

CINtec® p16 Histology

REF	805-4713		50
	06695248001		
REF	825-4713		250
	06695256001		

IVD

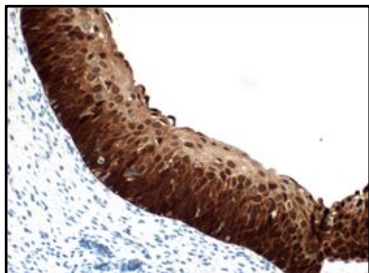


Fig. 1. Färgning av cervikala skivepitelceller med CINtec p16 Histology.

AVSEDD ANVÄNDNING

CINtec p16 Histology är en immunhistokemisk analys för kvalitativ detektion av p16^{INK4a}-protein i formalinfixerade, paraffinbäddade vävnadssnitt framställda från livmoderhalsbiopsier. Den är indicerad för användning i anslutning till H&E-färgade objektglas som beretts av samma prov av livmoderhalsvävnad för att öka den diagnostiska noggrannheten och interobservatörsöverensstämmelsen vid diagnos av höggradig

intraepitelneoplas i cervix.

Denna produkt bör tolkas av en kvalificerad patolog tillsammans med en histologisk undersökning, relevant klinisk information och lämpliga kontroller.

Denna antikropp är avsedd för användning vid in vitro-diagnostik (IVD).

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

CINtec p16 Histology består av en enda komponent: anti-p16^{INK4a} (E6H4), en monoklonal primär musantikropp.

Som en cyklinberoende kinashämmare spelar p16^{INK4a} (p16) en viktig roll för cellcykelprogression och celldifferentiering.¹⁻⁴ p16^{INK4a}-proteinet kontrollerar retinoblastomproteinmedierad (pRB) G1-S-fasövergång och utlöser cellcykelstopp under den cellulära differentieringsprocessen.^{1,5} I normala, terminalt differentierade celler uttrycks p16^{INK4a} vid låga nivåer, vanligtvis inte detekterbara genom immunhistokemi.^{1,5} Forskningsstudier har identifierat ett starkt övertryck av p16^{INK4a} i pre-cancerösa och cancerösa vävnader är nära kopplat till uttrycket av humant papillomvirus (HPV) E7-onkoprotein.^{1,3,6,7,8}

IHC-detektion av p16-övertryck kan vara till hjälp vid tolkningen av histologiprover från cervix. P16-proteinet har rapporterats vara övertryckt i neoplastiska skivepitelceller i livmoderhalsen, medan det har befunnits vara i huvudsak frånvarande i normala epitel och icke-neoplastiska lesioner.^{1,2,5,6,7} Många studier har undersökt sambandet mellan övertryck av p16 och närvaro av cervikal intraepitelial neoplas (CIN).^{8,9} Övertryck av p16 har observerats i nästan alla CIN3-lesioner, i de allra flesta CIN2-lesioner, och vanligtvis i mellan 40 % till 60 % av cervikala skivepitelceller som klassificerats som CIN1 i H&E-färgade vävnadssnitt.⁸⁻¹³

KLINISK SIGNIFIKANS

Diagnostisk tolkning av cervikala biopsiprover utgör grunden för beslut om patientbehandling. CIN1 är den histologiska manifestationen av en HPV-infektion. I allmänhet rekommenderas att patienter som diagnostiserats med CIN1-lesioner återkommer för uppföljning efter ett år.¹⁴ För cervikal sjukdom är CIN2 den vanligaste kliniska tröskeln för behandling.¹⁴ Excision eller ablation rekommenderas för patienter som diagnostiserats med CIN2 eller CIN3. Riskerna i samband med excision för patienter i barnafödande ålder omfattar biverkningar på framtida graviditeter.^{15,16,17} Därför är korrekt diagnos av CIN, och i synnerhet CIN2 och CIN3, viktigt vid beslut om hantering av patienter.¹⁸

Morfologisk tolkning av cervikala biopsiprover endast med H&E är föremål för interobservatörsvariation.¹⁸⁻²⁵ Flera studier har utvärderat kompletterande användning av

p16-färgade objektglas och effekten på interobservatörstillförlitligheten vid patologers diagnostiska tolkning av histologiprover från cervix. I alla dessa studier förbättrades den diagnostiska överensstämmelsen mellan patologer väsentligt när p16-färgade objektglas tolkades tillsammans med H&E-färgade objektglas jämfört med tolkning av bara H&E-färgade objektglas.^{10,11,13,21,22,26,27,28}

Vidare har flera studier utvärderat effekten på den diagnostiska noggrannheten vid tolkning av histologiprover från cervix då p16-färgade objektglas har använts sida vid sida med H&E-färgade objektglas. Dijkstra med flera (2010) visade en nästan perfekt överensstämmelse mellan diagnoser ställda med stöd av p16-färgade objektglas som tolkats av en enda patolog jämfört med diagnoser som ställts av en expertpatologpanel enbart baserat på H&E-färgning.¹⁰ Bergeron med flera rapporterade en signifikant ökning av diagnostisk noggrannhet när tolkningen omfattade både p16-färgade objektglas och H&E-färgade bilder jämfört med enbart H&E-färgade objektglas (p = 0.0004) med en sensitivitet för ≥ CIN2 från 77 % till 87 %.¹¹ I en färsk prospektiv, populationsbaserad studie där ett akademiskt kliniskt centrum i USA analyserade över 1450 på varandra följande fall av livmoderhalsbiopsi visade sig p16-färgning vara "ett användbart och pålitligt diagnostiskt komplement för att skilja mellan biopsier med och utan CIN2+."¹² Därför har kompletterande tolkning av H&E-färgade objektglas innefattande livmoderhalsbiopsisnitt tillsammans med på varandra följande objektglas från samma vävnadsprov immunfärgat för p16 potentialen att avsevärt förbättra diagnostisk överensstämmelse vid tolkningen av livmoderhalsbiopsier.

PRINCIPER FÖR PROCEDUREN

CINtec p16 Histology är en monoklonal primär musantikropp som har producerats mot p16^{INK4a}-proteinet. CINtec p16 Histology binder till p16^{INK4a}-protein i formalinfixerade, paraffinbäddade (FFPE) vävnadssnitt och har ett nukleärt och/eller cytoplasmatiskt färgningsmönster. Denna antikropp kan visualiseras med OptiView DAB IHC Detection Kit (kat. nr. 760-700; 06396500001) eller *ultraView* Universal DAB Detection Kit (kat. nr 760-500; 05269806001). Se respektive metodblad för mer information.

MEDFÖLJANDE MATERIAL

CINtec p16 Histology (kat. nr. 805-4713 / 06695248001) innehåller tillräckligt med reagens för 50 tester.

En 5 mL dispenser av CINtec p16 Histology innehåller ca 5.0 µg musmonoklonal antikropp.

CINtec p16 Histology (kat. nr. 825-4713 / 06695256001) innehåller tillräckligt med reagens för 250 tester.

En 25 mL dispenser av CINtec p16 Histology innehåller ca 25.0 µg musmonoklonal antikropp.

Antikroppen är utspädd i Tris-HCl med bärarprotein och 0.10 % ProClin 300 som konserveringsmedel.

Den specifika antikropps-koncentrationen är ca 1.0 µg/mL. Ingen känd icke-specifik antikroppsreaktivitet har observerats i denna produkt.

CINtec p16 Histology är en rekombinant musmonoklonal antikropp som renats från cellodlingssupernatant.

Se lämpligt metodblad för VENTANA-detektionskit för en detaljerad beskrivning av: Principer för proceduren, Material och metoder, Provsamling och beredning för analys, Procedurer för kvalitetskontroll, Felsökning, Tolkning av resultaten och Begränsningar.

NÖDVÄNDIGT MATERIAL SOM INTE MEDFÖLJER

Färgningsreagens som VENTANA -detektionskit och tillhörande komponenter, inklusive objektglas med negativa och positiva vävnadskontroller, medföljer inte.

Eventuellt är inte alla produkter i bipacksedeln tillgängliga i alla länder. Rådfråga din lokala supportrepresentant.

