки с повышенной экспрессией p16^{INK4a} могут активно пролиферировать только при нарушении механизма контроля клеточного цикла, экспрессия маркеров p16^{INK4a} и Ki-67 в одной клетке при нормальных физиологических условиях взаимоисключается. Таким образом, сопутствующая экспрессия p16^{INK4a} и Ki-67 в отдельных клетках может использоваться как индикатор нарушения регуляции контроля клеточного цикла в таких клетках.

При цервикальной неоплазии отмечается значительное повышение экспрессии p16^{INK4a} в результате функциональной инактивации pRB-опосредованного онкобелком E7 вируса папилломы человека (HR-HPV) высокой степени риска [3;4]. Так как E7 требуется для установления и поддержания злокачественного фенотипа при HPV-ассоциированных предраковых и раковых патологических изменениях, повышенная экспрессия p16^{INK4a} напрямую связана с онкогенной активностью различных типов HR-HPV, и поэтому предлагается считать ее суррогатным маркером трансформации инфекций HPV [1;5].

В ходе многочисленных исследований был проведен анализ и показана клиническая применимость p16^{INK4a} иммуноокрашивания в гистологических исследованиях [1;3;5;7;8;4;9;10] и цитологических исследованиях [5;11;12]. В различных исследованиях показано, что связанная интерпретация образцов на стеклах, окрашенных с целью определения p16^{INK4a}, значительно увеличивает согласованность заключений различных квалифицированных специалистов, а также диагностическую точность при определении CIN2 и патологических изменений высокой степени выраженности в образцах цервикальных тканей для цитологических исследований [6;10;12]. В цитологических исследованиях показано, что иммуноокрашивание с целью определения p16^{INK4a} является важным инструментом эффективной сортировки цитологических случаев, выделенных в категории ASC-US или LSIL, с уровнями чувствительности для определения лежащих в основе CIN2 или более патологических изменениях, сходных при тестировании на "ВПЧ", но при этом со значительно высокой специфичностью [12]. Более того, обнаружение p16^{INK4a} цитологических образцах считается значимым вспомогательным маркером для сортировки тестов с положительными результатами у женщин на HPV высокого онкогенного риска при проведении скринингового исследования рака шейки матки [11;13].

Фактически при всех цервикальных интраэпителиальных патологических изменениях высокой степени выраженности (таких как CIN2, CIN3 или выше) наблюдается повышенная экспрессия p16^{INK4a} [3;6;8]. Так как значительная часть клеток эпителия при патологических изменениях CIN также демонстрирует пролиферативную активность, определение цервикальных эпителиальных клеток, одновременно экспрессирующих p16^{INK4a} и Ki-67, может использоваться как индикатор статуса трансформации клеток. Следовательно, подход, основанный на оценке цервикальных образцов для цитологических исследований с учетом наличия отдельных цервикальных эпителиальных клеток, проявляющих положительный результат на двойное окрашивание для выявления p16^{INK4a} и Ki-67, обеспечивает как высокую чувствительность, так и специфичность при определении предраковых состояний и раковых заболеваний [14–29].

ПРИНЦИП ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

CINtec *PLUS* Cytology Kit включает набор реагентов для одновременного иммуноцитохимического выявления белков p16^{INK4a} и Ki-67 в цитологических образцах, полученных из шейки матки. Белки обнаруживаются с помощью готового к применению набора первичных моноклональных антител, ссодержащего моноклональные мышиные антитела, направленные против белка p16^{INK4a} (клон E6H4) и первичные рекомбинантные кроличьи антитела Ki-67 (клон 274-11 AC3). На основании предварительной обработки клеток, ингибирования активности эндогенной пероксидазы и инкубации с коктейлем антител в анализе применяются две готовые к применению системы обнаружения, оптимизированные для использования на цервикальных образцах для цитологических исследований:

- козье анти-мышиное вторичное антитело, ковалентно связанное с HQ гаптенами (собственный гаптен) и anti-HQ гаптеном , конъюгированное с пероксидазой хрена (HRP) третичное антитело, оптимизированное для обнаружения клона моноклонального мышиного антитела E6H4;
- козье анти-кроличье вторичное антитело, ковалентно связанное с NP гаптенами (собственный гаптен) и anti-NP гаптеном, конъюгированное с щелочной фосфатазой (AP) третичное антитело, оптимизированное для обнаружения клона рекомбинантного кроличьего антитела 274-11 AC3.

Хромогенные реакции основаны на HRP-опосредованной конверсии 3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлорида (DAB) и AP-опосредованной конверсии Fast Red с фосфатом нафтола, что приводит к образованию коричневого осадка в месте обнаружения антигена p16^{INK4a} и красного осадка в месте обнаружения антигена Ki-67 соответственно.

После автоматического контрастного окрашивания и синего окрашивания проводится двухэтапная процедура заливки. Вначале стекло покрывают водорастворимой заливочной средой. Затем стекло накрывают покровным стеклом с постоянной заливочной средой. Результаты окрашивания оцениваются методом световой микроскопии.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

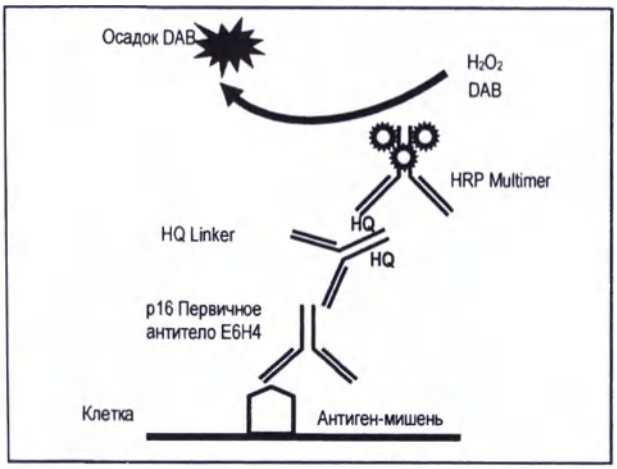


Рисунок 2. Обнаружение белка человека p16^{INK4a}

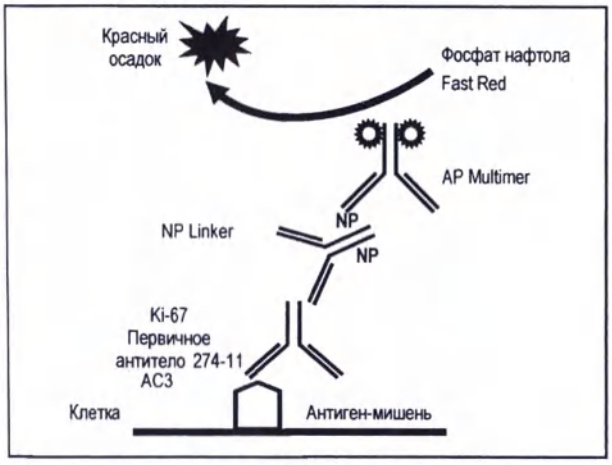


Рисунок 3. Обнаружение белка человека Ki-67

РЕАГЕНТЫ В КОМПЛЕКТЕ ПОСТАВКИ

CINtec *PLUS* Cytology Kit содержит реагент в количестве, достаточном для выполнения 100 анализов.

Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67) содержит смесь клона E6H4 моноклонального мышиного антитела к белку человека p16^{INK4a} и клона 274-11 AC3 первичного рекомбинантного кроличьего антитела к белку человека Ki-67 (общее содержание антитела <5 мкг/мл) в буфере с содержанием белка с консервантом ProClin 300.
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* Red anti-Rabbit NP Linker содержит NP-меченный козий антикроличий иммуноглобулин IgG (<10 мкг/мл; NP — собственный гаптен, ковалентно связанный с козьим антителом) в буфере, содержащем белок с консервантом ProClin 300.
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* Red AP Multimer содержит мышиное моноклональное anti-NP-меченное, содержащее AP третичное антитело в буфере (<20 мкг/мл), содержащем белок с консервантом ProClin 300.
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* Red Naphthol Phosphate содержит фосфат нафтола (<1 %) с консервантом ProClin 300.
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* Fast Red содержит Fast Red (<1 %) в ацетатном буфере с консервантом ProClin 300.
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* DAB Peroxidase Inhibitor содержит раствор перекиси водорода (<5 %).
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* DAB anti-Mouse HQ Linker содержит HQ-меченный козий антимышиный иммуноглобулин IgG (<40 мкг/мл; HQ — собственный гаптен, ковалентно связанный с козьим антителом) в буфере, содержащем белок с консервантом ProClin 300.
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* DAB HRP Multimer содержит мышиное моноклональное anti-HQ-меченное, содержащее HRP третичное антитело в буфере (<10 мкг/мл), содержащем белок с консервантом ProClin 300.
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* DAB содержит 3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлорид (<1 %) в соответствующем стабилизирующем растворе с соответствующим консервантом.
Один дозатор 10 мл	CINtec *PLUS* DAB H_2O_2 содержит перекись водорода (<1 %) в фосфатном буферном растворе.

ВОССТАНОВЛЕНИЕ РАСТВОРА, СМЕШИВАНИЕ, РАЗВЕДЕНИЕ И ТИТРОВАНИЕ

CINtec *PLUS* Cytology Kit оптимизирован для использования на стейнерах серии VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA. Восстановление, разведение, смешивание и титрование входящих в комплект реагентов не требуется.

Отклонения от рекомендованных процедур по фиксации и дальнейшей обработке цервикальных образцов для цитологических исследований могут привести к значительной вариабельности результатов, что обуславливает необходимость проведения регулярного внутреннего контроля.

Подробные сведения о процедуре контроля см. в разделе «Контроль качества».

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ

Для окрашивания требуются следующие реагенты и материалы, не входящие в комплект поставки CINtec *PLUS* Cytology Kit.

В некоторых странах могут быть доступны не все перечисленные в листке-вкладыше продукты. Обратитесь к региональному представителю службы поддержки.

1. Соответствующие контрольные образцы (дополнительный материал, см. раздел «Контроль качества»)
2. Hematoxylin Counterstain
3. Реагент Bluing Reagent
4. Reaction Buffer Concentrate (10X)
5. Cell Conditioning Solutions (CC1/ ULTRA CC1)
6. Cell Conditioning Solutions (CC2/ ULTRA CC2), необходим для работы прибора, но не применяется
7. EZ Prep Concentrate (10X), необходим для работы прибора, но не применяется
8. Концентрат SSC (10X), необходим для работы прибора, но не применяется
9. Жидкое покровное стекло Liquid Coverslip (LCS/ ULTRA LCS)
10. Чистый этанол денатурированный (чистота ≥ 9 5 %)
11. VENTANA BenchMark GX, XT или стейнер ULTRA
12. Рекомендуется использование предметных стекол SuperFrost PLUS (Thermo Fisher Scientific) для стандартных мазков
13. Предметные стекла ThinPrep Arcless илиThinPrep (Заказ Hologic № 70126-002)
14. Предметныестекла BD SurePath PreCoat (включены в комплект SurePath GYN)
15. CC/Mount™ водорастворимая заливочная среда (например, диагностическая система BioSystems Номер: K 002; Sigma-Aldrich Номер: C9368)
16. Дополнительно: Сушилка с поддержанием температуры 60 °C ± 5 °C
17. Ксилол (гистологической степени очистки)
18. деионизированная или дистиллированная вода;
19. Покровные стекла и заливочная среда на основе ксилола или покровная пластиковая пленка, подходящая для покрытия цитологических препаратов
20. Оптический микроскоп
21. Мягкое моющее средство

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ХРАНЕНИЕ

Хранить при температуре 2–8°C. Не замораживать. Данный набор реагентов может использоваться сразу после извлечения из холодильника.

Чтобы обеспечить надлежащую сохранность и стабильность реагентов, после каждого использования дозаторы необходимо сразу закрывать крышкой и ставить в холодильник в вертикальном положении.

CINtec *PLUS* Cytology Kit имеет срок годности. При условии надлежащего хранения реагенты сохраняют свои свойства до даты, указанной на этикетке. Не используйте продукт после истечения срока годности для указанного способа хранения. Поскольку четкие признаки, свидетельствующие о нестабильности данного продукта, отсутствуют, одновременно с исследованием неизвестных образцов следует проводить положительный контроль. При появлении признаков нестабильности реагента следует незамедлительно связаться с ближайшим сервисным центром компании.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Для диагностики *in vitro* (IVD).
2. Только для профессионального использования.
3. Не используйте продукт, если упаковка каких-либо его компонентов нарушена. Если целостность упаковки нарушена или какие-либо компоненты повреждены, убедительная просьба незамедлительно сообщить в сервисный центр компании.
4. Реагенты обладают оптимальной концентрацией. Их дальнейшее разведение может привести к ухудшению окрашивания антигена. Пользователь должен обосновывать подобные изменения.
5. Вещество ProClin 300 используется в качестве консерванта. Оно вызывает раздражение и при контакте с кожей может стать причиной сенсибилизации. Примите меры предосторожности при работе с реагентами. Избегайте попадания реагентов в глаза, на кожу или слизистые оболочки. Используйте защитную одежду и перчатки. Список дозаторов, содержащих этот консервант, см. в разделе «Входящие в комплект поставки реагенты».
6. Материалы человеческого или животного происхождения следует считать биологически опасными материалами и утилизировать, соблюдая все необходимые меры предосторожности.
7. Обращайтесь с реагентами с осторожностью. Избегайте попадания реагентов в глаза, на кожу или слизистые оболочки. Избегайте вдыхания реагентов. При обращении с предполагаемыми канцерогенами или токсичными материалами используйте одноразовые перчатки и защитную одежду.
   При попадании реагентов на чувствительные участки промойте их достаточным количеством воды.
8. Не допускайте микробной контаминации реагентов, поскольку это может привести к получению недостоверных результатов.
9. Относительно рекомендованного способа утилизации проконсультируйтесь с местными и (или) государственными органами власти.
10. Более подробная информация содержится в сертификате безопасности материала, а также в руководстве по условным обозначениям и фразам риска на сайте www.ventana.com.
11. При утилизации и обращении с цитологическими образцами, включая все образцы до и после фиксации, а также все материалы, подверженные их воздействию, соблюдайте меры безопасности при работе с потенциально инфекционным материалом, а также применимые нормативы по утилизации отходов.