Följande reagenser och material kan behövas vid färgning men medföljer ej:

1. Rekommenderad kontrollvävnad
2. Objektglas för mikroskop, positivt laddade
3. Negative Control (Monoclonal) (kat. nr 760-2014 / 05266670001)
4. OptiView DAB IHC Detection Kit (kat. nr 760-700 / 06396500001)
5. *ultraView* Universal DAB Detection Kit (kat. nr 760-500 / 05269806001)
6. Antibody Diluent (kat. nr 251-018 / 05261899001)
7. EZ Prep Concentrate (10X) (kat. nr 950-102 / 05279771001)
8. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat. nr 950-300 / 05353955001)
9. LCS (Predilute) (kat. nr 650-010 / 05264839001)

10. ULTRA LCS (Predilute) (kat. nr 650-210 / 05424534001)
11. Cell Conditioning Solution (CC1) (kat. nr 950-124 / 05279801001)
12. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (kat. nr 950-224 / 05424569001)
13. Hematoxylin II (kat. Nr. 790-2208 / 05277965001)
14. Bluing Reagent (kat. nr 760-2037 / 05266769001)
15. Permanent monteringsmedium
16. Täckglas
17. Automatiserat monteringsinstrument
18. Laboratorieutrustning för allmänt bruk
19. BenchMark IHC/ISH-instrument

FÖRVARING OCH STABILITET

Förvaras vid 2–8 °C vid mottagandet och när den inte används. Får ej frysas.

För att garantera korrekt reagenstillförsel och antikroppens stabilitet måste locket på dispensern sättas på igen efter varje användning, och dispensern omedelbart placeras i kylskåp i upprätt läge.

Varje antikroppsdispenser är märkt med utgångsdatum. Vid korrekt förvaring är reagenset stabilt fram till det datum som anges på etiketten. Använd inte reagenset efter detta utgångsdatum.

PROVBEREDNING

Rutinmässigt bearbetade FFPE- vävnader är lämpliga för användning med denna primärantikropp när de används med VENTANA-detektionskit och BenchMark IHC/ISH-instrument. Det rekommenderade vävnadsfixeringsmedlet är 10 % neutralbuffrad formalin.²⁹ Snitten ska skäras till ungefär 4 µm tjocklek och monteras på positivt laddade objektglas. Objektglasen ska färgas omedelbart, eftersom antigenicitet i vävnadsnitt kan avta med tiden. Be din Roche representant om en kopia av "Recommended Slide Storage and Handling" för mer information

Det rekommenderas att positiva och negativa kontroller körs samtidigt som okända prover.

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. För användning vid *in vitro*-diagnostik (IVD).
2. Endast för yrkesmässigt bruk.
3. Använd inte fler gånger än det angivna antalet tester.
4. ProClin 300-lösning används som konserveringsmedel i detta reagens. Det har klassificerats som ett irriterande ämne och kan orsaka sensibilisering genom hudkontakt. laktta rimliga försiktighetsåtgärder vid hantering. Undvik att reagenser kommer i kontakt med ögon, hud och slemhinnor. Använd skyddskläder och handskar.
5. Positivt laddade objektglas kan vara känsliga för miljöpåverkan viket kan leda till felaktig färgning. Be din servicerepresentant från Roche om mer information om hur denna typ av objektglas ska användas.
6. Material av humant eller animaliskt ursprung ska hanteras som biologiskt farligt avfall och omhändertas i enlighet med tillämpliga försiktighetsåtgärder. Vid exponering ska de ansvariga myndigheternas hälsodirektiv följas.^{30,31}
7. Undvik att reagenser kommer i kontakt med ögon och slemhinnor. Om reagenser kommer i kontakt med känsliga områden ska dessa sköljas med stora mängder vatten.
8. Undvik mikrobiell kontaminering av reagenser eftersom det kan orsaka felaktiga resultat.
9. Ytterligare information om användningen av den här enheten finns i användarhandboken för BenchMark IHC/ISH-instrumentet och bruksanvisningarna för alla nödvändiga komponenter på navifyportal.roche.com.
10. Kontakta lokala och/eller statliga myndigheter angående rekommenderad metod för avfallshantering.
11. Produktsäkerhetsmärkningsen följer främst EU:s GHS-vägledning. Säkerhetsdatablad finns tillgängligt för professionella användare på begäran.
12. För att rapportera misstänkta allvarliga händelser relaterade till den här enheten ska man kontakta den lokala Roche-representanten och den behöriga myndigheten i den medlemsstat eller land där användaren är etablerad.

Denna produkt innehåller komponenter som klassificeras enligt följande i enlighet med Förordning (EG) nr 1272/2008:

Tab. 1. Information om risker.

Risk	Kod	Uttalande
	H317	Kan orsaka allergisk hudreaktion.
	H412	Skadligt för vattenlevande organismer med långvariga effekter.
	P261	Undvik att andas in dimma eller ångor.
	P273	Undvik utsläpp i miljön.
	P280	Använd skyddshandskar.
	P333 + P313	Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp.
	P362 + P364	Ta av kontaminerade kläder och tvätta dem innan du använder dem igen.
	P501	Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning.

Denna produkt innehåller CAS nr 55965-84-9, reaktionsmassa av: 5-kloro-2-metyl-2H-isotiazol-3-on och 2-metyl-2H-isotiazol-3-on (3:1).

FÄRGNINGSPROCEDUR

VENTANA-primärantikroppar har tagits fram för användning på BenchMark IHC/ISH-instrument tillsammans med VENTANA-detektionskit och -tillbehör. Se Tab. 2 och Tab. 3 nedan för rekommenderade färgningsprotokoll.

Denna antikropp har optimerats för specifika inkubationstider, men användaren måste validera resultat som erhålls med detta reagens.

Parametrarna för de automatiserade procedurerna kan visas, skrivas ut och redigeras i enlighet med metoden i instrumentets användarhandbok. Se lämpligt metodblad för VENTANA-detektionskit för ytterligare information om immunhistokemiska färgningsprocedurer.

Mer information om korrekt användning av denna enhet finns i metodbladet för inlinedispensern som medföljer art.nr 805-4713 eller art.nr 825-4713.

Tab. 2. Rekommenderat färgningsprotokoll för CInTec p16 Histology med *ultraView* Universal DAB Detection Kit på BenchMark IHC/ISH-instrument.

Procedurtyp	Metod		
	GX	XT	ULTRA eller ULTRA PLUS
Avparaffinering	Vald	Vald	Vald
Cell Conditioning (Antigendemaskering)	CC1, Standard	CC1, Standard	ULTRA CC1, 64 minuter 95 °C
Antikropp (primär)	24 minuter, 37 °C	16 minuter, 37 °C	20 minuter, 36 °C
ultraBlock*	8 minuter	ej tillämpligt	ej tillämpligt
Kontrastfärgning	Hematoxylin II, 4 minuter		
Efter kontrastfärgning	Bluing, 4 minuter		

*Användning av Antibody Diluent i ultraBlock-steget.

Tab. 3. Rekommenderat färgningsprotokoll för CINtec p16 Histology med OptiView DAB IHC Detection Kit på BenchMark IHC/ISH-instrument.

Procedurtyp	Metod		
	GX	XT	ULTRA eller ULTRA PLUS
Avparaffinering	Vald	Vald	Vald
Cell Conditioning (Antigendemaskering)	CC1, 32 minuter	CC1, 48 minuter	ULTRA CC1, 48 minuter 100 °C
Pre-primär peroxidashämmare	Vald	Vald	Vald
Antikropp (primär)	8 minuter, 37 °C	8 minuter, 37 °C	12 minuter, 36 °C
Postfixering*	8 minuter	ej tillämpligt	ej tillämpligt
Kontrastfärgning	Hematoxylin II, 4 minuter		
Efter kontrastfärgning	Bluing, 4 minuter		

*Användning av Antibody Diluent i Post-Fixative-steget.

På grund av variationer i vävnadsfixering och -bearbetning samt generella laboratorieinstrument och omgivningsförhållanden, kan man behöva öka eller minska inkubationen med primärantikroppen, cellkonditionering eller proteasförbehandlingen baserat på individuella prover, den detektion som används och läsarprefrens. Ytterligare information om fixeringsvariabler finns i "Immunohistochemistry Principles and Advances."³²

NEGATIV REAGENSKONTROLL

Förutom att färga med CINtec p16 Histology ska ett andra objektglas färgas med lämpligt negativt kontrollreagens.

POSITIV VÄVNADSKONTROLL

Optimal laboratoriepraxis använder ett positivt kontrollsnitt på samma objektglas som testvävnad. Detta bidrar till att identifiera eventuella fel som gäller för reagenserna i objektglaset. Vävnad med svag positiv färgning är mer lämpad för optimal kvalitetskontroll. Kontrollvävnad kan innehålla både positiva och negativa färgningselement och fungera som både positiv och negativ kontroll. Kontrollvävnad bör utgöras av färsk obduktions-, biopsi- eller kirurgiska prover, vilka preparerats eller fixerats så tidigt som möjligt på ett sätt som är identiskt med behandlingen av testsnittet.

Kända positiva vävnadskontroller bör endast användas för att övervaka korrekt prestanda för reagenser och instrument, inte som hjälpmedel vid fastställande av en specifik diagnos för testprov. Om de positiva vävnadskontrollerna inte uppvisar positiv färgning, bör testprovets resultat anses ogiltiga.

Exempel på positiva kontrollvävnader för denna antikropp är normal bukspottkörtel, normal tonsill eller livmoderhalskarcinom.

I normal tonsillvävnad förekommer nukleär och/eller cytoplasmatisk färgning av spridda skivepitelceller främst i kryptepitel och spridda follikulära dendritceller i germinalcentra och frånvaro av färgning i majoriteten av lymfocyter (färgning av sällsynta lymfocyter kan observeras).

TOLKNING AV FÄRGNINGSRESULTAT/FÖRVÄNTADE RESULTAT

Det cellulära färgningsmönstret för CINtec p16 Histology är nukleärt och cytoplasmatisk. Överuttryck av biomarkören p16^{INK4a} i cervikala biopsiprover representeras som en diffus kontinuerlig färgning av cellerna i de basala och parabasala cellskikten i det cervikala skivepitelet, med eller utan färgning av mellanliggande eller mellanliggande till ytliga cellskikt. Detta kontinuerliga, diffusa färgningsmönster representerar en positiv CINtec p16 Histology-status. Fokal färgning representeras av icke-kontinuerlig färgning av isolerade celler eller kluster med små celler, särskilt inte av basala och parabasala celler. Fokal färgning och frånvaro av p16-färgning representerar negativ CINtec p16 Histology-status. P16-färgningsmönstret och statuskriterierna för CINtec p16 Histology beskrivs i Tab. 4.

Tab. 4. CINtec p16 Histology-status och p16-färgningsmönster.

CINtec p16 Histology-status	p16-färgningsmönster	Färgningsbeskrivning
Positivt	Diffus	Kontinuerlig färgning av cellerna i de basala och parabasala cellskikten i det cervikala skivepitelet, med eller utan färgning av mellanliggande eller mellanliggande till ytliga cellskikt
Negativt	Fokal	En färgning av isolerade celler eller små cellkluster; dvs en icke-kontinuerlig färgning, särskilt inte av basala och parabasala celler
	Ingen p16-färgning	En negativ färgningsreaktion i skivepitelet

SPECIFIKA BEGRÄNSNINGAR

CINtec p16 Histology kan visa fibroblastfärgning och kolonnepitelefärgning i livmoderhalsvävnad, vilket inte stör tolkningen.

OptiView detektionssystem är i allmänhet känsligare än *ultraView* detektionssystem. Användaren måste validera resultaten som erhålls med detta reagens och dessa detektionssystem.

Patientvävnad bör färgas inom 24 veckor efter snittning från vävnadsblocket. Färgningsprestandan hos CINtec p16 Histology på snitt som har lagrats vid rumstemperatur i mer än 24 veckor har inte verifierats.

Prover bör fixeras minst 1 timme i 10 % NBF, zinkformalin eller Z-fix, eller minst 3 timmar i AFA. Användning av fixeringstider eller andra fixeringstyper än de som rekommenderas kan leda till falskt negativa resultat. Alkoholformalin och PREFER fixativ rekommenderas inte för användning med denna analys.

Alla analyser kanske inte registreras på varje instrument. Kontakta din lokala Roche-representant för mer information.

PRESTANDAEGENSKAPER

ANALYTISK PRESTANDA

Färgningstester för sensitivitet, specificitet, precision och noggrannhet har utförts och resultaten sammanfattas nedan.

Sensitivitet och specificitet

Analytisk sensitivitet och specificitet har fastställts genom färgning av flera fall av normala och neoplastiska humana vävnader med CINtec p16 Histology. Dessa resultat sammanfattas i Tab. 5 och Tab. 6. Många normala vävnader visade färgning av några få celler eller specifika celltyper som noterats. Detta var förväntat på grund av p16^{INK4a}-protein i cellcykelreglering.

Tab. 5. Sensitivitet/specificitet för CINtec p16 Histology bestämdes genom att testa normala FFPE-vävnader.

Vävnad	Antal positiva/totala fall	Positiva celler i normal vävnad
Cerebrum	4/4	Gliaceller
Cerebellum	3/3	Purkinjeceller
Binjure	3/3	Adrenokortikala epitelceller
Äggstock	3/3	Stromala celler
Bukspottkörtel	3/3	Langerhans öar, acinära celler
Lymfkörtel	3/3	Lymfocyter, follikulära dendritceller
Bisköldkörtel	2/3	Zymogenceller

Vävnad	Antal positiva/totala fall	Positiva celler i normal vävnad
Hypofys	3/3	Främre hypofysepitelceller
Testikel	3/3	Spermatogena celler, Leydig-celler
Sköldkörtel	3/3	Follikelceller
Bröst	3/3	Myoepitelceller, luminala epitelceller, stromaceller
Mjälte	3/3	Lymfocyter, follikulära dendritceller
Tonsill	6/6	Skivepitelceller, lymfocyter, follikulära dendritceller
Thymus	3/3	Epiteliala retikulära celler, lymfocyter, Hassalls kroppar
Benmärg	2/3	Myeloidceller
Lunga	3/3	Pneumocyter, bronkiala epitelceller
Hjärta	0/3	Inga positiva celler
Esofagus	3/3	Skivepitelceller
Magsäck	3/3	Epitelceller, funduskörtlar
Tunntarm	3/3	Epitelceller
Kolon	3/3	Epitelceller
Blindtarm	0/3	Inga positiva celler
Lever	0/3	Inga positiva celler
Spottkörtel	3/3	Strimmiga kanalepitelceller, serösa acinärceller
Svalg/munhåla	2/3	Respiratoriska epitelceller, strimmiga kanalepitelceller, acinära slemhinneceller, serösa acinärceller
Njure	3/3	Tubulära epitelceller, glomeruli mesangialceller
Prostata	3/3	Acinärceller, basala celler
Urinblåsa	3/3	Urotelialceller
Endometrium	3/3	Endometriekörtelceller, stromala celler
Cervix ^a	1/120	Skivepitelceller
Skelettmuskulatur	0/3	Inga positiva celler
Hud	0/3	Inga positiva celler
Nerv	4/4	Schwanns celler
Mesotel	0/3	Inga positiva celler
Mjuk vävnad	3/3	Endotelceller, fibroblaster, duktala celler

^a Utvärderade vävnader innefattar normal livmoderhals och kronisk livmoderhalsinflammation. Livmoderhalsfall fall tolkades baserat på tolkningsalgoritmen för CINtec Histology som räknar normal skvamös (fokal färgning), endocervikal eller stromal cellfärgning som negativ.

Tab. 6. Sensitivitet/specifitet för CINtec p16 Histology bestämdes genom att testa ett antal olika neoplastiska FFPE-vävnader.

Patologi	Antal positiva/totala fall
Glioblastom (cerebrum)	1/1

Patologi	Antal positiva/totala fall
Meningiom (cerebrum)	1/1
Ependymom (cerebellum)	1/1
Oligodendrogliom (cerebellum)	1/1
Adenokarcinom (huvud och hals)	1/1
Skvamöst cellkarcinom (huvud och hals)	0/1
Seröst karcinom (äggstock)	1/1
Granulosacellstumör (äggstock)	1/1
Teratom (äggstock)	1/1
Neuroendokrin bukspottkörtelneoplasi (bukspottkörtel)	1/1
Duktalt adenokarcinom (bukspottkörtel)	1/1
Seminom (testikel)	1/1
Embryonalt karcinom (testikel)	1/1
Follikulärt karcinom (sköldkörtel)	1/1
Papillärt karcinom (sköldkörtel)	0/1
Duktalt karcinom in situ (bröst)	1/1
Invasivt duktalt karcinom (bröst)	1/1
Invasivt lobulärt karcinom (bröst)	1/1
Adenom (binjure)	1/1
Feokromocytom (binjure)	1/1
Diffust stort B-cellslymfom (mjälte)	0/1
Pleomorfskt adenom (spottkörtel)	1/1
Warthins tumör (spottkörtel)	1/1
Småcelligt karcinom (lunga)	1/1
Skvamöst cellkarcinom (lunga)	0/1
Adenokarcinom (lunga)	1/1
Skvamöst cellkarcinom (esofagus)	0/1
Adenokarcinom (esofagus)	1/1
Adenokarcinom (mage)	1/1
Gastrointestinal stromacellstumör (mage)	1/1
Adenokarcinom (tunntarm)	0/1
Gastrointestinal stromacellstumör (tunntarm)	1/1
Adenokarcinom (kolon)	1/1
Adenoskvamöst karcinom (kolon)	1/1
Karcinoid tumör (blindtarm)	1/1
Hepatocellulärt karcinom (lever)	1/1
Kolangiokarcinom (lever)	0/1
Njurcellskarcinom (njure)	1/2
Papillärt njuradenom (njure)	1/1
Adenokarcinom (prostata)	2/2
Klarcellskarcinom (livmoder)	1/1
Endometrioid karcinom (livmoder)	1/1
Leiomyom (livmoder)	0/1