ПОДГОТОВКА К ПРОВЕДЕНИЮ АНАЛИЗА ОБРАЗЦА

С цитологическими образцами следует обращаться осторожно, чтобы сохранить образцы для иммуноцитохимических исследований. Все образцы должны подвергаться стандартным методам обработки клеток.

Во избежание затемнения элементов, таких как кровь и слизь, а также с целью получения образца, соответствующего стандартам Bethesda, клиницисты должны соблюдать рекомендованные методы отбора проб [30;31].

Следующие методы подготовки стекол подходят для применения с CINtec *PLUS* Cytology Kit:

- Стекла ThinPrep (Hologic Inc.) подготовлены на ThinPrep 2000 или 5000 Processor (Hologic Inc.) при помощи предметных стекол ThinPrep Arcless или ThinPrep Заказ Hologic № 70126-002) в соответствии с рекомендациями производителя;
- Стекла BD SurePath (BD Diagnostics Tripath) подготовлены в соответствии с рекомендациями производителя;
- Стекла, подготовленные вручную (стандартные стекла для мазков).

Одновременно с исследованием образцов пациента рекомендуется проводить соответствующий контроль (подробная информация представлена в разделе «Контроль качества»).

Подготовка образца Roche Cell Collection Medium

Цитологический образец RCCM, предназначенный для исследования иммуноцитохимическим окрашиванием с помощью CINtec *PLUS* Cytology Kit, должен храниться при температуре от 4 до 30 °C. Образец следует использовать для исследования в течение 6 недель после отбора.

Предметные стекла ThinPrep Arcless или ThinPrep FOR SPECIAL PROCESSING (Заказ Hologic № 70126-002) требуются для иммуноцитохимического окрашивания с CINtec *PLUS* Cytology Kit на стейнерах VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA.

Подготовка образцов, собранных с помощью Roche Cell Collection Medium и подготовленных с помощью ThinPrep 2000 ProcessorОбразцы приготовлены из материалов, собранных с помощью Roche Cell Collection Medium и подготовлены на устрой стве обработки ThinPrep 20 00 Processor (Hologic Inc.) в соответствии с инструкциями производителя. После завершения цикла работы устройства обработки ThinPrep 2 000 подготовленные стекла помещаются в пробирку с фиксатором, содержащую чистый раствор этанола ≥ 95 %. Осторожно выньте пробирку из держателя фиксирующего раствора устройства обработкиThinPrep 2000 и перенесите подготовленное стекло из пробирки в сосуд для стекол, содержащий чистый раствор этанола ≥95 %. Инкубируйте стекло в этаноле в течение минимум 15 минут (максимум 60 минут). Замените раствор этанола в пробирке с фиксатором и в сосуде для стекол после подготовки 20 стекол. По истечении времени инкубации выньте стекло из сосуда с этанолом и оставьте просыхать в горизонтальном положении на плоской поверхности в течение минимум 60 минут. Высохшие стекла можно хранить при комнатной температуре в месте, защищенном от попадания солнечных лучей. Они должны быть окрашены CINtec *PLUS* Cytology Kit в течение 3 дней после подготовки.

Подготовка образца PreservCyt Цитологический образец в растворе PreservCyt (PC), предназначенный для исследования иммуноцитохимическим окрашиванием с помощью CINtec PLUS Cytology Kit, должен храниться при температуре от 4 до 30 °C. Образец следует использовать для исследования в течение 6 недель после отбора. Предметные стекла ThinPrep Arcless (Заказ Hologic № 70126-002) требуются для иммуноцитохимического окрашивания с использованием CINtec PLUS Cytology Kit на автоматических стейнерах BenchMark GX. XT и ULTRA.

Подготовка образцов, собранных с помощью PreservCyt и подготовленных с помощью ThinPrep 2000 Processor

Образцы приготовлены из материалов, собранных с помощью PreservCyt и подготовлены на устрой стве обработки ThinPrep 20 00 Processor (Hologic Inc.) в соответствии с инструкциями производителя. После завершения цикла работы устройства обработки ThinPrep 2 000 подготовленные стекла помещаются в пробирку с фиксатором, содержащую чистый раствор этанола ≥ 95 %. Осторожно выньте пробирку из держателя фиксирующего раствора устройства обработкиThinPrep 2000 и перенесите подготовленное стекло из пробирки в сосуд для стекол, содержащий чистый раствор этанола ≥95 %. Инкубируйте стекло в этаноле в течение минимум 15 минут (максимум 60 минут). Замените раствор этанола в пробирке с фиксатором и в сосуде для стекол после подготовки 20 стекол. По истечении времени инкубации выньте стекло из сосуда с этанолом и оставьте просыхать в горизонтальном положении на плоской поверхности в течение минимум 60 минут. Высохшие стекла можно хранить при комнатной температуре в месте, защищенном от попадания солнечных лучей. Они должны быть окрашены CINtec *PLUS* Cytology Kit в течение 3 дней после подготовки.

Подготовка образцов, собранных с помощью PreservCyt и подготовленных с помощью ThinPrep 5000 ProcessorОбразцы приготовлены из материалов, собранных в PreservCyt с использованием устройства обработки ThinPrep 5000 (Hologic Inc.), в соответствии с инструкциямипроизводителя. После завершения цикла раб оты ThinPrep 5000 Processor подготовленные стекла по мещ аются в штатив стекол, погруж енный в чистый раствор эт ан ола ≥95 %, содержащий фикси рующий раствор. Осторожно выньте емкость с фиксирующим раствором из устройства обработки ThinPrep 5000 Processor и инкубируйте стекла в течение минимум 15 минут (максимум 60 минут). Заменяйте раствор этанола в пробирке с фиксатором и в сосуде для стекол после каждого использования. По истечении времени инкубации выньте стекла из сосуда с этанолом и оставьте просыхать в горизонтальном положении на плоской

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

поверхности в течение минимум 60 минут. Высохшие стекла можно хранить при комнатной температуре в месте, защищенном от попадания солнечных лучей. Они должны быть окрашены CINtec PLUS Cytology Kit в течение 3 дней после подготовки.
Перед началом иммуноцитохимического окрашивания с помощью CINtec PLUS Cytology Kit удалите этикетку с оригинального стекла при помощи ThinPrep 5000 Processor и нанесите этикетку, созданную стейнером VENTANA BenchMark GX, XT или BenchMark ULTRA

Подготовка образца BD SurePath
Допускается хранение в консервирующем растворе цитологического образца SurePath, предназначенного для иммуноцитохимического окрашивания с помощью CINtec *PLUS* Cytology Kit, в течение 4 недель при комнатной температуре (от 15 до 30 °C) или в течение 6 месяцев в холодильнике при температуре от 2 до 10 °C.

Подготовка образца BD SurePath непосредственно после обработки Pap стекла
Сразу после создания обогащенной клеточной массы для подготовки стекла к Pap окрашиванию, она может использоваться для подготовки второго стекла для окрашивания с помощью CINtec PLUS Cytology Kit. Следуйте рекомендациям производителя относительно использования «Приготовления предметных стекол» [параметр 2] образцов GYN на приборе PrepStain. Объем ресуспендирования должен быть изменен до 0 мл в параметре меню «Изменить образец/Параметры окрашивания».

Подготовка образца BD SurePath из Preserved Cell Pellet - законсервированного клеточного осадка.
Допускается консервирование обогащенных клеточных масс путем добавления приблизительно 2 мл консервирующего раствора SurePath, после чего на пробирки с образцами надевают колпачки для хранения (подробное описание см. в инструкциях производителя). С даты сбора образцов клеточные массы, подвергшиеся повторному суспендированию в консервирующем растворе, могут храниться до 4 недель при комнатной температуре (от 15 до 30 °C) или в течение 6 месяцев в холодильнике при температуре от 2 до 10 °C. При подготовке стекла для CINtec *PLUS* Cytology Kit сначала следует выдержать образец при комнатной температуре 60 минут. Начните второй этап центрифугирования процесса обогащения GYN и выполните оставшиеся этапы предварительной подготовки, как указано в инструкциях производителя для повторной обработки консервированных клеточных масс. Следуйте рекомендациям производителя относительно использования «Приготовления предметных стекол» [параметр 2] образцов GYNна приборе PrepStain. Для всех перечисленных выше вариантов подготовки следует снять штатив для стекол из прибора PrepStain после завершения этапа переноса образца. Переверните штатив для слива жидкости. Влейте пипеткой 2 мл чистого раствора этанола ≥ 95 % в каждую осадочную камеру и сразу же слейте. Второй раз промойте 2 мл чистого раствора этанола ≥ 95 % и инкубируйте в течение 10 минут. Слейте жидкость, перевернув штатив. Снимите осадочные камеры со стекол и оставьте стекла высыхать в горизонтальном положении на плоской поверхности в течение минимум 60 минут. Высохшие стекла можно хранить при комнатной температуре в месте, защищенном от попадания солнечных лучей. Они должны быть окрашены CINtec *PLUS* Cytology Kit в течение 3 дней после подготовки.

Подготовка стандартных мазков Стандартные мазки фиксируются специальным фиксирующим реагентом для цитологических исследований в виде спрея, содержащим полиэтиленгликоль (например, Safetex Cytology Fixative, Andwin Scientific), сразу после сбора образцов. Стекла с зафиксированным мазком можно хранить при комнатной температуре в месте, защищенном от попадания солнечных лучей. Они должны быть окрашены CINtec *PLUS* Cytology Kit в течение 7 дней после подготовки.
Проведение дальнейшей предварительной подготовки не требуется перед загрузкой стекол в иммунностейнеры VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA.

ПРОЦЕДУРА ОКРАШИВАНИЯ

CINtec *PLUS* Cytology Kpiat зработан для использования на стейнерах VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA со вспомогательными реагентами и вспомогательными принадлежностями VENTANA. Для получения информации о рекомендуемых протоколах окрашивания см. таблицы 1, 2 и 3. CINtec *PLUS* Cytology Kit был оптимизирован в соответствии с параметрами, указанными в таблицах 1, 2 и 3; несмотря на это, пользователь должен проверять результаты, полученные с помощью данного набора.
Параметры автоматических протоколов могут быть отображены на дисплее, напечатаны и отредактированы согласно инструкциям, представленным в руководствах пользователя для каждого прибора.

Таблица 1. Рекомендуемый протокол окрашивания для подготовленных стекол ThinPrep, SurePath и стандартных стекол для мазков на стейнере VENTANA BenchMark GX при помощи Hematoxylin (Номер 760-2021) и Bluing Reagent (Номер 760-2037).

Процедура окрашивания	GX CINtec *PLUS* Cytology		
Выбираемые варианты	Тип образца		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Стандартный
ThinPrep	Требуется	Не выбрано	Не выбрано
SurePath	Не выбрано	Требуется	Не выбрано
Другое	Не выбрано	Не выбрано	Требуется
Вариант предварительной обработки клеток	Вариант не может быть выбран	Вариант не может быть выбран	16 мин.
Время инкубации антитела	16 мин.	20 мин.	16 мин.
Время инкубации HQ Linker	12 мин.	16 мин.	12 мин.
Время инкубации HRP Multimer Inc	6 мин.	8 мин.	8 мин.
Время инкубации NP Linker	8 мин.	16 мин.	8 мин.
Время инкубации AP Multimer	8 мин.	8 мин.	8 мин.
Контрастное окрашивание	Hematoxylin 4 мин.	Hematoxylin 4 мин.	Hematoxylin 4 мин.
Контрастное окрашивание	Bluing 4 мин.	Bluing 4 мин.	Bluing 4 мин.

Таблица 2. Рекомендуемый протокол окрашивания для подготовленных стекол ThinPrep, SurePath и стандартных стекол для мазков на стейнере VENTANA BenchMark XT при помощи Hematoxylin (Номер 760-2021) и Bluing Reagent (Номер 760-2037).

Процедура окрашивания	XT CINtec *PLUS* Cytology		
Выбираемые варианты	Тип образца		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Стандартный
ThinPrep	Требуется	Не выбрано	Не выбрано
SurePath	Не выбрано	Требуется	Не выбрано
Другое	Не выбрано	Не выбрано	Требуется
Вариант предварительной обработки клеток	Вариант не может быть выбран	Вариант не может быть выбран	16 мин.
Время инкубации антитела	16 мин.	20 мин.	16 мин.
Время инкубации HQ Linker	12 мин.	16 мин.	12 мин.
Время инкубации HRP Multimer Inc	8 мин.	8 мин.	8 мин.
Время инкубации NP Linker	8 мин.	16 мин.	8 мин.
Время инкубации AP Multimer	8 мин.	8 мин.	8 мин.
Контрастное окрашивание	Hematoxylin 4 мин.	Hematoxylin 4 мин.	Hematoxylin 4 мин.
Контрастное окрашивание	Bluing 4 мин.	Bluing 4 мин.	Bluing 4 мин.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Таблица 3. Рекомендуемый протокол окрашивания подготовленных стекол ThinPrep, SurePath и стандартных стекол для мазков на стейнере VENTANA BenchMark ULTRA при помощи Hematoxylin (Номер 760-2021) и Bluing Reagent (Номер 760-2037).