Patologi	Antal positiva/totala fall
Leiomyosarkom (livmoder)	1/1
Intraepitelneoplas i cervix I (CIN I) (cervix)	12/37
CIN I-II, gränsfall låg- kontra höggradigt (cervix)	2/8
CIN II (cervix)	52/60
CIN II-III, höggradigt (cervix)	1/3
CIN III (cervix)	65/67
Skvamöst cellkarcinom (cervix)	73/76
Adenoskvamöst karcinom (cervix)	2/2
Adenokarcinom (cervix)	1/1
Neuroendokrint karcinom (cervix)	1/1
Alveolärt radbomyosarkom (muskel)	0/1
Myxom (muskel)	1/1
Basalcellskarcinom (hud)	1/1
Invasivt melanom (hud)	1/1
Skvamöst cellkarcinom (hud)	0/1
Schwannom (perifer nerv)	1/1
Neurofibrosarkom (nerv)	1/1
Anaplastiskt storcellslymfom (lymfkörtel)	1/1
Folikellymfom (lymfkörtel)	1/1
Hodgkins lymfom (lymfkörtel)	1/1
Urotelialt cellkarcinom (urinblåsa)	1/1
Skvamöst cellkarcinom (urinblåsa)	0/1
Plasmacytom (extramedullärt)	1/1
Mesoteliom (mesotel)	1/1
Solitär fibrös lungsäckstumör (mesotel)	1/1
Angiosarkom (mjuk vävnad)	1/1
Liposarkom (mjuk vävnad)	1/1

Precision mellan instrument

Två studier har genomförts för att bedöma precisionen mellan instrument. En studie utfördes på ett BenchMark XT-instrument och ett BenchMark ULTRA-instrument med *ultraView* Universal DAB Detection Kit och den andra studien utfördes på ett BenchMark ULTRA-instrument med OptiView DAB IHC Detection Kit.

I den första studien färgades snitten från två multivävnadsblock innehållande cervikalt skamöst cellkarcinom, tonsill och bukspottkörtel på BenchMark XT-instrument och tre BenchMark ULTRA-instrument med *ultraView* Universal DAB Detection Kit (5 snitt från varje multivävnadsblock per instrument). P16-färgningsintensiteten låg inom 0.5 poäng från medianpoängen för 100 % av alla vävnader när de färgades på tre BenchMark XT-instrument. P16-färgningsintensiteten låg inom 0.5 poäng från medianpoängen i 100 % av cervikalt skvamöst cellkarcinom (15/15), 93 % av tonsill (14/15) och 93 % av bukspottkörtel (14/15) när de färgades på tre BenchMark ULTRA-instrument. Samtliga vävnader som färgades med CINtec p16 Histology hade acceptabel bakgrunds-färgning.

I den andra studien fastställdes precisionen för CINtec p16 Histology-testet med tre BenchMark ULTRA-instrument genom färgning av objektglasreplikater med 28 livmoderhalsfall (åtta normala livmoderhals, sex CIN1, sex CIN2, fyra CIN3 och fyra fall av livmoderhalskarcinom) med användning av detektionskitet OptiView DAB IHC. Varje fall färgades på någon av de tre BenchMark ULTRA-instrumenten med var och en av tre CINtec p16 Histology-loter. Sammanlagt ingick nio CINtec p16 Histology-färgade objektglas från varje fall i studien (tre loter av CINtec p16 Histology, tre BenchMark ULTRA instrument). Varje CINtec p16 Histology-färgat objektglas parades sedan ihop med ett H&E-färgat objektglas från samma fall. Samtliga objektglas randomiserades och utvärderades sedan av en enda patolog som var blindad för falldiagnosen för p16-färgningsintensitet, positiv eller negativ CINtec p16 Histology-status och bakgrund. Data visade att 97.6 % av vävnaderna fick poäng för färgningsintensitet som låg inom 0.5 poäng för samtliga instrument. Dessutom uppvisade 100 % av de snitt som färgats med CINtec p16 Histology på tre BenchMark ULTRA instrument samma CINtec p16 Histology-status. Samtliga vävnader som färgades med CINtec p16 Histology hade acceptabel bakgrunds-färgning.

Dessutom bestämdes mellanliggande precision mellan instrument på tre BenchMark ULTRA PLUS-instrument genom färgning av objektglas med 24 cervikala vävnadsfall (elva normal cervix, ett CIN1, två CIN2, sju CIN3 och tre skvamösa cellkarcinom). Testobjektglasen randomiserades och utvärderades sedan av en enda patolog som var blindad för falldiagnosen för positiv eller negativ status, morfologi och ospecifik färgning (bakgrund) för CINtec p16 Histology. Den övergripande överensstämmelsen i procent var 99.3 %. Samtliga vävnader som färgades med CINtec p16 Histology hade 100 % acceptabel morfologi och bakgrunds-färgning.

Precision mellan loter

Precisionen mellan loter för CINtec p16 Histology utvärderades genom att testa tre loter av CINtec p16 Histology på ett BenchMark ULTRA instrument med användning av OptiView DAB IHC Detection Kit. Snitt från var och en av de 26 cervikala biopsiproverna (sex normala cervix, sex CIN1, sex CIN2, sex CIN3 och två fall av livmoderhalskarcinom) färgades i duplikat med hjälp av varje CINtec p16 Histology-lot. Alla vävnadsobjektglas som hade färgats med CINtec p16 Histology parades ihop med ett närliggande H&E-objektglas och ett objektglas med negativ reagenskontroll från samma fall. Objektglasseten randomiserades och utvärderades av en ensam patolog som blindats för falldiagnosen och lotnumret. CINtec p16 Histology-statusen (positiv = diffus p16-färgning; negativ = fokal eller ingen p16-färgning) bestämdes baserat på CINtec p16 Histology-objektglaset. CIN-kategorierna [CIN2 + (CIN2, CIN3, adenokarcinom in situ eller invasivt karcinom kombinerat i en kategori)/CIN1- (ingen CIN eller CIN1 kombinerat i en kategori)] fastställdes genom kompletterande tolkning av H&E- och CINtec p16 Histology-objektglas. Resultatet påvisar reproducerbarheten för CINtec p16 Histology för de tre produktionsloterna med antikroppen. Samtliga fall visade 100 % positiv och negativ överensstämmelse i CINtec p16 Histology-status och 98.7 % överensstämmelse för CIN-kategori på de tre produktionsloterna. En sammanfattning av dessa data visas i Tab. 7. Bakgrunds-färgningen var acceptabel i 100 % av de färgade vävnaderna.

Tab. 7. Primär antikroppsreproducerbarhet från sats-till-sats av CINtec p16 Histology på livmodersprover mätt med CINtec p16 Histology-status (positiv/negativ) och CIN-kategori (CIN2+/CIN1-).

Reproducerbarhet	Utvärdering	Genomsnittlig positiv överensstämmelse (n/N)	Genomsnittlig negativ överensstämmelse (n/N)	Övergripande överensstämmelse i procent (n/N)
Sats-till-sats	CINtec Histology-status	100.0 % (352/352)	100.0 % (264/264)	100.0 % (308/308)
	CIN-kategori	98.1 % (314/320)	98.0 % (290/296)	98.1 % (302/308)

Repetierbarhet inom dagen och precision från dag till dag

Sammanlagt genomfördes tre studier för att bedöma repeterbarheten inom dagen och precision från dag till dag. I de två första studierna utvärderade patologen vävnader baserat på p16-färgningsintensitet (0–4), medan CINtec p16 Histology-status (positiv/negativ) i livmodersbiopsier utvärderades i den tredje studien.