Процедура окрашивания	U CINtec *PLUS* Cytology		
Выбираемые варианты	Тип образца		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Стандартный
ThinPrep	Требуется	Не выбрано	Не выбрано
SurePath	Не выбрано	Требуется	Не выбрано
Другое	Не выбрано	Не выбрано	Требуется
Вариант предварительной обработки клеток	Вариант не может быть выбран	Вариант не может быть выбран	16 мин.
Время инкубации антитела	16 мин.	16 мин.	16 мин.
Время инкубации HQ Linker	12 мин.	16 мин.	12 мин.
HRP Multimer Inc Время	8 мин.	8 мин.	8 мин.
Время инкубации NP Linker	8 мин.	16 мин.	8 мин.
Время инкубации AP Multimer	8 мин.	8 мин.	8 мин.
Контрастное окрашивание	Hematoxylin 4 мин.	Hematoxylin 4 мин.	Hematoxylin 4 мин.
Контрастное окрашивание	Bluing 4 мин.	Bluing 4 мин.	Bluing 4 мин.

Работа со стейнером BenchMark GX, XT и ULTRA

1. Нанесите на предметное стекло этикетку со штрих-кодом в соответствии с выполняемым протоколом.
2. Загрузите на лоток для реагентов приборов CINtec *PLUS* Cytology Kit и соответствующие вспомогательные реагенты. Установите лоток с реагентами в стейнер.
3. Проверьте наличие растворов и пустого контейнера для отходов.
4. Загрузите предметные стекла в стейнер.
5. Начните цикл окрашивания.
6. После завершения процедуры снимите предметные стекла со стейнера.

ПОСЛЕДУЮЩАЯ ОБРАБОТКА: ЗАЛИВКА И ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПОД ПОКРОВНОЕ СТЕКЛО

Для поддержания оптимальной чувствительности и во избежание выцветания хромогенов требуется проведение двухэтапной процедуры заливки.

Достаньте предметные стекла из стейнеров VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA, аккуратно встряхните и промывайте их водопроводной, деионизированной или дистиллированной водой с мягким моющим средством до тех пор, пока Жидкое покровное стекло не будет полностью удалено со стекол.

ПРИМЕЧАНИЕ. Примите меры, чтобы напор воды не попадал прямо на предметные стекла. Используйте минимальный напор воды.

Заливка стекол производится в два этапа согласно протоколу. Необходимо провести нижеприведенные действия в следующем порядке.

1. Заливка водорастворимой заливочной средой.
   - Инкубируйте стекла в дистиллированной или деионизированной воде в течение минимум 1 минуты.
   - Стекла, не накрытые покровными стеклами, должны оставаться в дистиллированной или деионизированной воде CC/Mount при заливке других стекол водорастворимой заливочной средой.
   - Достаньте одно стекло из дистиллированной или деионизированной воды и осторожно протрите заднюю часть стекла бумажным полотенцем, чтобы удалить излишки воды. Не сливайте и не вытирайте воду с передней части стекла (сторона нанесения образца).
   - Держите предметное стекло под небольшим наклоном и нанесите 4–6 капель водорастворимой заливочной среды CC/Mount (Diagnostic BioSystems Номер: K 002; Sigma-Aldrich Номер: C9368) на стекло ThinPrep или SurePath и 8 капель на стандартное стекло для мазков. Избегайте образования воздушных пузырей. Во избежание образования пузырей первую каплю можно нанести на бумажное полотенце перед нанесением CC/Mount на область подготовки образца предметного стекла.
   - Аккуратно наклоните и поверните предметное стекло, чтобы тонкий слой заливочной среды полностью покрыл область подготовки образца (не накладывайте покровное стекло или пленку); визуально проверьте распределение заливочной среды по стеклу.
   - Сотрите излишки водорастворимой заливочной среды CC/Mount с задней части и краев стекла. Используйте бумажное полотенце, если необходимо.
   - Для сушки положите стекла в горизонтальное положение.
     a) Инкубируйте стекла ThinPrep или SurePath™ при температуре 37–60 °C в течение 1 часа или оставьте их на ночь при комнатной температуре.
     b) Инкубируйте стандартные стекла для мазков при температуре 37 °C в течение 4 часов или при 60 °C в течение 1 часа или оставьте их на ночь при комнатной температуре.
2. Нанесение покровного стекла или пленки.
   - После высыхания водорастворимой заливочной среды CC/Mount оставьте стекла до принятия комнатной температуры, если необходимо. Инкубируйте стекла в ксилоле в течение минимум 1 минуты (максимум 20 минут). Затем накройте предметные стекла покровными стеклами с применением заливочной среды на основе ксилола или покровной пленкой на основе ксилола.

     ПРИМЕЧАНИЕ. Стекла не должны подвергаться дегидратации серией спиртов повышающейся концентрации перед покрытием стеклом или пленкой.
   - Заливочная среда на основе ксилола должна высыхать при комнатной температуре.

ПРИМЕЧАНИЕ. Для снижения выцветания защищайте стекла от попадания солнечных лучей и храните при комнатной температуре.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Отклонения от рекомендованных процедур по фиксации и дальнейшей обработке цервикальных образцов для цитологических исследований могут привести к значительной вариабельности результатов. Признаки дефектов продукции, вызванные неправильным обращением или нестабильностью, не являются явными. В связи с этим, одновременно с анализом исследуемых образцов следует проводить соответствующий контроль.

Положительный контроль

Образцы, подготовленные таким же образом, как и образец(-ы) пациента, должны использоваться в качестве положительных контрольных образцов. Положительные контрольные образцы указывают на правильную подготовку образцов и соответствующие методики окрашивания. В каждый цикл окрашивания должен входить один положительный контрольный образец.

Заведомо положительные контрольные образцы следует использовать только для проверки правильности самой процедуры окрашивания обработанных образцов и качества реагентов, но не для постановки конкретного диагноза на основании исследуемых образцов. Если контрольные образцы не дают соответствующего положительного окрашивания, результаты окрашивания данной партии исследуемых образцов следует считать недействительными.

Отрицательный контроль

Множество различных типов клеток в обычных цервикальных образцах для цитологических исследований и клеток, в которых не была обнаружена экспрессия антигенов p16^{INK4a} и Ki-67 (например, поверхностные клетки), могут служить как внутренний отрицательный контроль для оценки фонового окрашивания.

Верификация теста

Пользователь должен проверить эффективность CINtec *PLUS* Cytology Kit на положительных и отрицательных образцах с известными характеристиками эффективности перед первоначальным проведением диагностической процедуры.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ОКРАШИВАНИЯ И КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ОЖИДАЕМЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате окрашивания CINtec *PLUS* Cytology Kit образуются два различно окрашенных продукта реакции: коричневый осадок в местах скопления антигена $p16^{INK4a}$ и красный осадок в местах расположения антигена Ki-67. Коричневое окрашивание клеток (цитоплазмы и (или) ядра) указывают на повышенную экспрессию $p16^{INK4a}$. Красное окрашивание клеток (ядра) указывает на экспрессию Ki-67. Клетки, содержащие оба антигена, имеют коричневую окраску цитоплазмы с красными выделяющимися ядрами. Квалифицированный патоморфолог/лаборант цитологической лаборатории, имеющий опыт иммуноцитохимических исследований и прошедший обучение по интерпретации окрашенных стекол при помощи CINtec PLUS Cytology Kit, должен проводить оценку контрольных образцов (если применимо) перед интерпретацией результатов.

Интерпретация результатов теста может проводиться только сертифицированным специалистом во взаимосвязи с данными истории болезни пациента и проведенных дополнительных диагностических тестов.

В целях интерпретации стекол с цервикальными образцами для цитологических исследований, окрашенными с помощью CINtec *PLUS* Cytology Kit, необходимо проводить оценку образцов на стеклах с учетом наличия цервикальных эпителиальных клеток, демонстрирующих окрашивание цитоплазмы в коричневый цвет и ядра в красный цвет, что указывает на одновременную экспрессию $p16^{INK4a}$ и Ki-67. Более того, как и при отчете о результатах Pap-теста по цитологии, образцы должны пройти оценку по критериям пригодности согласно стандартам Bethesda 2001 (или TBS) [31] при предоставлении результатов теста CINtec *PLUS* Cytology.

Положительный результат теста

Положительным результатом теста CINtec *PLUS* Cytology считается наличие одной или большего количества клеток с одновременным присутствием особого коричневого иммуноокрашивания цитоплазмы и особого красного иммуноокрашивания ядра в пределах одной клетки.

Отрицательный результат теста

Отрицательным результатом теста CINtec *PLUS* Cytology считается отсутствие цервикальных клеток эпителия, имеющих одновременное коричневое иммуноокрашивание цитоплазмы и красное иммуноокрашивание ядра.

Наличие цервикальных клеток эпителия, проявляющих иммунореактивность только в отношении одного, а не двух маркеров (например, только коричневое окрашивание с указанием на $p16^{INK4a}$ или только красное окрашивание, свидетельствующее о Ki-67), не считается положительным результатом теста CINtec *PLUS* Cytology Kit.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Только для профессионального использования. Для проведения иммуноцитохимических исследований требуется специальное обучение.
2. Оценка предметных стекол, окрашенных с помощью CINtec *PLUS* Cytology Kit, должна осуществляться только сертифицированным специалистом, прошедшим специальный курс обучения по интерпретации результатов теста.
3. Клиническая интерпретация любого положительного или отрицательного окрашивания должна проводиться в контексте клинической картины и других цитологических критериев.
4. Интерпретация результатов окрашивания CINtec *PLUS* Cytology Kit зависит от интенсивности и качества контрастного окрашивания гематоксилином. Отклонения от рекомендаций по применению реагентов и времени инкубации должны быть согласованы с заказчиком, так как чрезмерное или недостаточное контрастное окрашивание может помешать верной интерпретации результатов.
5. Стандартные стекла для мазков, предназначенные для окрашивания с помощью CINtec *PLUS* Cytology Kit подготавливают с применением предметных стекол SuperFrost PLUS (Thermo Fisher Scientific) и фиксирующего реагента для цитологических исследований в виде спрея, содержащего полиэтиленгликоль, Safetex Cytology Fixative (Andwin Scientific). Любые отклонения от данной процедуры должны быть согласованы с заказчиком.
6. Использование ThinPrep 3000 Processor не рекомендуется при подготовке образцов ThinPrep, так как процедура фиксации спреем, проводимая прибором, может привести к значительным потерям клеток при окрашивании подготовленных образцов CINtec *PLUS* Cytology Kit.
7. Предметные стекла ThinPrep Arcless или ThinPrep FOR SPECIAL PROCESSING (Заказ Hologic № 70126-002) требуются для подготовки образцов ThinPrep для иммуноцитохимического окрашивания CINtec *PLUS* Cytology Kit на стейнере VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA. Использование предметных стекол ThinPrep с отпечатанными отметками может привести к получению неоднородных результатов теста.
8. Антитела/реагенты, поставленные производителем, имеют оптимальную концентрацию для использования согласно указанным инструкциям в иммуноцитохимических исследованиях на подготовленных на водной основе стеклах для цитологических исследований (LBC) или на стандартных стеклах для мазков. Любое отклонение от рекомендуемой процедуры тестирования может привести к получению недостоверных результатов; необходимо использовать и регистрировать документально соответствующие контрольные образцы. Пользователь несет полную ответственность при отклонении от рекомендованных процедур анализа ответственность за интерпретацию препаратов пациента.

ВЫЯВЛЕНИЕ И УСТРАНЕНИЕ НЕПОЛАДОК

1. Если из дозатора реагента жидкость не поступает в нужном количестве, проверьте заливочную камеру и лунку на наличие частиц, например волокон или осадка. Если подача жидкости дозатором не осуществляется, не используйте дозатор и обратитесь к региональному представителю службы поддержки. Также можно повторно заправить дозатор. Его следует направить в контейнер для отходов, снять колпачок наконечника и нажать на верхнюю часть дозатора.
2. Если степень окрашивания образца положительного контроля слабее, чем ожидалось, проверьте, соответствует ли выбранный протокол конкретному типу образца, например, цитологические препараты SurePath™ требуют более длительной предварительной обработки клетки, чем ThinPrep® или препараты для стандартных мазков. Кроме этого, проверьте цилиндры дозатора и убедитесь в том, что в них нет инородных частиц.
3. Если положительный контроль дает отрицательный результат, необходимо убедиться, что этикетка на предметном стекле имеет правильный штрих-код. Если маркировка на стекле верная, проверьте цилиндры дозатора и убедитесь в том, что в них нет инородных частиц.
4. При усилении фона сократите время инкубации в протоколах окрашивания. Также убедитесь в том, что основной раствор Reaction Buffer имеет правильные пропорции.
5. При ослаблении окрашивания увеличьте время инкубации в протоколах окрашивания. Время инкубации и предварительной обработки клеток также может регулироваться для стекол со стандартными мазками.
6. Красный осадок, указывающий на экспрессию белка Ki-67, растворяется в спирте. При слабом окрашивании Ki-67 или при его отсутствии убедитесь в том, что спиртосодержащий гематоксилин не использовался и применялась рекомендуемая процедура последующей обработки согласно разделу «Последующая обработка: заливка и заключение под покровное стекло».
7. Если образец вымывается со стекла, необходимо убедиться, что образец был подготовлен согласно разделу «Подготовка образца к проведению анализа». Также убедитесь, что был использован рекомендуемый тип предметного стекла.
8. Способы устранения проблем см. в разделе «Процедура окрашивания» руководства пользователя аппарата. Соответствующую информацию также можно получить у представителя службы поддержки в вашем регионе.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Рабочие характеристики CINtec *PLUS* Cytology Kit оцениваются при помощи аналитической специфичности, воспроизводимости и конкордантности исследований в соответствии с информацией, описанной в следующем разделе.

Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность CINtec *PLUS* Cytology Kit оценивалась при помощи ингибирования клонов первичных антител E6H4 и 274-11 AC3 с соответствующими эпитоп-специфическими пептидами. Стекла, подготовленные на водной основе, для цитологических исследований (LBC) от сверхэкспрессии клеточной линии обоих антигенов использовались для оценки влияния ингибирования специфическими пептидами на характеристики окрашивания обоих антител. Связывание антител с их эпитоп-специфическими пептидами привело к ингибированию антител, которые были обнаружены при сокращении степени окрашивания в сравнение с непептидным контролем. Кроме того, ни один из антител не был ингибирован другим эпитоп-

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

специфическим пептидом антитела, указывая на то, что неспецифические пептиды не будут ингибировать данные антитела.

Воспроизводимость

Исследования воспроизводимости для CINtec *PLUS* Cytology Kit выполнялись для определения следующих параметров:

- воспроизводимость между партиями CINtec *PLUS* Cytology Kit;
- воспроизводимость результатов внутри цикла и результатов окрашивания на стейнерах VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA;
- воспроизводимости в пределах одной платформы на стейнерах VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA;
- воспроизводимости в пределах одной платформы между стейнерами VENTANA BenchMark GX, XT и ULTRA.

Все проведенные исследования соответствовали предварительно заданным критериям приемлемости.

Исследования конкордантности

Характеристики CINtec *PLUS* Cytology Kit для использования на стейнерах VENTANA BenchMark GX, XT и LTRA оценивались в сравнении с CINtec *PLUS* Kit (аналог, Roche mtm laboratories AG, Mannheim), который раннее демонстрировал высокую чувствительность и специфичность при наличии предраковых и раковых состояний в цервикальных образцах при проведении цитологических исследований с учетом наличия отдельных цервикальных эпителиальных клеток, проявляющих положительный результат на двойное окрашивание для $p16^{INK4a}$ и Ki- 67 [14–29].

Исследования конкордантности были выполнены при помощи образцов пациентов, полученных в назначенных популяциях с результатами Pap-теста по цитологии категорий NILM (отрицательная реакция на интраэпителиальные поражения или злокачественные новообразования), ASC-US, LSIL и HSIL по каждому из индивидуальных методов подготовки цервикальных цитологических препаратов: ThinPrep (Hologic Inc.) и BD SurePath (BD Diagnostics) и стандартные стекла для мазков. Для образцов LBC было подготовлено по два стекла для каждого пациента. При взятии стандартных мазков использовалось по два стекла для каждого пациента. Образец, взятый у пациента во время приема был разделен по двум предметным стеклам («техника разделения образцов»). Одно из стекол тестировалось с помощью CINtec *PLUS* Cytology Kit в иммуностейнере VENTANA BenchMark, а второе было окрашено с помощью аналога.

Алгоритм чтения для образцов LBC:

Информация с каждого предметного стекла считывалась двумя квалифицированными специалистами. Если оба квалифицированных специалиста оценили предметное стекло как положительное, конечный результат для этого предметного стекла был положительным.. Если они расходились во мнениях, третий квалифицированный специалист проводил контрольное считывание результатов, и конечный результат засчитывался по принципу большинства.

Алгоритм чтения для стандартных стекол для мазков

Информация с каждого предметного стекла считывалась двумя квалифицированными специалистами. Если оба квалифицированных специалиста расценивали результат как положительный, то конечный результат считался положительным. Если они не сходились во мнениях, предметное стекло изучалось тремя квалифицированными специалистами, и в качестве конечного результата принималось их общее решение. Если оба квалифицированных специалиста расценивали результат как отрицательный, то для подтверждения этого предметное стекло изучал третий квалифицированный специалист. Если третий квалифицированный специалист расценивал результат, как отрицательный, то конечный результат считался отрицательным. Если третий квалифицированный специалист расценивал результат, как положительный, то предметное стекло изучалось тремя квалифицированными специалистами повторно, и их общее решение принималось в качестве конечного результата.

Заключение по результатам испытания определяется в качестве процента совпадения положительных результатов (PPA) и процента совпадения отрицательных результатов (NPA) между CINtec *PLUS* Cytology Kit для использования на стейнере VENTANA BenchMark.

Таблица 4. Согласование результатов тестирования между CINtec *PLUS* Cytology Kit и аналогом на цервикальных цитологических препаратах ThinPrep.

		Аналог (N)	
		+	-
CINtec *PLUS* Cytology Kit (n)	+	140	25
	-	17	147
	Всего	157	172

PPA (n/N) (95 % доверительный интервал) = 140/157 x 100 % = 89,2 % (83,3–93,1 %)

NPA (n/N) (95 % доверительный интервал) = 147/172 x 100 % = 85,5 % (79,4–90,0 %)

Таблица 5. Согласованность результатов тестирования между CINtec *PLUS* Cytology Kit и аналогом на цервикальных цитологических препаратах SurePath

		Аналог (N)	
		+	-
CINtec *PLUS* Cytology Kit (n)	+	56	3
	-	9	108
	Всего	65	111

PPA (n/N) (95 % доверительный интервал) = 56/65 x 100 % = 86,2 % (75,7–92,5 %)

NPA (n/N) (95 % доверительный интервал) = 108/111 x 100 % = 97,3 % (92,4–99,1 %)

Таблица 6. Согласованность результатов тестирования между CINtec *PLUS* Cytology Kit и аналогом на стандартных стеклах для мазков

		Аналог (N)	
		+	-
CINtec *PLUS* Cytology Kit (n)	+	98	17
	-	20	72
	Всего	118	89

PPA (n/N) (95 % доверительный интервал) = 98/118 x 100 % = 83,1% (75,3–88,8 %)

NPA (n/N) (95 % доверительный интервал) = 72/89 x 100 % = 80,9% (71,5–87,7 %)

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Исследование среды Roche Cell Collection Medium

Оценка эффективности Roche Cell Collection Medium в сравнении с раствором PreservCyt выполнена путем окрашивания 616 пар цервикальных образцов (случаев) при помощи CINtec *PLUS* Cytology Kit. В каждом случае препарировалось одно стекло с соответствующей пробиркой PC или RCCM. Все стекла считывались группой лаборантов цитологической/патологической лаборатории вслепую, поскольку стекла были идентичны.

Результаты CINtec *PLUS* Cytology Kit со сравнением по средам (PC и RCCM) приведены в таблице 7. Частота положительных реакций рассчитывалась путем деления количества положительных случаев на общее количество адекватных случаев для каждой среды. Результаты демонстрируют отличие между двумя показателями частоты положительной реакции на 2,4 % (1,5, 6,3).

Таблица 7. Эквивалентность частоты положительных реакций при применении CINtec *PLUS* в среде Roche Cell Collection Medium (RCCM) и PreservCyt (PC)

	Результаты CINtec *PLUS* Cytology в среде PC		
Результаты CINtec *PLUS* Cytology в среде RCCM	Положительно	Отрицательно	Итого
Положительно	170	48	218
Отрицательно	37	204	241
Итого	207	252	459
Частота положительных реакций RCCM, n/N (%):	218/459 (47,5 %)		
Частота положительных реакций PC, n/N (%):	207/459 (45,1 %)		
Разница показателей частоты положительных реакций, n/N (%):	11/459 (2,4 %; 95 % доверительный интервал: -1,5, 6,3)		

Результаты исследования адекватности клеточного содержимого с применением CINtec *PLUS* Cytology, сравнивающего PreservCyt и Roche Cell Collection Medium, приведены в таблице 8. Показатели адекватности клеточного содержимого рассчитывались путем деления количества случаев с адекватным клеточным содержимым на общее количество случаев для каждой среды. Результаты демонстрируют разницу между двумя показателями адекватности в 3,2 % (-0,0, 6,6).

Таблица 8. Сравнение адекватности клеточного содержимого при применении CINtec *PLUS* в среде Roche Cell Collection Medium (RCCM) и PreservCyt (PC)

	Адекватность клеточного содержимого CINtec *PLUS* Cytology в среде PC		
Адекватность клеточного содержимого CINtec *PLUS* Cytology в среде RCCM	Да	Нет	Итого
Да	468	63	531
Нет	43	42	85
Итого	511	105	616
Показатель адекватности RCCM, n/N (%):	531/616 (86,2 %)		
Показатель адекватности PC, n/N (%):	511/616 (83,0 %)		
Разница показателей адекватности, n/N (%):	20/616 (3,2 %; 95 % доверительный интервал: -0,0, 6,6)		

ССЫЛКИ

1. Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. Dis Markers. 2007;23:315-30.
2. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. J Cell Physiol. 2000;182:311-22.
3. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D, et al. Overexpression of p16INK4a as a specific marker for dysplasia and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer 2001;92:276-84.
4. Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, et al. Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. Am J Pathol. 1998;153:1741-8.
5. Cuschieri K, Wentzensen N. Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2008;17:2536-45.
6. Bergeron C, Ordi J, Schmidt D, et al. Conjunctive p16INK4a testing significantly increases accuracy in diagnosing high-grade cervical intraepithelial neoplasia. Am J Clin Pathol. 2010;133:395-406.
7. Del Pino M, Garcia S, Fusté V, et al. Value of p16INK4a as a marker of progression/ regression in cervical intraepithelial neoplasia grade 1. Am J Obstet Gynecol. 2009; 201(5):488.
8. Ordi J, Garcia S, del Pino M, et al. p16INK4a immunostaining identifies occult CIN lesions in HPV-positive women. Int J Gynecol Pathol. 2008;28:90-7.
9. Wang SS, Trunk M, Schiffman M, et al. Validation of p16INK4a as a marker of oncogenic human papillomavirus infection in cervical biopsies from a populationbased cohort in Costa Rica. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2004;13:1355-60.
10. Galgano MT, Castle PE, Atkins KA, et al. Using biomarkers as objective standards in the diagnosis of cervical biopsies. Am J Surg Pathol. 2010;8:1077-87.
11. Carozzi F, Confortini M, Dalla Palma P, et al. Use of p16INK4a over-expression to increase the specificity of human papillomavirus testing: a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. Lancet Oncol. 2008;9:937-45.
12. Denton K, Bergeron C, Klement P, et al. The sensitivity and specificity of p16INK4a Cytology versus HPV Testing for Detecting High-Grade Cervical Disease in the Triage of ASC-US and LSIL Pap Cytology Results. Am J Clin Pathol. 2010;134:12-21.
13. Carozzi F, Gillio-Tos A, Confortini M, et al. Risk of high-grade cervical intraepithelial neoplasia during follow-up in HPV-positive women according to baseline p16-INK4a results: a prospective analysis of a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. Lancet Oncol. 2013;14(2):168-76.
14. Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, et al., PALMS study group (2013). Screening for Cervical Cancer Precursors with p16/Ki-67 Dual-stained Cytology: Results of the PALMS Study. J Natl Cancer Inst. 2013;105(20):1550-7.
15. Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, et al. p16/Ki-67 Dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL Papanicolaou cytology: Results from the European Equivocal or Mildly Abnormal Pap Cytology Study (EEMAPS). Cancer Cytopathol. 2011;119(3):158-66.
16. Petry KU, Schmidt D, Scherbring S, et al. Triaging Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. Gynecol Oncol. 2011;121(3):505-09.
17. Ravarino A, Nemolato S, Macciocu E, et al. CINtec *PLUS* immunocytochemistry as a tool for the cytologic diagnosis of glandular lesions of the cervix uteri. Am J Clin Pathol. 2012;138(5):652-56.
18. Singh M, Mockler D, Akalin A, et al. Immunocytochemical colocalization of p16(INK4a) and Ki-67 predicts CIN2/3 and AIS/adenocarcinoma. Cancer Cytopathol. 2012;120(1):26-34.
19. Waldstrøm M, Christensen RK, Ornskov D. Evaluation of p16INK4a/Ki-67 dual stain in comparison with an mRNA human papillomavirus test on liquid-based cytology samples with low-grade squamous intraepithelial lesion. Cancer Cytopathol. 2013;121(3):136-45.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

20. Wentzensen N, Schwartz L, Zuna RE, et al. Performance of p16/Ki-67 immunostaining to detect cervical cancer precursors in a colposcopy referral population. Clin Cancer Res. 2012;18(15):4154-62.
21. Killeen JL, Dye T, Grace C, et al. Improved Abnormal Pap Smear Triage Using Cervical Cancer Biomarkers. J Low Genit Tract Dis. 2014;18(1):1-7.
22. Wentzensen N, Fetterman B, Tokugawa D, et al. Interobserver reproducibility and accuracy of p16/Ki-67 dual-stain cytology in cervical cancer screening. Cancer Cytopathol, 2014. 122(12):914-20.
23. Uijterwaal MH, Witte BI, Van Kemenade FJ, et al. Triaging borderline/mild dyskaryotic Pap cytology with p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: crosssectional and longitudinal outcome study. Br J Cancer. 2014;110(6):1579-86.
24. Uijterwaal MH, Polman NJ, Witte BI, et al. Triaging HPV-positive women with normal cytology by p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: baseline and longitudinal data. Int J Cancer. 2015;136(10):2361-8.
25. Bergeron C, Ikenberg H, Sideri M, et al. Prospective evaluation of p16/Ki-67 dualstained cytology for managing women with abnormal Papanicolaou cytology: PALMS study results. Cancer Cytopathol, 2015. 123(6):373-81.
26. Wentzensen N, Fetterman B, Castle PE, et al. p16/Ki-67 Dual stain cytology for detection of cervical precancer in HPV-positive women. J Natl Cancer Inst. 2015 Sep 15;107(12):djv257
27. Gustinucci D, Giorgi Rossi P, Cesarini E, et al. Use of cytology, E6/E7 mRNA, and p16INK4a-Ki-67 to define the management of human papillomavirus (HPV)-positive women in cervical cancer screening. Am J Clin Pathol, 2016. 145(1):35-45.
28. Wright TC Jr, Behrens CM, Ranger-Moore J, et al. Triaging HPV-positive women with p16/Ki-67 dual-stained cytology: Results from a sub-study nested into the ATHENA trial. Gynecol Oncol. 2017 Jan;144(1):51-56.
29. Ebisch RM, van der Horst J, Hermsen M, et al. Evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology as triage test for high-risk human papillomavirus-positive women. Mod Pathol. 2017 Mar 17. doi: 10.1038.
30. Birdsong G., Husain M., Faison T, et al. Cervicovaginal Cytology Based on the Papanicolaou Technique; Approved Guideline- Third Edition. CLSI document GP15-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
31. Solomon D, Davey D, Kurman R, et al. The 2001 Bethesda system. Terminology for reporting results of cervical cytology. JAMA. 2002;287:2114-9.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

BENCHMARK, CINtec, VENTANA и логотип VENTANA являются товарными знаками компании Roche.