I den första studien färgades snitten från två multivävnadsblock som innehåll tre vävnader (skamöst cellkarcinom, tonsill, bukspottkörtel) på ett BenchMark XT-instrument med *ultraView* Universal DAB Detection Kit. I den andra studien färgades två multivävnadsblock innehållande tonsill, bukspottkörtel och tre livmodersfallsfall (invasivt skvamöst cellkarcinom, CIN1- och CIN2+) på ett BenchMark ULTRA-instrument med *OptiView* DAB IHC Detection Kit. Repeterbarheten inom dagen för CINtec p16 Histology testades genom att färga 14 replikatsnitt från varje multivävnadsblock med CINtec p16 Histology. CINtec p16 Histology klarade acceptanskriterierna för 100 % av den vävnad som färgats inom 0.5 poäng från medianpoängen för färgningsintensitet i båda studierna. Precisionen från dag till dag testades under 5 inte på varandra följande dagar som sträckte sig över en period på minst 20 dagar. I båda dessa studier klarade CINtec p16 Histology acceptanskriterierna för 100 % av den vävnad som färgats inom 0.5 poäng från medianpoängen för färgningsintensitet för repeterbarhet inom dagen och precision från dag till dag. Samtliga vävnader som färgades med CINtec p16 Histology hade acceptabel bakgrund.

I den tredje studien utvärderades 24 prover av livmodersvävnad (tre cervikala skvamösa cellkarcinom, sex CIN3, sex CIN2, sex CIN1, tre normala livmodersfallsfall) efter CINtec p16 Histology-status (positiv/negativ) på ett BenchMark ULTRA instrument med *OptiView* DAB IHC Detection Kit. Testningen utfördes under 5 inte på varandra följande dagar som sträckte sig över en period på minst 20 dagar. På varje testdag färgades två objektglas från varje fall med CINtec p16 Histology (sammanlagt 150 objektglas), och ett objektglas från varje fall färgades med ett negativt kontrollreagens (sammanlagt 75 objektglas). För analys av repeterbarhet inom dagen jämfördes CINtec p16 Histology-status (positiv/negativ) inom samma fall och mellan två utvärderingsbara replikat från samma dag. Eftersom 5 dagar undersöktes i denna studie var det totala antalet jämförelser för repeterbarhet inom dagen för varje fall 5. Det totala antalet jämförelser för studien av precision från dag till dag var 120 = 24 fall x 5 jämförelser per fall.

Resultaten indikerade 100 % repeterbarhet inom dagen och 100 % precision från dag till dag när vävnaderna utvärderades baserat på CINtec p16 Histology-status. Samtliga snitt som färgades med CINtec p16 Histology hade acceptabel bakgrundsfärgning.

Dessutom bestämdes repeterbarhet inom körningen genom färgning av 5 objektglas från 24 cervikala vävnadsfall (elva normala cervix, en CIN1, två CIN2, sju CIN3, och tre skvamösa cellkarcinom) på ett BenchMark ULTRA PLUS-instrument. Testobjektglasen randomiserades och utvärderades sedan av en enda patolog som var blindad för falldiagnosen för positiv eller negativ status, morfologi och ospecifik färgning (bakgrund) för CINtec p16 Histology. Den övergripande överensstämmelsen i procent var 97.5 %. Samtliga vävnader som färgades med CINtec p16 Histology hade 100 % acceptabel morfologi och bakgrundsfärgning.

Dessutom bestämdes mellanliggande precision mellan dagar genom färgning av dubbla objektglas med 24 cervikala vävnadsfall (elva normala cervix, en CIN1, två CIN2, sju CIN3, och tre skvamösa cellkarcinom) på ett BenchMark ULTRA PLUS-instrument i 5 ej på varandra följande dagar under en period på minst 20 dagar. Mellanliggande precision mellan olika dagar låg på 98.8 %. Samtliga vävnader som färgades med CINtec p16 Histology hade 100 % acceptabel morfologi och bakgrundsfärgning.

Noggrannhet mellan plattform och detektionskit

Analysens noggrannhet demonstrerades över plattformarna BenchMark ULTRA, BenchMark XT och BenchMark GX med hjälp av *OptiView* DAB IHC Detection Kit och *ultraView* Universal DAB Detection Kit. Sammanlagt färgades 186 livmodersfallsfall med CINtec p16 Histology och utvärderades för CINtec p16 Histology-status (positiv/negativ) och bakgrund (acceptabel/oacceptabel). OPA var 98.3–100 % för varje parvis kombination av plattformar inom ett detektionskit och varje parvis kombination av detektionskit inom en plattform. Samtliga utvärderingsbara fall som färgades med CINtec p16 Histology hade acceptabel bakgrundsfärgning.

Dessutom genomfördes en studie för att jämföra färgningsprestanda för CINtec p16 Histology, med hjälp av *OptiView* DAB IHC Detection Kit på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet jämfört med BenchMark ULTRA-instrumentet. Etthundratjugo (120) cervikala vävnadsfall (60 positiva för CINtec p16 Histology och 60 negativa för CINtec p16 Histology) färgades och de färgade objektglasen utvärderades av en patolog som fastställde CINtec p16 Histology-statusen. Den övergripande överensstämmelsen i procent var 99.1 %. Samtliga vävnader som färgades med CINtec p16 Histology hade 100 % acceptabel morfologi och bakgrundsfärgning.

Precision inom och mellan läsare

Precisionen inom läsare och mellan läsare utvärderades på 50 livmodersfallsfall (16 normal livmodersfallsfall, 12 CIN1, 12 CIN2, 6 CIN3 och 4 fall av livmodersfallsfall) som färgades med CINtec p16 Histology i ett BenchMark ULTRA instrument med *OptiView* DAB IHC Detection Kit.

Samtliga objektglas randomiserades och utvärderades sedan av tre patologer för positiv/negativ CINtec p16 Histology-status. Patologerna blindades för falldiagnosen. De CINtec p16 Histology-färgade objektglasen omrandomiserades för en andra utvärdering av CINtec p16 Histology-status av var och en av de tre patologerna efter en washout-period på 4 veckor. Den övergripande överensstämmelsen i procent för precision både inom och mellan läsare för CINtec p16 Histology-status var 98.7 %, vilket visas i Tab. 8.

I studien av precision inom och mellan läsare för CIN kategori parades varje CINtec p16 Histology-objektglas ihop med ett H&E-färgat objektglas från samma fall och de ihopparade objektglasatserna randomiserades. CIN-kategori (CIN2+/CIN1-) utvärderades av tre patologer baserat på kompletterande tolkning av H&E-färgade och CINtec p16 Histology-färgade objektglas. Efter en washout-period på minst 4 veckor omrandomiserades objektglasparen och en andra utvärdering av CIN-kategori genomfördes av var och en av de tre patologerna. De data som förekommer i Tab. 8 visar att den övergripande överensstämmelsen i procent för precision inom och mellan läsare för CIN-kategori var 98.0 % respektive 90 %.

Tab. 8. Precisionen inom och mellan läsare för CINtec p16 Histology-analysen på livmodersprover mätt med CINtec p16 Histology-status (positiv/negativ) och CIN-kategori (CIN2+/CIN1-).

Läsarprecision	Utvärdering	Genomsnittlig positiv överensstämmelse (95 % CI)	Genomsnittlig negativ överensstämmelse (95 % CI)	Övergripande överensstämmelse i procent (95 % CI)
Inom läsare	CINtec p16 Histology-status	98.7 % (93.9–100.0%)	98.6 % (93.0–100.0%)	98.7 % (94.0–100.0 %)
	CIN-kategori	97.4 % (89.1–100.0%)	98.4 % (92.6–100.0%)	98.0 % (92.0–100.0%)
Mellan läsare	CINtec p16 Histology-status	98.7 % (93.1–100.0%)	98.6 % (92.3–100.0%)	98.7 % (93.9–100.0%)
	CIN-kategori	87.0 % (71.8–97.6%)	91.9 % (83.0–98.5%)	90.0 % (80.0–98.0%)

Reproducerbarhetsstudie (studie av precision från laboratorium till laboratorium)

En studie av reproducerbarhet mellan laboratorier för CINtec p16 Histology genomfördes för att visa analysens reproducerbarhet för bestämning av CINtec p16 Histology-status

och CIN-kategori med användning av 27 livmoderhalsfall (10 utan CIN, 5 CIN1, 5 CIN2, 5 CIN3 och 2 fall av livmoderhalskarcinom) som kördes i tre BenchMark ULTRA instrument på var och en av tre icke på varandra följande dagar på tre externa laboratorier. Proverna randomiserades och utvärderades av totalt sex patologer (två patologer/plats) för både CINtec p16 Histology-status (positiv/negativ) och för CIN-kategori (CIN2+/CIN1-) baserat på kompletterande tolkning av H&E-färgade och CINtec p16 Histology-färgade objektglas. Patologerna blindades för falldiagnosen. Resultaten för CINtec p16 Histology-status och CIN-kategori visas i Tab. 9 respektive Tab. 10. Vidare var resultaten för morfologi och graden av acceptabel bakgrundsfärgning för alla sex patologerna på alla platserna 96.3 % respektive 97.1 %. Dessa data indikerar utmärkt överensstämmelse när det gäller analysens reproducerbarhet över platser, dagar och patologer.

Tab. 9. Reproducerbarhet mellan laboratorier: överensstämmelse för CINtec p16 Histology-status (positiv/negativ) för livmoderhalsprover.

Överensstämmelsegrader för Reproducerbarhet mellan laboratorier (CINtec p16 Histology-status)	Genomsnittlig positiv överensstämmelse	Genomsnittlig negativ överensstämmelse	Övergripande överensstämmelse i procent
Mellan platser (3 platser)	96.2 % (91.2–99.3%)	93.9 % (86.3–99.0%)	95.3 % (90.6–99.2%)
Mellan dagar (3 ej på varandra följande dagar)	98.2 % (95.9–99.7%)	97.1 % (93.3–99.5%)	97.8 % (95.5–99.5%)
Mellan läsare (2 patologer/plats)	95.5 % (87.8–100.0%)	92.9 % (82.6–100.0%)	94.4 % (87.1–100.0%)

Tab. 10. Reproducerbarhet mellan laboratorier: överensstämmelse för CIN-kategori (CIN2+/CIN1-) för livmoderhalsprover baserat på kompletterande tolkning av H&E-färgade och CINtec p16 Histology-färgade objektglas.

Överensstämmelsegrader för Reproducerbarhet mellan laboratorier (CIN-kategori)	Genomsnittlig positiv överensstämmelse	Genomsnittlig negativ överensstämmelse	Övergripande överensstämmelse i procent
Mellan platser (3 platser)	94.4 % (86.8–98.8%)	94.1 % (86.7–98.6%)	94.3 % (88.5–98.6%)
Mellan dagar (3 ej på varandra följande dagar)	96.9 % (93.1–99.2%)	96.6 % (93.0–99.1%)	96.8 % (94.0–99.1%)
Mellan läsare (2 patologer/plats)	95.0 % (87.4–98.9%)	94.8 % (88.6–98.9%)	94.9 % (89.3–98.7%)

KLINISK PRESTANDA

Diagnostisk överensstämmelse

Studien CERvical Tissue Adjunctive aNalysis (CERTAIN) genomfördes för att visa att kompletterande läsning med CINtec p16 Histology leder till förbättrad konsekvens i diagnosen cervikal intraepitelial neoplas (CIN), nivåer av överensstämmelse mellan offentliga patologers (Community Pathologists (CP)) och expertpatologers (Expert Pathologists (XP)) avläsningar av stansbiopsivävnad från livmoderhals.

Den kliniska studien CERTAIN utfördes på 1100 retrospektivt insamlade FFPE-stansbiopsiprover på cervix som representerar en population som hade refererats till kolposkopi. En XP-härledd referensdiagnos fastställdes för varje studiefall med hjälp av enbart H&E-färgade objektglas och med hjälp av H&E- och CINtec p16 Histology-färgade objektglas. Två XP:er fastställde sina oberoende diagnoser (ingen CIN, CIN1, CIN2, CIN3, adenokarcinom in situ eller invasivt karcinom) baserat på de H&E-färgade objektglasen för var och ett av de 1100 fallen. Patologerna fick även följande kliniska information: patientens ålder, cytologieresultat från utstryk samt HPV-testresultat (om tillgängligt). Avvikande fall utvärderades av en tredje XP. Fall för vilka en diagnos med två tredjedels

majoritet inte uppnåddes granskades på nytt under ett bedömningsgranskningmöte som inkluderade alla tre XP. Majoritetsresultat (eller konsensus) resulterade i en expertreferensdiagnos för varje fall som utvärderades i studien (benämnda XP1- eller H&E-referensdiagnos). Efter en washout-period på minst fyra veckor utvärderade samma XP:er både H&E- och CINtec p16 Histology-färgade objektglas för att fastställa sin diagnos: ingen CIN; LSIL-histologi/CIN1; HSIL-histologi/CIN2; HSIL-histologi/CIN3; adenokarcinom in situ eller invasivt karcinom; (benämnda XP2-, eller H&E + CINtec p16 Histology-referensdiagnos). Processen för att fastställa majoritetsdiagnoserna var samma process som användes för att fastställa referensdiagnosen för enbart H&E-färgade objektglas. Sjuuttio (70) legitimerade CP från hela USA deltog i studien. I den första omgången (omgång 1, CP1) delades de 1100 H&E-färgade fallen upp i fyra avläsningssatser med 275 fall med jämförbara fördelningar av enskilda diagnostiska kategorier per referensdiagnos. De 70 CP tilldelades fyra grupper bestående av antingen 17 eller 18 patologer per grupp. För varje fall inom deras tilldelade avläsningssats fick patologerna följande kliniska information: patientens ålder, cytologieresultat från utstryk samt HPV-testresultat (om tillgängligt). Alla CP ställde oberoende sina diagnoser på det H&E-färgade objektglaset för vart och ett av deras tilldelade fall: ingen CIN; CIN1; CIN2; CIN3; adenokarcinom in situ eller invasivt karcinom. Varje studiefall lästes individuellt av antingen 17 eller 18 offentliga patologer.

I den andra omgången (omgång 2, CP2) läste alla CP de H&E-färgade objektglasen tillsammans med de ihopparade motsvarande CINtec p16 Histology-färgade objektglasen för samma uppsättning fall inom deras tilldelade läsningssats. Efter en washout-period på minst 4 veckor mellan omgång 1 och 2 ställde varje patolog oberoende sina diagnoser: ingen CIN; LSIL-histologi/CIN1; HSIL-histologi/CIN2; HSIL-histologi/CIN3; adenokarcinom in situ eller invasivt karcinom. Aktuella CP noterade CINtec p16 Histology-statusen (CINtec p16 Histology positiv = diffus p16-färgning; CINtec p16 Histology negativ = fokal eller ingen p16-färgning) tillsammans med sin histologiska diagnos med hjälp av både det H&E-färgade objektglaset och det CINtec p16 Histology-färgade objektglaset. Det primära målet med den här studien var att påvisa en ökad diagnostisk överensstämmelse utan att kompromissa med den positiva överensstämmelsen i procent, dvs. sannolikheten för att ett positivt testresultat överensstämmer med en diagnos av \geq CIN2 (CIN2, CIN3, adenokarcinom in situ eller invasivt karcinom kombinerat i en kategori) eller \leq CIN1 (ingen CIN eller CIN1 kombinerat i en kategori) baserat på H&E-färgade objektglas (omgång 1) jämfört med tolkning av de H&E-färgade objektglasen tillsammans med CINtec p16 Histology-färgade objektglas (omgång 2).

Förbättrad diagnostisk överensstämmelse för expertpatologer

Förbättringen av diagnostisk noggrannhet hos expertpatologer bestämdes genom att jämföra expertpatologens H&E-referensdiagnos (XP1) med expertpatologens H&E- och CINtec p16 Histology-referensdiagnos (XP2). Analysen utfördes på tolkningen av samtliga 1100 livmoderhalsbiopsier. Förbättringen av diagnostisk noggrannhet mellan expertpatologernas H&E-referensdiagnos och deras H&E- och CINtec p16 Histology-referensdiagnos visas i Tab. 11. När både H&E och CINtec p16 Histology användes vid diagnostisk tolkning av livmoderhalsbiopsier, identifierade expertpatologerna 23.7 % fler \geq CIN2-fall jämfört med diagnostisk tolkning med enbart H&E.

Tab. 11. Överensstämmelse mellan H&E-referensdiagnos och H&E- och CINtec p16 Histology-referensdiagnos för samtliga fall.

		H&E-referensdiagnos					Totalt
		Ingen CIN	CIN1	CIN2	CIN3	ACIS* eller cancer	
H&E- + CINtec p16 Histology-referensdiagnos	Ingen CIN	693	13	4	0	0	710
	LSIL-histologi	46	120	4	1	0	171
	HSIL-histologi	30	31	83	69	1	214
	ACIS* eller cancer	0	0	0	0	5	5
Totalt		769	164	91	70	6	1100

* ACIS: adenokarcinom in situ

De offentliga patologernas tolkning med användning av H&E kontra både H&E and CINtec p16 Histology jämfört med en experthärledd H&E-referensdiagnos

Den diagnostiska överensstämmelsen mellan offentliga patologer bestämdes genom att jämföra resultaten från de offentliga patologernas H&E-diagnoser i omgång 1 (CP1) med expertpatologernas H&E-referensdiagnos (XP1) och de offentliga patologerna H&E- + CINtec p16 Histology-diagnoser i omgång 2 (CP2) med expertpatologernas H&E-referensdiagnos (XP1). De genomsnittliga överensstämmelsegraderna och konfidensintervallen (CI) för fall och läsare visas i Tab. 12. En statistiskt signifikant ökning av PPA, mätt för detektion av ≥ CIN2-lesioner (+6.8 % med 95 % CI: 4.7 % till 9.0 %) observerades. Dessutom ökade den negativa överensstämmelsen i procent (NPA) för detektion av ≤ CIN1 med 1.3 % med 95 % CI: 0.5 % till 2.3 %.