Все другие товарные знаки являются собственностью их владельцев.

© 2017 Ventana Medical Systems, Inc.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

www.ventana.com

CE

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Приложение 1 (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.) V1.0

Полное наименование изделия на русском языке

Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit для одновременного качественного определения белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах иммуноцитохимическим методом в диагностике in vitro к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark

(далее по тексту может использоваться набор реагентов, набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit, CINtec PLUS Cytology Kit, тест CINtec PLUS Cytology Kit)

Полное назначение

CINtec PLUS Cytology Kit представляет собор набор реагентов для проведения иммуноцитохимического анализа, направленный на одновременное качественное определение белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах в диагностике in vitro к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark.

Он предназначен для использования в качестве средства, позволяющего выявить цервикальные интраэпителиальные поражения высокой степени выраженности у женщин в популяции скринингового исследования, а также в подгруппах пациентов с цитологическим результатом PAP-теста в категории ASC-US (атипичные клетки плоского эпителия неясного значения) или LSIL (плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени) или у пациентов с положительными результатами ВПЧ-теста высокой степени риска.

Интерпретация результатов теста может проводиться только сертифицированным специалистом во взаимосвязи с данными истории болезни пациента и проведенных дополнительных диагностических тестов.

Данный продукт предназначен для диагностики in vitro (IVD).

Состав (дополнение)

Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit содержит следующие материалы животного происхождения:

1Название материала - Козий глобулин
Характер - Потенциальный возбудитель инфекции*
Тип - Белок, полученный из плазмы крови
Источник – Коза
2Название материала - Казеин
Характер - Потенциальный возбудитель инфекции*
Тип - Белок из коровьего молока (очищенный порошок)
Источник – Корова
3Название материала - Бычий сывороточный альбумин; фракция V
Характер - Потенциальный возбудитель инфекции*
Тип - Бычья сыворотка (фракция V)
Источник – Корова
4Название материала - Нормальная сыворотка козла
Характер - Потенциальный возбудитель инфекции*
Тип - Сыворотка
Источник – Коза

* 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.

Срок годности

CINtec PLUS Cytology Kit стабилен максимально 24 месяца с даты производства. Дату производства см. на упаковке.
CINtec PLUS Cytology Kit следует хранить при 2-8°C. Не замораживать! Набор реагентов может использоваться сразу после извлечения из холодильника.
При вскрытой упаковке флакон-дозаторы с реагентами необходимо сразу закрывать крышкой и хранить в холодильнике в вертикальном положении до истечения срока годности, указанного на этикетке.
На каждом флаконе-дозаторе с реагентом указан срок годности. Не использовать набор реагентов после истечения срока годности.

Стабильность

До вскрытия упаковки флакон-дозаторы с реагентами можно хранить – максимально 24 месяца с даты производства. Дату производства см. на упаковке.
После вскрытия флакон-дозаторы с реагентами можно хранить при 2-8°C – максимально 24 месяца с даты производства. Дату производства см. на упаковке.
Стабильность установленных на прибор реагентов после вскрытия флакон-дозаторов – не менее 21 дня при температуре не более 35°C.

Меры предосторожности и предупреждения (дополнение)

-Только для in vitro диагностики (IVD).
-Только для профессионального использования медицинским персоналом клинико-диагностических лабораторий.

Предупреждения:

- Корродирующий элемент
-H315 - При попадании на кожу вызывает раздражение.
-H318 - При попадании в глаза вызывает необратимые последствия
-H317 – Может вызывать аллергическую кожную реакцию.
-H319 – Вызывает серьезное раздражение глаз
-H350 – Может вызывать рак (указать путь воздействия, если явно доказано, что ни какие другие пути воздействия не вызывают такой опасности)
-P201 – Перед использованием получить специальные инструкции.
-P202 – Не приступать к обработке до тех пор, пока не прочитана и не понята информация о мерах предосторожности.
-P261 – Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/паров/распылителей жидкости.
-P264 – После работы тщательно вымыть ...
-P272 – Не выносить загрязненную одежду с рабочего места.
-P280 – Пользоваться защитными перчатками/защитной одеждой/средствами защиты глаз/лица.
-P302+P352 – ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды/...
-P305+P351+P338 – ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз.
-P308+P313 – ПРИ оказании воздействия или обеспокоенности: Обратиться к врачу.
-P333+P313 – При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться к врачу.
-P337+P313 – Если раздражение глаз продолжается: обратиться к врачу.
-P363 – Постирать загрязненную одежду перед последующим использованием.
-P405 – Хранить под замком.
-P501 – Удалить содержимое/контейнер в ...

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Приложение 1 (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.) **V1.0**

ВАЖНО!
Обращаем ваше внимание, что подготовка образцов с применением Roche Cell Collection Medium не применима на территории Российской Федерации.

Комплект поставки
Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit поставляется в коробке из мелованной бумаги, в каждой коробке находится 10 пластиковых дозаторов.
В комплект поставки входит:
Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit для одновременного качественного определения белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах иммуноцитохимическим методом в диагностике in vitro к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark
Состав:
1. Коктейль первичных антител (p16/Ki-67) (CINtec PLUS Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
2. Линкер кроличий (CINtec PLUS Red anti-Rabbit NP Linker) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
3. Мышиный мультимер (CINtec PLUS Red AP Multimer) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
4. Нафтол фосфат (CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
5. Хромоген Fast Red (CINtec PLUS Fast Red) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
6. Ингибитор пероксидазы (CINtec PLUS DAB Peroxidase Inhibitor) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
7. HQ линкер (CINtec PLUS DAB anti-Mouse HQ Linker) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
8. Мультимер пероксидазы хрена (CINtec PLUS DAB HRP Multimer) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
9. 3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлорид DAB (CINtec PLUS DAB) в дозаторе, объем10 мл, 1 шт.;
10. Перекись водорода (CINtec PLUS DAB H2O2) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.

Восстановление раствора, смешивание, разведение и титрование (дополнение)
Реагенты в наборе готовы к применению.

Показания к применению
Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit представляет собор набор реагентов для проведения иммуноцитохимического анализа, направленный на одновременное качественное определение белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах в диагностике in vitro к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark.
Он предназначен для использования в качестве средства, позволяющего выявить цервикальные интраэпителиальные поражения высокой степени выраженности у женщин в популяции скринингового исследования, а также в подгруппах пациентов с цитологическим результатом PAP-теста в категории ASC-US (атипичные клетки плоского эпителия неясного значения) или LSIL (плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени) или у пациентов с положительными результатами ВПЧ-теста высокой степени риска.
Интерпретация результатов теста может проводиться только сертифицированным специалистом во взаимосвязи с данными истории болезни пациента и проведенных дополнительных диагностических тестов.
Данный продукт предназначен для диагностики in vitro (IVD).

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)
Положительный контроль
Образцы, подготовленные таким же образом, как и образец-(ы) пациента, должны использоваться в качестве положительных контрольных образцов. Положительные контрольные образцы указывают на правильную подготовку образцов и соответствующие методики окрашивания. В каждый цикл окрашивания должен входить один положительный контрольный образец.
Заведомо положительные контрольные образцы следует использовать только для проверки правильности самой процедуры окрашивания обработанных образцов и качества реагентов, но не для постановки конкретного диагноза на основании исследуемых образцов. Если контрольные образцы не дают соответствующего положительного окрашивания, результаты окрашивания данной партии исследуемых образцов следует считать недействительными.
Заведомо положительным контрольным образцом считается тот цервикальный образец для цитологических исследований, который имеет одну или более количество клеток с одновременным присутствием особого коричневого иммуноокрашивания цитоплазмы, указывающего на повышенную экспрессию p16INK4a и особого красного иммуноокрашивания ядра, указывающее на экспрессию Ki-67 в пределах одной клетки.

Образец пациента
Квалифицированный специалист классифицирует образцы по положительному и отрицательному результату теста, фоновому окрашиванию и адекватности образца.
Квалифицированный специалист в справочных целях классифицирует образцы по интенсивность окрашивания по шкале 0-3+.

Таблица 2. Определение показателей интенсивности сигнала

Окрашивание p16INK4a	Окрашивание Ki-67	Интенсивность
Сильное специфическое окрашивание в цвет от коричневого до черного, которое выглядит однородным и является цитоплазматическим и/или ядерным.	Сильное специфическое окрашивание в цвет от красного до бордового, которое выглядит равномерным и локализуется в ядре.	3
Сильное специфическое окрашивание в коричневый цвет, которое выглядит однородным и является цитоплазматическим и/или ядерным.	Сильное специфическое окрашивание в красный цвет, которое выглядит равномерным и локализуется в ядре.	2,5
Умеренное специфическое окрашивание в коричневый цвет, которое выглядит однородным и является цитоплазматическим и/или ядерным.	Умеренное специфическое окрашивание в красный цвет, которое выглядит равномерным и локализуется в ядре.	2
Умеренное специфическое окрашивание в коричневый цвет, которое выглядит зернистым и является цитоплазматическим и/или ядерным.	Умеренное специфическое окрашивание в красный цвет, которое выглядит пунктированным и локализуется в ядре.	1,5

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Слабое специфическое окрашивание в коричневый цвет, которое выглядит зернистым и является цитоплазматическим и/или ядерным.	Слабое специфическое окрашивание в цвет от красного до розового, которое выглядит пунктированным и локализуется в ядре.	1
Очень слабое специфическое окрашивание в коричневый цвет, которое выглядит зернистым и является цитоплазматическим и/или ядерным.	Очень слабое окрашивание в красный или розовый цвет, которое выглядит пунктированным и локализуется в ядре.	0,5
Коричневое окрашивающее средство не представлено.	Красное окрашивающее средство не представлено.	0

Положительный результат теста
Положительным результатом теста CINtec PLUS Cytology Kit считается наличие одной или большего количества клеток с одновременным присутствием особого коричневого иммуноокрашивания цитоплазмы, указывающего на повышенную экспрессию p16INK4a и особого красного иммуноокрашивания ядра, указывающее на экспрессию Ki-67 в пределах одной клетки.

Отрицательный результат теста
Отрицательным результатом теста CINtec PLUS Cytology Kit считается отсутствие цервикальных клеток эпителия, имеющих одновременное коричневое иммуноокрашивание цитоплазмы, указывающего на повышенную экспрессию p16INK4a и красное иммуноокрашивание ядра, указывающее на экспрессию Ki-67.
Наличие цервикальных клеток эпителия, проявляющих иммунореактивность только в отношении одного, а не двух маркеров (например, только коричневое окрашивание с указанием на экспрессию p16INK4a или только красное окрашивание, свидетельствующее о экспрессии Ki-67), не считается положительным результатом теста CINtec PLUS Cytology Kit.

Фоновое окрашивание набором реагентов CINtec PLUS Cytology Kit
Коричневое окрашивание клеток (цитоплазмы и (или) ядра), указывающее на повышенную экспрессию p16INK4a и красное окрашивание клеток (ядра), указывающее на экспрессию Ki-67 должно иметь приемлемое фоновое окрашивание.
Приемлемое фоновое окрашивание должно составлять ≤0,75 балла в соответствии с критериями, приведенными вТаблице 3.

Таблица 3. Критерии фонового окрашивания набором реагентов CINtec PLUS Cytology Kit.

Классификация	Наблюдение под микроскопом	Оценка
Приемлемо	Отсутствует различимое неспецифическое (фоновое) окрашивание	0,00
	Едва различимое неспецифическое окрашивание, которое не мешает интерпретации окрашивания.	0,25
	В некоторой степени различимое неспецифическое окрашивание, которое не мешает интерпретации окрашивания.	0,50
	Выраженное различимое неспецифическое окрашивание, которое не мешает интерпретации окрашивания.	0,75
Не приемлемо	Значительно различимое неспецифическое окрашивание, которое мешает интерпретации окрашивания.	1,00

Фоновое окрашивание на участках высокой плотности клеток, слизи или бактерий является приемлемым и не должно включаться в оценку фонового окрашивания.