Tab. 12. Positiv och negativ överensstämmelsefrekvens hos offentliga patologers avläsningar av H&E-färgade objektglas kontra både H&E-färgade objektglas och CINtec p16 Histology-färgade objektglas och experthärledd H&E-referensdiagnos (XP1).

Slutpunkt	H&E	H&E + CINtec p16 Histology	Skillnad	p-värde
PPA	83.5 %	90.3 %	6.8 %	< .0001
% (95 % CI)	(79.9, 86.8)	(87.5, 92.7)	(4.7, 9.0)	
NPA	90.4 %	91.8 %	1.3 %	0.0032
% (95 % CI)	(89.4, 91.4)	(90.6, 92.9)	(0.5, 2.3)	

Obs! Skillnaden är inte lika med 1.4 % på grund av avrundningsfel: H&E = 90.44 %, H&E + CINtec Histology = 91.76 %, Differens = 1.32 %.

Ett sammanfattande diagram över diagnostiknoggrannheten hos de offentliga patologläsarna för diagnos av ≥ CIN2 kontra ≤ CIN1 med användning av enbart H&E-färgade objektglas kontra användning av H&E-färgade objektglas tillsammans med CINtec p16 Histology-färgade objektglas jämfört med experthärledd H&E-referensdiagnos visas i Fig. 2. PPA och NPA (negativ överensstämmelse i procent, dvs. överensstämmelsen mellan ett negativt testresultat och ≤ CIN1 av XP1) eller varje patologs tolkning för omgång 1 (endast H&E-färgade objektglas – blå cirklar) kontra omgång 2 (H&E-färgade objektglas tillsammans med CINtec p16 Histology-färgade objektglas – röda trianglar) visas. Prediktionsellipserna indikerar intervallet för det PPA- och NPA-resultat som förväntades för de flesta patologer: 80 % bör falla inom ellipserna och 20 % utanför ellipserna. Dessa data visar att tolkningen av livmoderhalsbiopsier med användning av H&E- tillsammans med CINtec p16 Histology-färgade objektglas förbättrar den diagnostiska överensstämmelsen och minskar variationen mellan läsare.

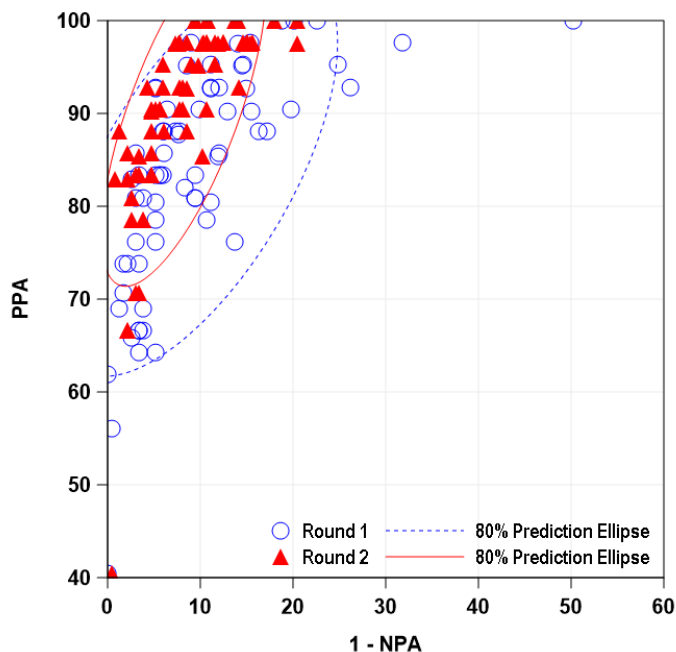


Fig. 2. Sammanfattande diagram över diagnostisk överensstämmelse (PPA kontra 1-NPA) hos offentliga patologer för diagnos av ≥ CIN2 kontra ≤ CIN1 med användning av enbart H&E (omgång 1) och H&E + CINtec p16 Histology (omgång 2) jämfört med experthärledd H&E-referensdiagnos (XP1) (80 % prediktionsellips genererade under antagande om bivariat normalitet).

De offentliga patologernas tolkning med användning av H&E kontra H&E och CINtec p16 Histology jämfört med en experthärledd H&E-referensdiagnos för H&E + CINtec p16 Histology

Därefter jämfördes avläsningsresultaten från de offentliga patologerna med användning av båda metoderna (H&E + CINtec p16 Histology jämfört med enbart H&E) med den referensdiagnos (XP2) som fastställdes av expertpatologerna med användning av H&E- och CINtec p16 Histology-färgade objektglas. Expertpatologerna blindades beträffande resultaten av deras första individuella läsningsomgång och konsensusreferensdiagnosen för H&E. Processen för att fastställa konsensusdiagnoserna var samma process för att fastställa H & E-referensdiagnosen som beskrivs ovan.

De offentliga patologernas läsningsresultat med användning av enbart H&E-färgade objektglas jämfört med objektglas som färgats med både H&E och CINtec p16 Histology analyserades och jämfördes med den experthärledda H&E- och CINtec p16 Histology-referensdiagnosen (Tab. 13). Dessa data påvisar en statistiskt signifikant ökning av PPA (+11.5 % med 95 % CI: 9.3 % till 13.5 %) och NPA (+3.0 % med 95 % CI: 2.2 % till 3.7 %).

Tab. 13. Positiv (PPA) och negativ (NPA) överensstämmelsefrekvens för offentliga patologers läsnings av H&E-färgade objektglas kontra både H&E-färgade objektglas och CINtec p16 Histology-färgade objektglas och experthärledd H&E- och CINtec p16 Histology-referensdiagnos (XP2).

Slutpunkt	H&E	H&E + CINtec p16 Histology	Skillnad	p-värde
PPA	73.3 %	84.8 %	11.5 %	< .0001
% (95 % CI)	(69.6, 76.9)	(82.1, 87.1)	(9.3, 13.5)	
NPA	92.2 %	95.2 %	3.0 %	< .0001
% (95 % CI)	(91.3, 93.1)	(94.4, 96.0)	(2.2, 3.7)	

Ett sammanfattande diagram över diagnostiknoggrannheten hos de enskilda offentliga patologläsarna för diagnos av ≥ CIN2 kontra ≤ CIN1 med användning av enbart H&E-färgade objektglas kontra användning av H&E-färgade objektglas tillsammans med CINtec

p16 Histology-färgade objektglas jämfört med experthärledd H&E- + CINtec p16 Histology-referensdiagnos visas i Fig. 3. PPA och NPA för varje patologs tolkning i omgång 1 (endast H&E – blå cirklar) jämfört med omgång 2 (H&E och CINtec p16 Histology – röda trianglar) visas. Prediktionsellipserna indikerar intervallet för det PPA- och NPA-resultat som förväntades för de flesta patologer: 80 % bör falla inom ellipserna och 20 % utanför ellipserna. Dessa data visar att tolkningen av livmoderhalsbiopsier med användning av H&E- tillsammans med CINtec p16 Histology-färgade objektglas förbättrar den diagnostiska konsekvensen och minskar variationen mellan läsare.

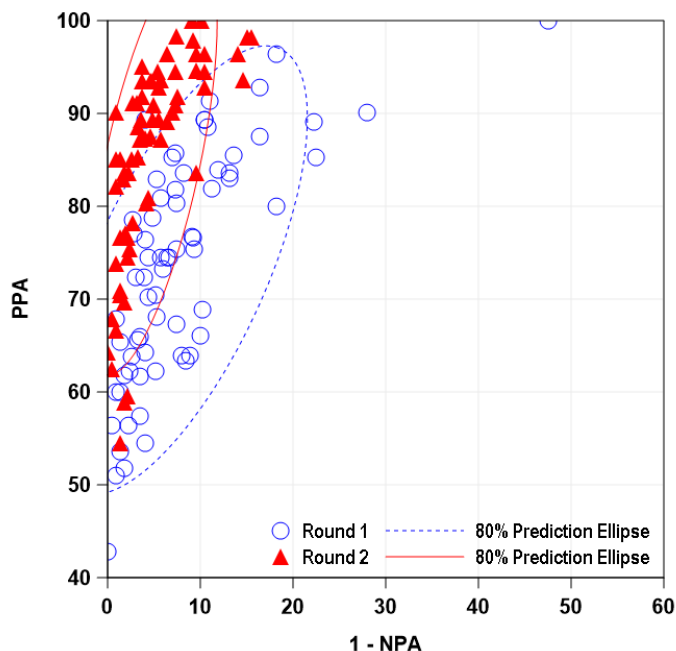


Fig. 3. Sammanfattande diagram över diagnostisk överensstämmelse (PPA kontra 1 NPA) hos offentliga patologer för diagnos av \geq CIN2 kontra \leq CIN1 med användning av enbart H&E (omgång 1) och H&E och CINtec p16 Histology (omgång 2) jämfört med experthärledd H&E- och CINtec p16 Histology-referensdiagnos (XP2) (80 % prediktionsellipsen genererade under antagande om bivariat normalitet).

Färgningsprestanda för CINtec p16 Histology

Det sekundära målet för denna studie var att utvärdera den färgningsprestanda för CINtec p16 Histology-analysen som fastställdes av de offentliga patologerna under granskningen av objektglasen i studien. Sammanlagt 19250 CINtec p16 Histology-status tolkningar gjordes under studien av de 70 offentliga patologerna. De kriterier för färgningsprestanda som bedömdes var: övergripande acceptans för färgning, acceptans för bakgrundsfärgning och acceptans för morfologi. Resultaten visar en grad av godtagbar färgning på > 99 % för samtliga färgningskriterier (Tab. 14).

Tab. 14. Färgningsprestanda för CINtec p16 Histology.

Slutpunkt	Antal tolkningar n/N	Frekvens
Färgningsacceptans	19074/19250	99.09 %
Acceptabilitet för morfologi	19249/19250	99.99 %
Bakgrundsacceptans	19249/19250	99.99 %

Slutsatser

Användningen av CINtec p16 Histology-färgade objektglas som ett komplement till tolkning av H & E-färgade objektglas ökar den diagnostiska överensstämmelsen vid detektering av höggradiga CIN-lesioner (\geq CIN2) på stansbiopsier från livmoderhals. Denna förbättrade överensstämmelse beror både på ökad PPA (överensstämmelse mellan ett positivt testresultat och \geq CIN2-diagnos) och ökad NPA (överensstämmelse

mellan ett negativt testresultat och CIN1- eller Ingen CIN-diagnos). Dessutom förbättras diagnoskonsekvensen mellan offentliga patologer och mellan dem och en expertpanel.

REFERENSER

- 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;153:1741-1748.
- Negri G, Egarter-Vigl E, Kasal A, et al. p16INK4a is a useful marker for the diagnosis of adenocarcinoma of the cervix uteri and its precursors: an immunohistochemical study with immunocytochemical correlations. *Am J Surg Pathol.* 2003;27:187-193.
- von Knebel Doeberitz M, Vinokurova S. Host factors in HPV-related carcinogenesis: cellular mechanisms controlling HPV infections. *Arch Med Res.* 2009;40(6):435-442.
- Voorhoeve PM, Agami R. The tumor-suppressive functions of the human INK4A locus. *Cancer Cell.* 2003;4:311-319.
- 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;92:276-284.
- Negri G, Vittadello F, Romano F, et al. p16INK4a expression and progression risk of low-grade intraepithelial neoplasia of the cervix uteri. *Virchows Arch.* 2004;445:616-620.
- Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. *Dis Markers.* 2007;23(4):315-330.
- Cuschieri K, Wentzensen N. Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17:2536-2545.
- Tsoumpou I, Arbyn M, Kyrgiou M, et al. p16INK4a immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: a systematic review and metaanalysis. *Cancer Treat Rev.* 2009;35:210-220.
- Dijkstra MG, Heideman DA, de Roy SC, et al. p16(INK4a) immunostaining as an alternative to histology review for reliable grading of cervical intraepithelial lesions. *J Clin Pathol.* 2010;63(11):972-977.
- Bergeron C, Ordi J, Schmidt D, et al. European CINtec Histology Study Group. Conjunctive p16INK4a testing significantly increases accuracy in diagnosing highgrade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol.* 2010;133:395-406.
- Galgano MT, Castle PE, Atkins KA, et al. Using biomarkers as objective standards in the diagnosis of cervical biopsies. *Am J Surg Pathol.* 2010;34:1077-1087.
- Stoler MH, Wright TC, Ferenczy A, et al. Routine Use of Adjunctive p16 Immunohistochemistry Improves Diagnostic Agreement of Cervical Biopsy Interpretation. *Am J Surg Pathol.* 2018;42(8):1001-1009.
- Massad LS, Einstein M, Huh W, et al. 2012 Updated Consensus Guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *J Low Genit Tract Dis.* 2013;17:S1-S27.
- Arbyn M, Kyrgiou M, Simoens C, et al. Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: metaanalysis. *BMJ.* 2008;337:a1284.
- Albrechtsen S, Rasmussen S, Thoresen S, et al. Pregnancy outcome in women before and after cervical conisation: population based cohort study. *BMJ.* 2008;337:a1343.
- Sadler L, Saftlas A, Wang W, et al. Treatment for cervical intraepithelial neoplasia and risk of preterm delivery. *JAMA.* 2004;291:2100-2106.
- Park KJ, Soslow RA. Current concepts in cervical pathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2009;133(5):729-738.
- Stoler MH, Schiffman M. Atypical squamous cells of undetermined significance-lowgrade squamous intraepithelial lesion triage study (ALTS) group. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL triage study. *JAMA.* 2001;285:1500-1505.
- Stoler MH, Ronnett BM, Joste NE, et al. New Mexico HPV Pap registry steering committee. The interpretive variability of cervical biopsies and its relationship to HPV status. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(6):729-736.
- Klaes R, Benner A, Friedrich T, et al. p16INK4a immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 2002;26:1389-1399.
- Reuschenbach M, Wentzensen N, Dijkstra MG, et al. p16INK4a immunohistochemistry in cervical biopsy specimens: A systematic review and

- metaanalysis of the interobserver agreement. Am J Clin Pathol. 2014;142(6):767-772.
23. De Vet HCW, Knipschild PG, Schouten HJA, et al. Interobserver variation in histopathological grading of cervical dysplasia. J Clin Epidemiol. 1990;43:1395-1398.
 24. Creagh T, Bridger JE, Kupek E, et al., Pathologist variation in reporting cervical borderline epithelial abnormalities and cervical intraepithelial neoplasia. J Clin Pathol, 1995. 48(1): p. 59-60.
 25. Ceballos KM, Chapman W, Daya D, et al., Reproducibility of the histological diagnosis of cervical dysplasia among pathologists from 4 continents. Int J Gynecol Pathol, 2008. 27(1): p. 101-107.
 26. Gurrola-Diaz CM, Suárez-Rincón AE, Vázquez-Camacho G, et al. p16INK4a immunohistochemistry improves the reproducibility of the histological diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia in cone biopsies. Gynecol Oncol. 2008;111:120-124.
 27. Hom LC, Reichert A, Oster A, Arndal SF, et al. Immunostaining for p16INK4a used as a conjunctive tool improves interobserver agreement of the histologic diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. Am J Surg Pathol. 2008;32:502-512.
 28. Sayed K, Korourian S, Ellison DA, et al. Diagnosing cervical biopsies in adolescents: the use of p16 immunohistochemistry to improve reliability and reproducibility. J Low Genit Tract Dis. 2007;11:141-146.
 29. Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
 30. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
 31. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
 32. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.

OB! En punkt används i detta dokument alltid som decimalavskiljare för att markera gränsen mellan integralen och bråkdelarna i ett decimaltal. Tusentalsavgränsare används inte.

Sammanfattning av säkerhet och prestanda finns här:

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

Symboler

Ventana använder följande symboler och tecken utöver de som anges i standarden ISO 15223-1 (för USA: se [elabdoc. Roche.com/symbols](https://www.ventanamedical.com/usa/labels) för ytterligare information):

GTIN GS1-artikelnummer

Rx only För USA: Var försiktig: Federal lag begränsar denna enhet till försäljning av eller på ordination av läkare.

VERSIONSHISTORIK

Rev	Uppdateringar
H	Uppdateringar av avsnittet Varningar och försiktighetsåtgärder, lade till avsnitt om Rx only, uppdaterade till aktuell mall.

IMMATERIALRÄTT

VENTANA, BENCHMARK, CINTEC, OPTIVIEW och ULTRAVIEW är varumärken som tillhör Roche. Alla andra varumärken tillhör sina respektive ägare.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

KONTAKTUPPGIFTER



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, AZ 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.roche.com



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