Красный ядерный пятнистый фон должен учитываться в общей оценке красного фонового окрашивания.

Адекватность образца
Образец считается адекватным, если имеет адекватную клеточность (имеет ≥5000 хорошо сохранившихся цервикальных клеток эпителия)
Образец считается не адекватным, если не имеет адекватную клеточность (имеет <5000 хорошо сохранившихся цервикальных клеток эпителия)
Затемненные элементы (то есть, бактерии, слизь, воспаление, кровь и т.д.) должны присутствовать не более чем на 25% от площади образца.

Эксплуатационные характеристики - аналитическая чувствительность и специфичность (дополнение)
Аналитическая чувствительность:
В целом набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit не позволяет напрямую определять «аналитическую чувствительность». Причины неприменимости описаны далее.

«Аналитическая чувствительность» по уровню белка
Согласно назначению «CINtec PLUS Cytology Kit представляет собой набор реагентов для проведения иммуноцитохимического анализа, направленный на одновременное качественное определение белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах.» Таким образом, иммуноцитохимический анализ CINtec PLUS Cytology Kit не измеряет концентрации целевого аналита (белки p16 и Ki-67). Наименьшее количество аналита (например, молекулы белка, концентрация белка), которое может быть обнаружено с помощью цитологического набора CINtec PLUS Cytology Kit, не может быть определено как конкретное значение или диапазон, как это было бы в случае количественного или полуколичественного анализа.
Кроме того, оценка самого низкого уровня экспрессии, который может быть обнаружен для обоих биомаркеров, зависит от субъективной оценки сертифицированного специалиста (например, цитотехнолога, патолога), а не от вывода устройства компьютерного анализа изображений, которое может позволить беспристрастное измерение уровни интенсивности для конкретных хромогенов.

«Аналитическая чувствительность» на клеточном уровне
Согласно интерпретации результатов:
«В целях интерпретации стекол с цервикальными образцами для цитологических исследований, окрашенными с помощью CINtec PLUS Cytology Kit, необходимо проводить оценку образцов на стеклах с учетом наличия цервикальных эпителиальных клеток, демонстрирующих окрашивание цитоплазмы в коричневый цвет и ядра в красный цвет, что указывает на одновременную экспрессию p16INK4a и Ki-67.»
Положительным результатом теста CINtec PLUS Cytology считается наличие одной или большего количества клеток с одновременным присутствием особого коричневого иммуноокрашивания цитоплазмы и особого красного иммуноокрашивания ядра в пределах одной клетки.
Пограничное значение точки реакции, ниже которого качественный результат теста считается отрицательным и выше которого результат определяется как положительный (или наоборот)], не связано с определенным уровнем выражения для интенсивности окрашивания) обоих биомаркеров в одной и той же клетке, но на основе присутствия одной или нескольких цервикальных эпителиальных клеток с совместной локализацией p16 в виде коричневого цитоплазматического

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

иммуноокрашивания, а также Ki-67 в виде красного ядерного иммуноокрашивания в одной и той же клетке.
Поэтому результаты теста являются номинальными (положительными или отрицательными), такими как наличие или отсутствие клетки, которая показывает экспрессию обоих белков (генных продуктов) на основе субъективной оценки квалифицированного читателя (например, цитотехнолога, патолога), как обсуждалось ранее.
Пограничное значение также основано на биологическом рационализме, согласно которому экспрессия маркера пролиферации Ki-67 и p16INK4a в одной и той же клетке должна взаимно исключать друг друга в нормальных физиологических условиях. Таким образом, сопутствующая экспрессия Ki-67 и p16INK4a в одной отдельной клетке может использоваться в качестве индикатора для дерегуляции контроля клеточного цикла в этой соответствующей клетке. На основании этого пограничного значения было показано, что одновременное обнаружение экспрессии регуляторного белка p16INK4a клеточного цикла и маркера пролиферации Ki-67 позволяет идентифицировать женщин с высокоспецифичной цервикальной интраэпителиальной неоплазией (CIN) с высокой чувствительностью и специфичностью [например, Шмидт и соавт., Цитопатология рака 2011].

В связи с тем, что определить «аналитическую чувствительность» напрямую не предоставляется возможным, результаты анализа цитологии с помощью CINtec PLUS Cytology Kit были тщательно проанализированы путем сравнения результатов теста с представленным в настоящее время на рынке продуктом (Набор диагностический для цитологии CINtec PLUS (CINtec Cytology PLUS Kit) для ретроспективных образцов и представлены как PPA (положительная согласованность) и NPA (отрицательное согласованность) в соответствии с критериями приемлемости, указанными в внутренних протоколах производителя и в соответствии со Статистическим руководством FDA по представлению результатов исследований, оценивающих диагностические тесты (выпущено: 13 марта 2007, Docket No. 2003D-0044). Описание исследования и результаты описаны в главе «Исследование конкордантности».

Повторяемость и воспроизводимость

Воспроизводимость между партиями CINtec PLUS Cytology Kit
Для оценки воспроизводимости результатов между партиями CINtec PLUS Cytology Kit было использовано по три образца для каждого подготовленного предметного стекла ThinPrep и ShurePath на иммуностейнере автоматическом VENTANA BenchMark XT. Каждое подготовленное предметное стекло ThinPrep и ShurePath было окрашено тремя партиями набора реагентов CINtec PLUS Cytology Kit.
Стандартные стекла для мазков не были включены в данное исследование, потому что они являются уникальными предметными стеклами, которые не могут быть проверены на воспроизводимость.

Воспроизводимость результатов внутри цикла на иммуностейнерах VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (внутрисуточная воспроизводимость)
Для оценки воспроизводимости результатов внутри цикла для набора реагентов CINtec PLUS Cytology Kit было проведено по два прогона (по одному для каждого типа подготовленных предметных стекол (ThinPrep и SurePath)) на каждом иммуностейнере автоматическом VENTANA BenchMark XT, VENTANA BenchMark GX и VENTANA BenchMark ULTRA в течение одного дня. Для иммуностейнеров автоматических VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA всего было исследовано 27 предметных стекол ThinPrep и 27 предметных стекол ShurePath, а для иммуностейнера автоматического VENTANA BenchMark GX всего было исследовано 18 предметных стекол ThinPrep и 18 предметных стекол ShurePath. Стандартные стекла для мазков не были включены в данное исследование, потому что они являются уникальными предметными стеклами, которые не могут быть проверены на воспроизводимость.

Воспроизводимость результатов окрашивания на иммуностейнерах VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (межсуточная воспроизводимость)
Для оценки воспроизводимости результатов окрашивания (межсуточная воспроизводимость) для набора реагентов CINtec PLUS Cytology Kit было проведено по три прогона каждого типа предметных стекол (ThinPrep и SurePath)) на каждом иммуностейнере автоматическом VENTANA BenchMark XT, VENTANA BenchMark GX и VENTANA BenchMark ULTRA в течение пяти непоследовательных дней. Для иммуностейнеров автоматических VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA всего было исследовано 27 предметных стекол ThinPrep и 27 предметных стекол ShurePath, а для иммуностейнера автоматического VENTANA BenchMark GX было исследовано 30 предметных стекол ThinPrep и 30 предметных стекол ShurePath. Стандартные стекла для мазков не были включены в данное исследование, потому что они являются уникальными предметными стеклами, которые не могут быть проверены на воспроизводимость.

Воспроизводимость в пределах одной платформы на иммуностейнерах VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (внутриплатформенная воспроизводимость)
Воспроизводимость в пределах одной платформы на иммуностейнерах VENTANA BenchMark GX.
Для оценки воспроизводимости в пределах одной платформы для набора реагентов CINtec PLUS Cytology Kit было использовано три иммуностейнера автоматических VENTANA BenchMark GX. Всего было исследовано 30 предметных стекол ThinPrep и 30 предметных стекол ShurePath. Стандартные стекла для мазков не были включены в данное исследование, потому что они являются уникальными предметными стеклами, которые не могут быть проверены на воспроизводимость.

Воспроизводимость в пределах одной платформы на иммуностейнерах VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA.
Для оценки воспроизводимости в пределах одной платформы для набора реагентов CINtec PLUS Cytology Kit было использовано три иммуностейнера автоматических VENTANA BenchMark XT и три иммуностейнера автоматических VENTANA BenchMark ULTRA. Всего было исследовано 6 предметных стекол ThinPrep и 6 предметных стекол ShurePath. Стандартные стекла для мазков не были включены в данное исследование, потому что они являются уникальными предметными стеклами, которые не могут быть проверены на воспроизводимость.

Воспроизводимость в пределах одной платформы между иммуностейнерами VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (межплатформенная воспроизводимость)
Для оценки воспроизводимости в пределах одной платформы между стейнерами VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA для набора реагентов CINtec PLUS Cytology Kit было использовано три иммуностейнера автоматических BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA. Всего было исследовано 30 предметных стекол ThinPrep и 30 предметных стекол ShurePath. Стандартные стекла для мазков не были включены в данное исследование, потому что они являются уникальными предметными стеклами, которые не могут быть проверены на воспроизводимость.

Критерии приемлемости:
Воспроизводимость между партиями CINtec PLUS Cytology Kit:
Образцы предметных стекол (ThinPrep и SurePath), окрашенные при помощи CINtec PLUS Cytology Kit, должны демонстрировать согласованность результатов окрашивания как минимум 90% окрашенных адекватных образцов для всех трех различных партий с интенсивностью фонового окрашивания ≤0,75 балла.

Воспроизводимость результатов внутри цикла на иммуностейнерах VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (внутрисуточная воспроизводимость):
Образцы предметных стекол (ThinPrep и SurePath), окрашенные при помощи CINtec PLUS Cytology Kit, должны демонстрировать согласованность результатов окрашивания как минимум 90% окрашенных адекватных образцов с интенсивностью фонового окрашивания ≤0,75 балла в течение одного дня.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Воспроизводимость результатов окрашивания на иммуностейнерах VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (межсуточная воспроизводимость):
Образцы предметных стекол (ThinPrep и SurePath), окрашенные при помощи CINtec PLUS Cytology Kit, должны демонстрировать согласованность результатов окрашивания как минимум 90% окрашенных адекватных образцов с интенсивностью фонового окрашивания ≤0,75 балла в течение пяти непоследовательных дней.

Воспроизводимость в пределах одной платформы на иммуностейнерах VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (внутриплатформенная воспроизводимость):
Образцы предметных стекол (ThinPrep и SurePath), окрашенные при помощи CINtec PLUS Cytology Kit, должны демонстрировать согласованность результатов окрашивания как минимум 90% окрашенных адекватных образцов с интенсивностью фонового окрашивания ≤0,75 балла между тремя приборами одной и той же платформы.

Воспроизводимость в пределах одной платформы между стейнерами VENTANA BenchMark GX, VENTANA BenchMark XT и VENTANA BenchMark ULTRA (межплатформенная воспроизводимость):
Образцы предметных стекол (ThinPrep и SurePath), окрашенные при помощи CINtec PLUS Cytology Kit, должны демонстрировать согласованность результатов окрашивания как минимум 90% окрашенных адекватных образцов с интенсивностью фонового окрашивания ≤0,75 балла в трех приборах.

Конкордантность (дополнение)
Критерии приемлемости:
Наборы реагентов должны показать конкордантное положительное/отрицательное окрашивание на цервикальных цитологических препаратах ThinPrep как минимум у 80% окрашенных образцов с нижней границей ДИ 95%.
Наборы реагентов должны показать конкордантное положительное/отрицательное окрашивание на цервикальных цитологических препаратах SurePath как минимум у 80% окрашенных образцов с нижней границей ДИ 95%.
Наборы реагентов должны показать конкордантное положительное/отрицательное окрашивание на стандартных стеклах для мазков как минимум у 80% окрашенных образцов с нижней границей ДИ 95%.

Упаковка
Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit поставляется в коробке из мелованной бумаги, в каждой коробке находится 10 пластиковых дозаторов. Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit содержит достаточное количество реагентов для проведения 100 анализов.
На каждой упаковочной коробке находится магнитная «кнопка памяти», которая содержит всю необходимую информацию о наборе реагентов.
Более подробно о «кнопке памяти» читайте в Руководстве по эксплуатации к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark.

Первичная упаковка - дозатор.
Коктейль первичных антител (p16/Ki-67) (CINtec PLUS Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67) – упакован в пластиковый дозатор белого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
Линкер кроличий (CINtec PLUS Red anti-Rabbit NP Linker) – упакован в пластиковый дозатор коричневого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
Мышиный мультимер (CINtec PLUS Red AP Multimer) – упакован в пластиковый дозатор коричневого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
Нафтол фосфат (CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate) – упакован в пластиковый дозатор коричневого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
Хромоген Fast Red (CINtec PLUS Fast Red) – упакован в пластиковый дозатор коричневого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
Ингибитор пероксидазы (CINtec PLUS DAB Peroxidase Inhibitor) – упакован в пластиковый дозатор коричневого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
HQ линкер (CINtec PLUS DAB anti-Mouse HQ Linker) – упакован в пластиковый дозатор коричневого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
Мультимер пероксидазы хрена (CINtec PLUS DAB HRP Multimer) – упакован в пластиковый дозатор коричневого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлорид DAB (CINtec PLUS DAB) – упакован в пластиковый дозатор белого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл
Перекись водорода (CINtec PLUS DAB H2O2) – упакован в пластиковый дозатор коричневого цвета, объем реагента в дозаторе 10 мл

Размеры всех дозаторов идентичные и составляют:
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 (260 x 134 x 145) мм, магнитная «кнопка памяти» (диаметр не более 17 мм).
Упаковка изделия обеспечивает достаточную защиту от механических, климатических воздействий при условии соблюдения правил транспортировки.

Маркировка
В соответствии с ДИРЕКТИВАМИ ЕС производитель использует следующие символы и знаки:

Символ	Определение	Символ	Определение
	Смотрите инструкцию по применению	IVD	Для диагностики in vitro
REF	Каталожный номер	LOT	Код партии
	Производитель		Использовать до (срок годности)
CE	CE-маркировка		Опасность для здоровья
GTIN	Глобальный номер предмета торговли		Пригоден для вторичной переработки
	Температурные ограничения		Не использовать повторно
	Дата изготовления		QR-код
	Серьезная опасность для здоровья	Σ	Содержит достаточно для n-исследований
Danger	Опасно!		

Маркировка дозатора Коктейль первичных антител (p16/Ki-67) (CINtec PLUS Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67)
Логотип производителя
Наименование изделия

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Приложение 1 (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.) **V1.0**

Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Знак «Опасность для здоровья»
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора Линкер кроличий (CINtec PLUS Red anti-Rabbit NP Linker)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Знак «Опасность для здоровья»
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора Мышиный мультимер (CINtec PLUS Red AP Multimer)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Знак «Опасность для здоровья»
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора Нафтол фосфат (CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Знак «Опасность для здоровья»
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора Хромоген Fast Red (CINtec PLUS Fast Red)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Знак «Опасность для здоровья»
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора Ингибитор пероксидазы (CINtec PLUS DAB Peroxidase Inhibitor)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора HQ линкер (CINtec PLUS DAB anti-Mouse HQ Linker)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Знак «Опасность для здоровья»
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора Мультимер пероксидазы хрена (CINtec PLUS DAB HRP Multimer)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Знак «Опасность для здоровья»
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора 3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлорид DAB (CINtec PLUS DAB)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Предупреждение - не использовать повторно
Температура хранения
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Приложение 1 (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.) **V1.0**

Знак «Серьезная опасность для здоровья»
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка дозатора Перекись водорода (CINtec PLUS DAB H2O2)
Логотип производителя
Наименование изделия
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Срок годности (использовать до)
Температура хранения
Предупреждение - не использовать повторно
CE-маркировка
Предупреждение для диагностики in vitro
Смотрите инструкцию по применению
Название и адрес производителя
Штрих-код

Маркировка картонной упаковки
Логотип производителя
Наименование изделия
Содержимое набора
Объем реагента в дозаторе (концентрация специфических антител)
Каталожный номер
Код партии
Дата производства
Срок годности
Количество тестов, которые можно сделать
Температура хранения
Предупреждение для диагностики in vitro
CE-маркировка
QR-код
Штрих-код
Производственный код
Глобальный номер предмета торговли
Предупреждение - не использовать повторно
Полное название, адрес, телефон производителя
Ссылка на электронную инструкцию на русском языке
Страна происхождения
Обозначение, что пригодно для вторичной переработки
Знак «Серьезная опасность для здоровья»
Знак «Опасно»
Знак «Опасность для здоровья»

Знаки предупреждения:

- Корродирующий элемент

Предупреждения:
-H317 – Может вызывать аллергическую кожную реакцию.
-H319 – Вызывает серьезное раздражение глаз
-H350 – Может вызывать рак (указать путь воздействия, если явно доказано, что ни какие другие пути воздействия не вызывают такой опасности)
-P201 – Перед использованием получить специальные инструкции.
-P202 – Не приступать к обработке до тех пор, пока не прочитана и не понята информация о мерах предосторожности.
-P261 – Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/паров/распылителей жидкости.
-P264 – После работы тщательно вымыть ...
-P272 – Не выносить загрязненную одежду с рабочего места.
-P280 – Пользоваться защитными перчатками/защитной одеждой/средствами защиты глаз/лица.
-P302+P352 – ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды/...
-P305+P351+P338 – ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз.
-P308+P313 – ПРИ оказании воздействия или обеспокоенности: Обратиться к врачу.
-P333+P313 – При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться к врачу.
-P337+P313 – Если раздражение глаз продолжается: обратиться к врачу.
-P363 – Постирать загрязненную одежду перед последующим использованием.
-P405 – Хранить под замком.
-P501 – Удалить содержимое/контейнер в ...

Маркировка на русском языке

H315, H318

Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit для одновременного качественного определения белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах иммуноцитохимическим методом в диагностике in vitro к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark

Состав:
1. Коктейль первичных антител (p16/Ki-67) (CINtec PLUS Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
2. Линкер кроличий (CINtec PLUS Red anti-Rabbit NP Linker) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
3. Мышиный мультимер (CINtec PLUS Red AP Multimer) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
4. Нафтол фосфат (CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
5. Хромоген Fast Red (CINtec PLUS Fast Red) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
6. Ингибитор пероксидазы (CINtec PLUS DAB Peroxidase Inhibitor) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
7. HQ линкер (CINtec PLUS DAB anti-Mouse HQ Linker) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
8. Мультимер пероксидазы хрена (CINtec PLUS DAB HRP Multimer) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.;
9. 3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлорид DAB (CINtec PLUS DAB) в дозаторе, объем10 мл, 1 шт.;
10. Перекись водорода (CINtec PLUS DAB H2O2) в дозаторе, объем 10 мл, 1 шт.

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 Диагностикс 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 06889565001 (605-100)

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 Диагностикс 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 Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit для одновременного качественного определения белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах иммуноцитохимическим методом в диагностике in vitro к иммуностейнерам 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.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Приложение 1 (Раздел специально предназначен для инструкции по применению на русском языке.) **V1.0**

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 Диагностикс 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 Диагностикс ГмбХ")) гарантирует, что CINtec PLUS Cytology Kit для одновременного качественного определения белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах иммуноцитохимическим методом в диагностике in vitro к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark соответствуют спецификациям, заявленным на упаковке. 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 CINtec PLUS Cytology Kit 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 CINtec PLUS Cytology Kit 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

Претензии 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:
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:
Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit предназначен для использования со следующими иммуностейнерами автоматическими серии VENTANA BenchMark:
- BenchMark GX (Иммуногистостейнер автоматический BenchMark GX с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2011-08976 от 27.01.2017 г.))
- BenchMark XT (Иммуностейнер автоматический Ventana BenchMark XT с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05251от 28.01.2016 г.))
- BenchMark ULTRA (Иммуностейнер автоматический Ventana BenchMark ULTRA с принадлежностями (Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05250 от 28.01.2016 г.)).

Рекомендуемые материалы для использования:
- Hematoxylin (Гистологический краситель Гематоксилин) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.
- Bluing Reagent (Реагент для придания окраске синего цвета) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.
- Reaction Buffer Concentrate (10X) (Реакционный буфер (концентрат – 10X)) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.
- CCI (Pre-dilute) (TRIS/Борат/ЭДТА буфер (CC1) для демаскировки антигена, разведенный) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.
- ULTRA CC1 (TRIS/Борат/ЭДТА буфер (CC1) для демаскировки антигена, разведенный) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.
- CC2 Pre-dilute (Цитратный буфер для демаскировки антигена, разведенный) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г..
- ULTRA CC2 (Цитратный буфер (CC2) для демаскировки антигена, разведенный) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.
- EZ Prep Concentrate (10X) (Раствор для проведения депарафинизации, концентрированный) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.
- LCS (Pre-dilute) (Жидкое покровное стекло высокотемпературное, разведенное) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.
- ULTRA LCS (Жидкое покровное стекло высокотемпературное, разведенное) Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2009-05437 от 03.02.2016 г.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

[*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:* 30 июня 2020 г.]

/подпись/
Клаудия Зеелер (Claudia Seeler)
Нотариус г. Маннхайм

[*Печать*:
Клаудия Зеелер (Claudia Seeler)
Нотариус в г. Маннхайм]

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

[*На бланке компании «Рош Диагностикс ГмбХ»*]

[*Логотип «СИНтек ПЛЮС»*]
[*Логотип компании «Рош»*]
Вер. 1.0

[*Заголовок документа «Инструкция по применению на медицинское изделие „Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit для одновременного качественного определения белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах иммуноцитохимическим методом 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.*]

«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: 29 июня 2020 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)]

2020 г.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

[*Далее следует текст документа «Инструкция по применению на медицинское изделие „Набор реагентов CINtec PLUS Cytology Kit для одновременного качественного определения белков p16INK4a и Ki-67 в цервикальных цитологических препаратах иммуноцитохимическим методом в диагностике in vitro к иммуностейнерам автоматическим серии BenchMark"», представленный на русском языке.*]

1. Вентцензен Н., фон Кнебель Дёберитц М. Биомаркеры при скрининге рака шейки матки. Маркеры заболеваний. 2007 г.;23:315-30 (Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. Dis Markers. 2007;23:315-30).

2. Шольцен Т., Гердес Й. Белок Ki-67: от известного и неизвестного. Журнал клеточной физиологии, 2000 г.;182:311-22 (Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. J Cell Physiol. 2000;182:311-22).

3. Клэс Р., Фридрих Т., Спитковски Д. и соавт. Избыточная экспрессия $p16_{INK4a}$ как особый маркер для дисплазии и опухолевых клеток эпителия шейки матки. Международный журнал рака, 2001 г.;92:276-84 (Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D, et al. Overexpression of $p16_{INK4a}$ as a specific marker for dysplasia and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer 2001;92:276-84).

4. Сано Т., Ояма Т., Касивабара К. и соавт. Статус экспрессии белка p16 связан с онкогенным потенциалом вируса папилломы человека при поражениях шейки матки и гениталий. Американский журнал патологии, 1998 г.;153:1741-8 (Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, et al. Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. Am J Pathol. 1998;153:1741-8).

5. Кушиери К., Вентцензен Н. Выявление мРНК вируса папилломы человека и p16 в качестве биомаркеров для более эффективной диагностики неоплазии шейки матки. Эпидемиология, биомаркеры и профилактика рака. 2008 г.;17:2536-45 (Cuschieri K, Wentzensen N. Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2008;17:2536-45).

6. Бержерон К., Орди Дж., Шмидт Д. и соавт. Дополнительное тестирование на $p16_{INK4a}$ значительно повышает точность диагностики цервикальной интраэпителиальной неоплазии высокой степени тяжести. Американский журнал клинической патологии. Американский журнал клинической патологии. 2010 г.;133:395-406 (Bergeron C, Ordi J, Schmidt D. et al. Conjunctive $p16_{INK4a}$ testing significantly increases accuracy in diagnosing high-grade cervical intraepithelial neoplasia. Am J Clin Pathol. 2010;133:395-406).

7. Дель Пино М., Гарсиа С., Фусте В. и соавт. Значимость $p16_{INK4a}$ как маркера прогрессирования / регрессии цервикальной интраэпителиальной неоплазии 1 степени. Американский журнал акушерства и гинекологии, 2009 г.;201 (5):488 (Del Pino M, Garcia S, Fuste V, et al. Value of $p16_{INK4a}$ as a marker of progression/ regression in cervical intraepithelial neoplasia grade 1. Am J Obstet Gynecol. 2009; 201 (5):488).

8. Орди Дж., Гарсиа С., дель Пино М. и соавт. Иммуноокрашивание с использованием $p16_{INK4a}$ выявляет скрытые очаговые поражения шейки матки у ВПЧ-положительных женщин. Международный журнал гинекологической патологии 2008 г.;28:90-7

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

(Ordi J, Garcia S, del Pino M, et al. p16$_{INK4a}$ immunostaining identifies occult CIN lesions in HPV-positive women. Int J Gynecol Pathol. 2008;28:90-7).

9. Ван С.С., Транк М., Шиффман М. и соавт. Валидация белка p16$_{INK4a}$ как маркера онкогенного вируса папилломы человека при биопсии шейки матки у группы популяции в Коста-Рике. Эпидемиология, биомаркеры и профилактика рака, 2004 г.;13:1355-60 (Wang SS, Trunk M, Schiffman M, et al. Validation of p16$_{INK4a}$ as a marker of oncogenic human papillomavirus infection in cervical biopsies from a populationbased cohort in Costa Rica. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2004;13:1355-60).

10. Галгано М.Т., Касл П.Э., Аткинс К.А. и соавт. Применение биомаркеров как объективных стандартов при проведении диагностики с помощью биопсия шейки матки. Американский журнал хирургической патологии, 2010 г., 8:1077-87 (Galgano MT, Castle PE, Atkins KA, et al. Using biomarkers as objective standards in the diagnosis of cervical biopsies. Am J Surg Pathol. 2010;8:1077-87).

11. Кароцци Ф., Конфортини М., Далиа Палма Р., и соавт. Использование избыточной экспрессии p16$_{INK4a}$ для повышения специфичности тестирования на вирус папилломы человека: гнездовое подисследование в рамках рандомизируемого контролируемого испытания NTCC. Хирургическая онкология, 2008 г.:9:937-45 (Carozzi F, Confortini M, Dalia Palma P, et al. Use of p16$_{INK4a}$ over-expression to increase the specificity of human papillomavirus testing: a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. Lancet Oncol. 2008;9:937-45).

12. Дентон К., Бержерон К., Клемент П. и соавт. Чувствительность и специфичность цитологии p16$_{INK4a}$ по сравнению с тестом на ВПЧ при выявлении заболеваний шейки матки высокой степени тяжести при сортировке результатов анализа мазка на цитологию ASC-US и LSIL. Американский журнал клинической патологии, 2010 г.;134:12-21 (Denton K, Bergeron C, Klement P, et al. The sensitivity and specificity of p16$_{INK4a}$ Cytology versus HPV Testing for Detecting High-Grade Cervical Disease in the Triage of ASC-US and LSIL Pap Cytology Results. Am J Clin Pathol. 2010;134:12-21).

13. Кароцци Ф., Гиллио-Тос А., Конфортини М. и соавт. Риски возникновения интраэпителиальной цервикальной неоплазии с высокой степенью озлокачествления при последующем наблюдении женщин с ВПЧ в соответствии с изначальными результатами p16$_{INK4a}$: подисследование в рамках рандомизируемого контролируемого испытания NTCC, Ланцет, онкология, 2013 г., 14(2):168-76 (Carozzi F, Gillio-Tos A, Confortini M, et al. Risk of high-grade cervical intraepithelial neoplasia during follow-up in HPV-positive women according to baseline p16$_{INK4a}$ results: a prospective analysis of a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. Lancet Oncol. 2013;14(2):168-76).

14. Икенберг Х., Бержерон К., Шмидт Д. и соавт. Группа исследователей PALMS (2013 г.) Скрининг предвестников рака шейки матки с цитологическим исследованием методом двойного окрашивания на p16/Ki-67: результаты исследования PALMS. Журнал национального института онкологии США, 2013 г., 105(20):1550-7 (Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, et al., PALMS study group (2013). Screening for Cervical Cancer Precursors with p16/Ki-67 Dual-stained Cytology: Results of the PALMS Study. J Nad Cancer Inst. 2013;105(20):1550-7).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

15. Шмидт Д., Бержерон К., Дентон К.Дж. и соавт. Цитологическое исследование методом двойного окрашивания p16/Ki-67 при сортировке результатов цитологического исследования мазка по Папаниколау по ASC-US и LSIL: результаты европейского исследования неоднозначных или умеренно патологических результатов ПАП-теста (EEMAPS). Цитопатология рака, 2011 г., 119(3):158-66 (Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, et al. p16/Ki-67 Dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL Papanicolaou cytology: Results from the European Equivocal or Mildly Abnormal Pap Cytology Study (EEMAPS). Cancer Cytopathol. 2011;119(3):158-66).

16. Петри К.У., Шмидт Д., Шербринг С. и соавт. Сортировка ПАП-отрицательных ВПЧ-положительных результатов скринингового обследования на рак шейки матки при помощи цитологического исследования с двойным окрашиванием на p16/Ki-67, Гинекологическая онкология, 2011 г., 121(3):505-09 (Petry KU, Schmidt D, Scherbring S, et al. Triaging Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. Gynecol Oncol. 2011;121(3):505-09).

17. Раварино А., Немолато С., Макдоку Э. и соавт. Применение иммуногистохимического исследования CINtec PLUS в качестве инструмента для проведения цитологической диагностики гландулярных поражений шейки матки, Американский журнал клинической патологии, 2012 г., 138(5):652-56 (Ravarino A, Nemolato S, Macdocu E, et al. CINtec PLUS immunocytochemistry as a tool for the cytologic diagnosis of glandular lesions of the cervix uteri. Am J Clin Pathol. 2012;138(5):652-56).

18. Синг М., Моклер Д., Акалин А. и соавт. Иммуногистохимиечская колокализация $p16_{INK4a}$ и Ki-67 прогнозирует возникновение аденокарциномы CIN2/3 и AIS, Цитопатология рака, 2012 г., 120(1):26-34 (Singh M, Mockler D, Akalin A, et al. Immunocytochemical colocalization of $p16_{INK4a}$ and Ki-67 predicts CIN2/3 and AIS/adenocarcinoma. Cancer Cytopathol. 2012;120(1):26-34).

19. Валдстром М., Кристенсен Р.К., Омсков Д. Оценка двойного окрашивания $p16_{INK4a}$/Ki-67 по сравнению с тестом на мРНК вируса папилломы человека с использованием образцов жидкостной цитологии с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями низкой степени тяжести. Цитопатология рака, 2013 г., 121(3):136-45 (Waldstrøm M, Christensen RK, Omskov D. Evaluation of $p16_{INK4a}$/Ki-67 dual stain in comparison with an mRNA human papillomavirus test on liquid-based cytology samples with low-grade squamous intraepithelial lesion. Cancer Cytopathol. 2013;121(3):136-45).

20. Вентцензен Н., Шварц Л., Зуна Р.Э. и соавт. Эффективность иммуноокрашивания на онкобелки p16/Ki-67 для выявления предшественников рака шейки матки в популяции пациенток, направленных на проведение кольпоскопии. Клинические исследования рака, 2012 г., 18(15):4154-62 (Wentzensen N, Schwartz L, Zuna RE, et al Performance of p16/Ki-67 immunostaining to detect cervical cancer precursors in a colposcopy referral population. Clin Cancer Res. 2012;18(15):4154-62).

21. Киллин Дж.Л., Дай Т., Грейс К. и соавт. Улучшенная сортировка отклоняющихся от нормы мазков по Папаниколау с использованием биомаркеров рака шейки матки. Журнал заболеваний нижних половых путей, 2014 г., 18(1):1-7 (Killeen JL, Dye T, Grace C, et al. Improved Abnormal Pap Smear Triage Using Cervical Cancer Biomarkers. J Low Genit Tract Dis. 2014;18(1):1-7).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

22. Вентцензен Н., Феттерман Б., Токугава Д. и соавт. Воспроизводимость между различными исследователями и точность цитологии с двойным окрашиванием p16/Ki-67 при скрининге на рак шейки матки. Цитопатология рака, 2014 г., 122(12):914-20 (Wentzensen N, Fetterman B, Tokugawa D, et al. Interobserver reproducibility and accuracy of p16/Ki-67 dual-stain cytology in cervical cancer screening. Cancer Cytopathol, 2014.122(12):914-20).

23. Эйтервал М.Х., Витте Б.Л., Ван Кеменаде Ф.Й. и соавт. Сортировка ПАП-теста на пограничный или легкий дискариоз с цитологическим исследованием методом двойного окрашивания на p16/Ki-67: перекрестное и лонгитюдное исследование результатов. Британский журнал рака, 2014 г., 110(6):1579-86 (Uijterwaal MH, Witte Bl, Van Kemenade FJ, et al. Triaging borderline/mild dyskaryotic Pap cytology with p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: crosssectional and longitudinal outcome study. Br J Cancer. 2014;110(6):1579-86).

24. Эйтервал М.Х., Полман Н.Дж., Витте Б.Л. и соавт. Сортировка ВПЧ-положительных женщин с нормальной цитологией путем цитологического теста с двойным окрашиванием на p16/Ki-67: исходные и лонгитюдные данные. Международный журнал рака, 2015 г., 136(10):2361-8 (Uijterwaal MH, Polman NJ, Witte Bl, et al. Triaging HPV-positive women with normal cytology by p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: baseline and longitudinal data. Int J Cancer. 2015;136(10):2361-8).

25. Бержерон К., Икенберг Х., Сидери М. и соавт. Проспективная оценка цитологического исследования с двойным окрашиванием и применением p16/Ki-67 для ведения женщин с отклоняющимися от нормы результатами цитологии по Папаниколау: результаты исследования PALMS. Цитопатология рака, 2015 г., 123(6):373-81 (Bergeron C, Ikenberg H, Sideri M, et al. Prospective evaluation of p16/Ki-67 dualstained cytology for managing women with abnormal Papanicolaou cytology: PALMS study results. Cancer Cytopathol, 2015.123(6):373-81).

26. Вентцензен Н., Феттерман Б., Касл П.Э. и соавт. Цитология с двойным окрашиванием p16/Ki-67 для выявления предрака шейки матки у ВПЧ-положительных женщин. Журнал национального института онкологии США, 15 сентября 2015 г., 107(12):djv257 (Wentzensen N, Fetterman B, Castle PE, et al. p16/Ki-67 Dual stain cytology for detection of cervical precancer in HPV-positive women. J Natl Cancer Inst. 2015 Sep 15;107(12):djv257).

27. Густинуччи Д., Гиорги Росси П., Цезарини Э. и соавт. Использование цитологии, мРНК E6/E7 и p16INK4a-Ki-67 для определения ведения женщин с положительными результатами тестов на вирус папилломы человека (ВПЧ) при скрининге рака шейки матки. Американский журнал клинической патологии, 2016 г., 145(1):35-45 (Gustinucd D, Giorgi Rossi P, Cesarini E, et al. Use of cytology, E6/E7 mRNA, and p16INK4a-Ki-67 to define the management of human papillomavirus (HPV)-positive women in cervical cancer screening. Am J Clin Pathol, 2016. 145(1):35-45).

28. Райт Т.С. мл., Беренс К.М., Рэнджер-Моор Дж. и соавт. Сортировка ВПЧ-положительных женщин посредством цитологического исследования методом двойного окрашивания на p16/Ki-67: результаты подисследования в рамках исследования ATHENA, Гинекологическая онкология, янв. 2017 г., 144(1):51-56 (Wright TC Jr, Behrens CM, Ranger-Moore J, et al. Triaging HPV-positive women with p16/Ki-67 dual-stained cytology: Results from a sub-study nested into the ATHENA trial. Gynecol Oncol. 2017 Jan;144(1):51-56).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

29. Эбиш Р.М., ван дер Хорст Дж., Хермзен М. и соавт. Оценка результатов цитологического исследования методом двойного окрашивания на p16/Ki-67 как сортировочного теста для ВПЧ-положительных женщин. Современная патология, 17 марта 2017 г. doi: 10.1038 (Ebisch RM, van der Horst J, Hermsen M, et al. Evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology as triage test for high-risk human papillomavirus-positive women. Mod Pathol. 2017 Mar 17. doi: 10.1038).

30. Бердсонг Г., Хуссейн М., Фэйсон Т. и соавт. Цервиковагинальная цитологическое исследование на основе метода Папаниколау; Утвержденные рекомендации, третье издание. Документ Института клинических и лабораторных стандартов GP15-A3, г. Уэйн, штат Пенсильвания: Институт клинических и лабораторных стандартов, 2008 г. (Birdsong G., Husain M., Faison T, et al. Cervicovaginal Cytology Based on the Papanicolaou Technique; Approved Guideline- Third Edition. CLSI document GP15-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008).

31. Соломон Д., Дейви Д., Курман Р. и соавт. Система Bethesda 2001 г. Терминология для представления результатов цитологического исследования шейки матки. Журнал Американской медицинской ассоциации, 2002 г., 287:2114-9 (Solomon D, Davey D, Kurman R, et al. The 2001 Bethesda system. Terminology for reporting results of cervical cytology. JAMA. 2002;287:2114-9).

[*Рельефная печать*:
Клаудия Зеелер (Claudia Seeler)
Нотариус в г. Маннхайм]

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Перевела Козлова Дарья Владимировна _____

Российская Федерация

Город Москва

Двадцать восьмого июля две тысячи двадцатого года

Я, Степанова Мария Михайловна, временно исполняющая обязанности нотариуса города Москвы Король Виктории Алексеевны, свидетельствую подлинность подписи переводчика Козловой Дарьи Владимировны.

Подпись сделана в моем присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре: №08/82-н/77-2020- 5-2156

Взыскано государственной пошлины (по тарифу): 100 руб. 00 коп.

Уплачено за оказание услуг правового и технического характера: 300 руб. 00 коп.

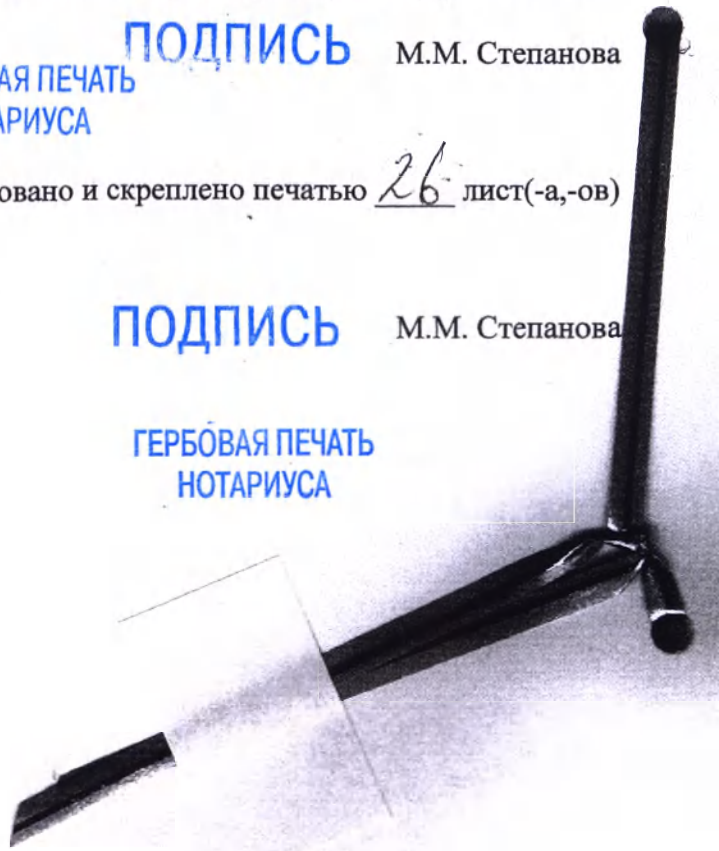
ПОДПИСЬ М.М. Степанова

ГЕРБОВАЯ ПЕЧАТЬ НОТАРИУСА

Прошнуровано, пронумеровано и скреплено печатью 26 лист(-а,-ов)

ПОДПИСЬ М.М. Степанова

ГЕРБОВАЯ ПЕЧАТЬ НОТАРИУСА



ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 29 ЛИСТОВ

«15» 09 2020 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Гаранин Е.Н.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU