

CINtec® PLUS Cytology Kit

REF 605-100
06889565001

IVD 100

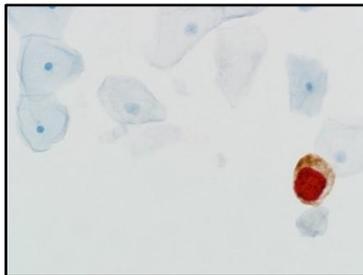


Figure 1. Cellule épithéliale cervicale positive pour p16^{INK4a} (coloration cytoplasmique brune) et pour Ki-67 (coloration nucléaire rouge).

UTILISATION PREVUE

Le CINtec PLUS Cytology Kit est un test d'immunocytochimie destiné à une utilisation en laboratoire visant à la détection qualitative simultanée des protéines p16^{INK4a} et Ki-67 dans les préparations de cytologie cervicale colorées sur un appareil BenchMark IHC/ISH. Il est indiqué pour une utilisation comme aide à l'identification des femmes avec des lésions intraépithéliales cervicales de haut grade dans une population dépistée et dans les sous-groupes de patientes avec un résultat cytologique de frottis cervico-utérin montrant des cellules

malpighiennes atypiques de signification indéterminée (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) ou une lésion malpighienne intraépithéliale de bas grade (low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL), ou chez les patientes avec un résultat de test positif pour le HPV à haut risque.

L'interprétation des résultats des tests ne peut être faite que par un professionnel qualifié, en conjonction avec les antécédents cliniques du patient et les tests diagnostiques complémentaires qui ont été effectués.

Le produit est conçu pour une utilisation en diagnostic in vitro (IVD).

RESUME ET EXPLICATION

Dans les cellules eucaryotes, le contrôle de la progression du cycle de division cellulaire est régulé par un profil complexe d'expression contrôlée et de modifications post-traductionnelles des protéines régulant le cycle cellulaire. La protéine p16^{INK4a} joue un rôle majeur dans ce mécanisme de régulation du cycle cellulaire eucaryote. Elle fait partie du contrôle de la transition entre les phases G1 et S médiée par la protéine du rétinoblastome (pRb), et elle provoque l'arrêt du cycle cellulaire au cours des processus de différenciation cellulaire. Ainsi, p16^{INK4a} exerce un effet anti-prolifératif au cours de la progression régulière du cycle cellulaire.¹ Dans les cellules épithéliales différenciées en phase terminale, l'expression de p16^{INK4a} est régulée à la baisse jusqu'à des niveaux typiquement non détectables par immunocytochimie (ICC).²

Dans la dysplasie cervicale, la surexpression de p16 est considérée comme un biomarqueur de substitution des infections HPV transformantes, qui reflète l'activation de la prolifération cellulaire induite par l'oncoprotéine HPV E6/E7.^{2,3,4,5} La détection de p16 dans les préparations de cytologie cervicale a été proposée comme marqueur auxiliaire précieux pour assurer le triage des femmes présentant des résultats anormaux à la cytologie de frottis cervico-utérin ainsi que des résultats positifs aux tests HPV.^{3,4,5} Cependant, étant donné que la coloration spécifique p16 peut être observée dans des cellules métaplasiques ou endocervicales individuelles dans lesquelles p16 peut être exprimée pour exercer sa fonction cellulaire physiologique normale et suppressive de croissance, les résultats de la cytologie du col de l'utérus ne peuvent pas être interprétés de la même manière, l'interprétation des préparations de cytologie cervicale à coloration unique p16 nécessite l'identification des cellules immunoréactives p16 et une classification plus poussée de ces cellules en fonction des signes d'anomalies morphologiques.^{2,3,4} La détection simultanée combinée de p16 et du marqueur de prolifération Ki-67 au sein d'une même cellule par ICC s'est révélée comme un outil précieux pour identifier les cellules cervicales dysplasiques dans les préparations cytologiques sans qu'il soit nécessaire de procéder à une interprétation morphologique.^{3,7,8} Ki-67 est une protéine nucléaire et nucléaire strictement associée à la prolifération cellulaire et indétectable par les méthodes d'immunocoloration standard dans les cellules au repos (G0).⁶ Dans des conditions physiologiques normales, l'expression de la protéine Ki-67 associée à la

prolifération est mutuellement exclusive de la protéine p16 anti-proliférative. En revanche, les cellules où la voie médiée par la protéine du rétinoblastome (pRb) contrôlant la progression du cycle cellulaire est abrogée en amont de la fonction suppresseur de tumeur de p16 (comme dans les cellules épithéliales exprimant les oncoprotéines à haut risque HPV E6/E7) peuvent proliférer et donc exprimer Ki-67 en présence de p16 fonctionnels.^{2,3}

La détection de cellules individuelles dans les préparations de cytologie cervicale qui co-expriment simultanément p16 et Ki-67 peut par conséquent servir d'indicateur indépendant de la morphologie des cellules présentant un dérèglement du cycle cellulaire. Cette co-expression de p16 et de Ki-67 peut être utilisée comme un indicateur de la présence d'infections à HPV transformantes et de néoplasies cervicales intraépithéliales sous-jacentes.^{2,3} Dans un passé récent, de nombreuses études ont été réalisées et publiées pour évaluer la valeur potentielle et l'utilité clinique de la cytologie à double coloration p16/Ki-67 pour l'identification des femmes qui pourraient bénéficier d'une orientation vers la colposcopie en fonction de divers résultats de dépistage primaire du cancer du col de l'utérus. Ces résultats comprennent le triage des femmes présentant des résultats de cytologie de frottis cervico-utérin Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (ASC-US) ou Low grade Squamous Intraepithelial Lesion (LSIL), les femmes ayant des résultats positifs au HPV à haut risque dans le cadre du dépistage primaire du HPV, ou les femmes Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy (NILM)/positives au HPV dans les contextes cliniques où le frottis cervico-vaginal et le co-test HPV sont utilisés pour le dépistage primaire.⁷⁻²⁵

PRINCIPE DE LA PROCEDURE

Le CINtec PLUS Cytology Kit contient un ensemble de réactifs pour la détection immunocytochimique simultanée des protéines p16^{INK4a} et Ki-67 dans les échantillons cytologiques prélevés sur le col de l'utérus. Les protéines sont détectées à l'aide d'un cocktail prêt à l'emploi d'anticorps monoclonaux primaires qui contient un anticorps monoclonal recombinant de souris dirigé contre la protéine p16^{INK4a} humaine (clone E6H4™) et un anticorps primaire de lapin recombinant dirigé contre la protéine Ki-67 humaine (clone 274-11AC3V1). Après démasquage cellulaire, l'inhibition de l'activité peroxydase endogène et l'incubation avec le cocktail d'anticorps primaires, le test utilise deux systèmes de détection prêts à l'emploi optimisés pour l'utilisation sur des échantillons de cytologie cervicale :

- Un anticorps secondaire de chèvre anti-souris fixé de manière covalente à des haptènes HQ (haptène propriétaire) et un anticorps tertiaire anti-haptène HQ, conjugué à la peroxydase de raifort (HRP), optimisé pour la détection de l'anticorps monoclonal de souris clone E6H4 ;
- Anticorps secondaire de chèvre anti-lapin fixé de manière covalente à des haptènes NP (haptène propriétaire) et anticorps tertiaire anti-haptène NP, conjugué à une alcaline-phosphatase (AP), optimisé pour la détection de l'anticorps recombinant de lapin clone 274-11AC3V1.

Les réactions chromogéniques sont basées sur la conversion médiée par HRP de 3,3'-diaminobenzidine tétrahydrochloride (DAB) et la conversion médiée par l'AP du Fast Red avec le Naphthol Phosphate résultant en un précipité brun sur le site de l'antigène p16^{INK4a} et un précipité rouge sur le site de l'antigène Ki-67, respectivement.

Après la contre-coloration et le bleuissement automatisés, il est nécessaire de suivre une procédure de montage en deux étapes. Tout d'abord, un premier montage de la lame est réalisé à l'aide d'un milieu de montage aqueux. Ensuite, un couvre-objet est apposé sur la lame à l'aide d'un milieu de montage permanent. Les résultats de la coloration sont évalués par observation au microscope optique.

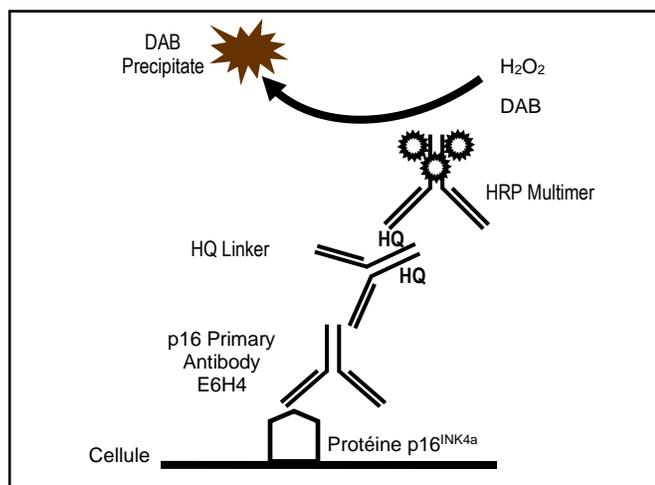


Figure 2. Détection de la protéine p16^{INK4a} humaine.

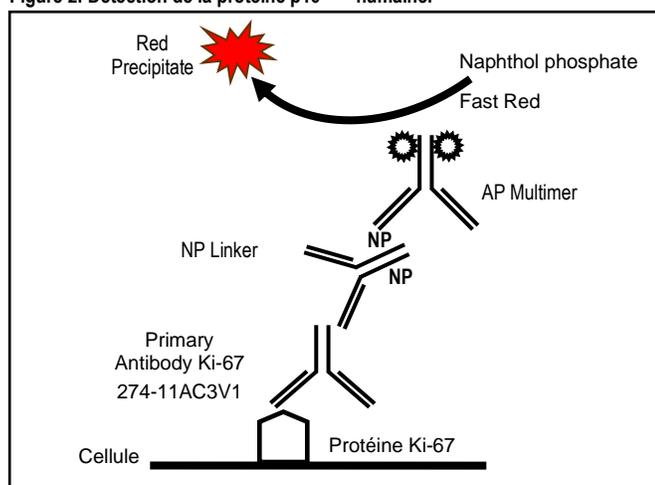


Figure 3. Détection de la protéine Ki-67 humaine.

MATERIEL FOURNI

Le CINtec PLUS Cytology Kit contient suffisamment de réactif pour 100 tests.

- Un distributeur de 10 mL de CINtec PLUS Cytology Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67) contient un cocktail d'anticorps monoclonal recombinant de souris clone E6H4 dirigé contre la protéine p16^{INK4a} humaine et d'anticorps primaire de lapin recombinant clone 274-11AC3V1 dirigé contre la protéine Ki-67 humaine (< 5 µg/mL d'anticorps total) dans un tampon contenant des protéines avec le conservateur ProClin 300.
- Un distributeur de 10 mL de CINtec PLUS Cytology Red anti-Rabbit NP Linker contient un anticorps de chèvre anti-IgG de lapin conjugué au NP (< 10 µg/mL ; NP est un haptène exclusif couplé de façon covalente à l'anticorps de chèvre) dans un tampon renfermant une protéine et du ProClin 300, un conservateur.
- Un distributeur de 10 mL de CINtec PLUS Cytology Red AP Multimer contient un anticorps tertiaire anti-NP monoclonal de souris marqué AP (< 20 µg/mL) dans un tampon contenant des protéines avec le conservateur ProClin 300.
- Un distributeur de 10 mL de CINtec PLUS Cytology Red Naphthol Phosphate contient du Naphthol Phosphate (< 1 %) et du ProClin 300, un conservateur.

- Un distributeur de 10 mL de CINtec PLUS Cytology Fast Red contient du Fast Red (< 1 %) dans un tampon acétate renfermant du ProClin 300, un conservateur.
- Un distributeur de 10 mL de CINtec PLUS Cytology DAB Peroxidase Inhibitor contient une solution de peroxyde d'hydrogène (< 5 %).
- Un distributeur de 10 mL de CINtec PLUS Cytology DAB anti-Mouse HQ Linker contient un anticorps de chèvre anti-IgG de souris conjugué à l'HQ (< 40 µg/mL ; HQ est un haptène exclusif couplé de façon covalente à l'anticorps de chèvre) dans un tampon renfermant une protéine et du ProClin 300, un conservateur.
- Un distributeur de 10 mL de CINtec PLUS Cytology DAB HRP Multimer contient un anticorps monoclonal tertiaire de souris anti-HQ conjugué à l'HRP (< 10 µg/mL) dans un tampon renfermant une protéine et du ProClin 300, un conservateur.
- Un distributeur de 10 mL de CINtec PLUS Cytology DAB contient du tétrahydrochlorate 3,3'-diaminobenzidine (< 1 %) dans une solution stabilisante exclusive contenant un conservateur exclusif.
- Un distributeur de 10 mL de CINtec PLUS Cytology DAB H₂O₂ contient du peroxyde d'hydrogène (< 1 %) dans une solution de tampon phosphate.

RECONSTITUTION, MELANGE, DILUTION, TITRATION

Le CINtec PLUS Cytology Kit est optimisé pour une utilisation sur les appareils BenchMark IHC/ISH. Aucune étape de reconstitution, de mélange, de dilution ou de titration des réactifs du kit n'est nécessaire.

Tout écart par rapport aux procédures recommandées pour la fixation et le traitement subséquent des échantillons cytologiques cervicaux peut entraîner une importante variabilité des résultats nécessitant la réalisation régulière des contrôles développés en interne.

Pour en savoir plus sur les contrôles, consulter la section Contrôle qualité.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

Les réactifs de coloration tels que les kits de détection et les composants accessoires VENTANA, y compris les lames de tissu de contrôle négatif et positif, ne sont pas fournis. Il est possible que certains produits indiqués dans la fiche technique ne soient pas disponibles dans certains pays. Contacter un représentant du service client local.

Les réactifs et le matériel suivants sont nécessaires pour la coloration, mais ils ne sont pas fournis avec le kit de détection :

1. Contrôles appropriés (facultatifs ; consulter la section Contrôle qualité)
2. Hematoxylin Counterstain (réf. 760-2021 / 05266726001)
3. Bluing Reagent (réf. 760-2037 / 05266769001)
4. Reaction Buffer Concentrate (10X) (réf. 950-300 / 05353955001)
5. Cell Conditioning Solution (CC1) (réf. 950-124 / 05279801001)
6. Cell Conditioning Solution (CC2) (réf. 950-123 / 05279798001)
7. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (réf. 950-224 / 05424569001)
8. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (réf. 950-223 / 05424542001)
9. LCS (Predilute) (réf. 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (réf. 650-210 / 05424534001)
11. Reagent Grade Ethanol dénaturé (pureté ≥ 95 %)
12. Appareil BenchMark IHC/ISH
13. Des lames de microscope Superfrost Plus (Thermo Fisher Scientific) pour frottis classiques sont recommandées.
14. Lames de microscope ThinPrep Arcless (RÉF. Hologic 70126-002) ou lames de microscope Superfrost Plus (RÉF. VWR 48311-703)
15. Roche Cell Collection Medium (réf. 07994753190)
16. PreservCyt® Solution (RÉF. Hologic 234004)
17. Lames BD SurePath PreCoat (incluses dans le kit GYN SurePath)
18. SurePath™ Preservative Fluid (RÉF. BD 490522)
19. Milieu de montage aqueux CC/Mount (RÉF. Roche 7342098001 ; réf. Diagnostic BioSystems réf. : K 002 ; réf. Sigma-Aldrich : C9368)

- 20. Facultatif : étuve capable de maintenir une température de 60 °C ± 5 °C
- 21. Matériel courant de laboratoire

CONSERVATION ET STABILITE

Conserver le produit entre 2 et 8 °C dès réception et lorsqu'il n'est pas utilisé. Ne pas congeler. L'utilisateur doit valider toute condition de conservation non spécifiée dans la fiche technique. Ce kit de détection peut être utilisé dès sa sortie du réfrigérateur.

Pour assurer une distribution correcte des réactifs et la stabilité des réactifs, remettre le capuchon sur les distributeurs après chaque utilisation et ranger immédiatement les distributeurs en position verticale dans le réfrigérateur.

Chaque kit de détection comporte une date d'expiration. Lorsqu'il est correctement conservé, le produit reste stable jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette. Ne pas utiliser le produit au-delà de la date d'expiration indiquée pour la méthode de conservation prévue. Étant donné qu'il n'existe aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit, un contrôle positif doit toujours être testé en même temps que les échantillons pathologiques. En cas de signe d'instabilité du réactif, contacter immédiatement un représentant du service client local.

AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Pour utilisation en diagnostic in vitro (IVD).
2. Pour utilisation professionnelle uniquement.
3. Ne pas utiliser au-delà du nombre de tests indiqué.
4. Ne pas utiliser le produit si l'emballage de l'un de ses composants est endommagé. Si un emballage est altéré ou que des composants sont endommagés, prévenir sans attendre un représentant du service client local.
5. Une solution de ProCin 300 est utilisée comme conservateur dans cette solution. Ce conservateur classé comme produit irritant peut provoquer une sensibilisation par contact avec la peau. Prendre toutes les précautions nécessaires pendant la manipulation. Éviter tout contact des yeux, de la peau et des membranes muqueuses avec les réactifs. Utiliser des gants et porter des vêtements de protection.
6. Les produits d'origine humaine ou animale doivent être manipulés comme susceptibles de présenter un risque biologique et éliminés en prenant les précautions appropriées. En cas d'exposition à un tel produit, il convient de respecter les directives des autorités de santé compétentes.^{26,27}
7. Prendre toutes les précautions nécessaires pendant la manipulation des réactifs. Éviter tout contact des yeux, de la peau et des membranes muqueuses avec les réactifs. Éviter d'inhaler les réactifs. Utiliser des gants jetables et porter des vêtements de protection appropriés pendant la manipulation de cancérogènes présumés ou de substances toxiques.
8. Si des réactifs entrent en contact avec des zones sensibles, laver abondamment à l'eau.
9. Éviter toute contamination microbienne des réactifs, car cela pourrait entraîner des résultats erronés.
10. Pour plus d'informations sur l'utilisation de ce produit se référer au guide d'utilisation de l'appareil BenchMark IHC/ISH et au mode d'emploi de tous les composants nécessaires à l'adresse navifyportal.roche.com.
11. Consulter les autorités locales et/ou nationales pour connaître la méthode d'élimination recommandée.
12. Lors de la manipulation et de l'élimination des échantillons cytologiques, y compris tous les échantillons avant et après fixation, ainsi que tous les matériaux qui y sont exposés, respecter les mesures de sécurité relatives à la manipulation de matériel potentiellement infectieux ainsi que les exigences applicables en matière d'élimination des déchets.
13. L'étiquetage de sécurité des produits suit principalement les directives SGH de l'UE. La fiche de données de sécurité est disponible sur demande pour les utilisateurs professionnels.
14. Pour signaler toute suspicion d'événement grave lié à ce dispositif, contacter un représentant Roche local et l'autorité compétente de l'État membre ou du pays dans lequel le dispositif est utilisé.

Ce kit de détection contient des composants classés comme suit conformément au Règlement (CE) no 1272/2008 :

Tableau 1. Mentions de danger.

Danger	Code	Mention
	H317	Peut provoquer une allergie cutanée.
	H350	Peut provoquer le cancer.
	H412	Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.
	P201	Se procurer les instructions spéciales avant utilisation.
	P261	Éviter de respirer les brouillards ou les vapeurs.
	P273	Éviter le rejet dans l'environnement.
	P280	Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage/de l'ouïe.
	P308 + P313	EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : consulter un médecin.
	P333 + P313	En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin.

Ce produit contient les numéros CAS :

- 868272-85-9 : hydrate de tétrahydrochlorure de 3,3'-Diaminobenzidine
- 2682-20-4 : 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one
- Cet anticorps contient la masse de réaction de 5-chloro-2-méthyl-2H-isothiazol-3-one et de 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one (3:1), numéro CAS 55965-84-9

PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons cytologiques doivent être manipulés de façon appropriée afin de les préserver pour les procédures immunocytochimiques. Tous les échantillons doivent être traités selon des méthodes bien établies de préparation des cellules.

Pour éviter d'occulter des éléments tels que le sang et le mucus et garantir un échantillon adéquat conformément aux Bethesda Guidelines²⁸, les cliniciens doivent respecter les techniques d'échantillonnage recommandées.

Les méthodes suivantes de préparation des lames sont adaptées à l'utilisation du CINtec PLUS Cytology Kit :

- Lames ThinPrep (Hologic Inc.) préparées sur un ThinPrep 2000 ou 5000 Processor (Hologic Inc.) à l'aide de lames ThinPrep Arcless Microscope ou de lames Superfrost Plus conformément aux recommandations du fabricant ;
- Lames BD SurePath (BD Diagnostics) préparées selon les recommandations du fabricant.
- Lames préparées manuellement (lames de frottis classiques)

Il est recommandé de tester des contrôles appropriés en même temps que les échantillons des patients (consulter la rubrique Contrôle qualité pour plus de détails).

Préparation des échantillons prélevés dans le Roche Cell Collection Medium

Les échantillons cytologiques prélevés par un professionnel de santé et remis en suspension dans le Roche Cell Collection Medium (RCCM) destinés à la coloration immunocytochimique à l'aide du CINtec PLUS Cytology Kit peuvent être conservés entre 15 et 30 °C pendant 6 semaines, puis pendant 12 semaines supplémentaires au réfrigérateur entre 2 et 8 °C.

Des lames ThinPrep Arcless Microscope ou Superfrost Plus lames sont nécessaires pour la coloration immunocytochimique avec le CINtec PLUS Cytology Kit sur les appareils BenchMark IHC/ISH.

Préparation des lames à partir d'échantillons prélevés dans du Roche Cell Collection Medium à l'aide d'un ThinPrep 2000 Processor

Les lames sont préparées à partir d'échantillons prélevés dans du Roche Cell Collection Medium à l'aide d'un ThinPrep 2000 Processor. À la fin de la séquence du ThinPrep 2000 Processor, la lame traitée se trouve dans un flacon de fixateur contenant une solution d'éthanol de qualité réactif ≥ 95 %. Retirer le flacon du support du bain de fixateur du ThinPrep 2000 Processor et transférer la lame traitée du flacon vers un bac pour lames

rempli d'une solution d'éthanol de qualité réactif $\geq 95\%$. Incuber la ou les lames dans de l'éthanol pendant 15 minutes au minimum et 60 minutes au maximum. Changer la solution d'éthanol dans le flacon de fixateur et le récipient à lames après préparation de 20 lames. À la fin de la période d'incubation, retirer la ou les lames de la solution d'éthanol et les poser horizontalement sur une surface plane pendant au moins 60 minutes pour les laisser sécher. Les lames séchées peuvent être conservées à l'abri de la lumière à température ambiante et doivent être colorées avec le CINtec PLUS Cytology Kit dans un délai de 7 jours après la préparation.

Préparation des lames à partir d'échantillons prélevés dans du Roche Cell Collection Medium à l'aide d'un ThinPrep 5000 Processor

Les lames sont préparées à partir d'échantillons prélevés dans du Roche Cell Collection Medium à l'aide d'un ThinPrep 5000 Processor. À la fin de la séquence du ThinPrep 5000 Processor, les lames traitées se trouvent dans un portoir à lames qui est immergé dans un bain de fixateur contenant une solution d'éthanol de qualité réactif $\geq 95\%$. Retirer le bain de fixateur ou le récipient à lames du ThinPrep 5000 Processor et incuber les lames pendant une période supplémentaire de 15 minutes au minimum et de 60 minutes au maximum. Changer la solution d'éthanol dans le récipient à lames après chaque cycle. À la fin de la période d'incubation, retirer les lames de la solution d'éthanol et les poser horizontalement sur une surface plane pendant au moins 60 minutes pour les laisser sécher. Les lames séchées peuvent être conservées à l'abri de la lumière à température ambiante et doivent être colorées avec le CINtec PLUS Cytology Kit dans un délai de 7 jours après la préparation.

Avant coloration immunocytochimique avec le CINtec PLUS Cytology Kit, retirer l'étiquette initiale de la lame utilisée par le ThinPrep 5000 Processor.

Préparation de l'échantillon PreservCyt

L'échantillon cytologique prélevé dans du PreservCyt Solution (PC) qui doit être coloré par immunohistochimie à l'aide du CINtec PLUS Cytology Kit peut être conservé pendant 6 semaines entre 15 et 30 °C, puis pendant 12 semaines supplémentaires entre 2 et 8 °C.

Des lames ThinPrep Arcless Microscope ou Superfrost Plus lames sont nécessaires pour la coloration immunocytochimique avec le CINtec PLUS Cytology Kit sur les appareils BenchMark IHC/ISH.

Slide Preparation à partir d'échantillons prélevés dans PreservCyt à l'aide d'un ThinPrep 2000 Processor

Les lames sont préparées à partir d'échantillons cytologiques prélevés par un professionnel de santé et remis en suspension dans PreservCyt à l'aide d'un ThinPrep 2000 Processor. À la fin de la séquence du ThinPrep 2000 Processor, la lame traitée se trouve dans un flacon de fixateur contenant une solution d'éthanol de qualité réactif $\geq 95\%$. Retirer le flacon du support du bain de fixateur du ThinPrep 2000 Processor et transférer la lame traitée du flacon vers un bac pour lames rempli d'une solution d'éthanol de qualité réactif $\geq 95\%$. Incuber la ou les lames dans de l'éthanol pendant 15 minutes au minimum et 60 minutes au maximum. Changer la solution d'éthanol dans le flacon de fixateur et le récipient à lames après préparation de 20 lames. À la fin de la période d'incubation, retirer la ou les lames de la solution d'éthanol et les poser horizontalement sur une surface plane pendant au moins 60 minutes pour les laisser sécher. Les lames séchées peuvent être conservées à l'abri de la lumière entre 15 et 30 °C et doivent être colorées avec le CINtec PLUS Cytology Kit dans un délai de 7 jours après la préparation.

Slide Preparation à partir d'échantillons prélevés dans PreservCyt à l'aide d'un ThinPrep 5000 Processor

Les lames sont préparées à partir d'échantillons cytologiques prélevés par un professionnel de santé et remis en suspension dans PreservCyt à l'aide d'un ThinPrep 5000 Processor. À la fin de la séquence du ThinPrep 5000 Processor, les lames traitées se trouvent dans un portoir à lames qui est immergé dans un bain de fixateur contenant une solution d'éthanol de qualité réactif $\geq 95\%$. Retirer le bain de fixateur ou le récipient à lames du ThinPrep 5000 Processor et incuber les lames pendant une période supplémentaire de 15 minutes au minimum et de 60 minutes au maximum. Changer la solution d'éthanol dans le récipient à lames après chaque cycle. À la fin de la période d'incubation, retirer les lames de la solution d'éthanol et les poser horizontalement sur une surface plane pendant au moins 60 minutes pour les laisser sécher. Les lames séchées peuvent être conservées à l'abri de la lumière à température ambiante et doivent être colorées avec le CINtec PLUS Cytology Kit dans un délai de 7 jours après la préparation.

Avant coloration immunocytochimique avec le CINtec PLUS Cytology Kit, retirer l'étiquette initiale de la lame utilisée par le ThinPrep 5000 Processor.

Préparation de l'échantillon BD SurePath

Les échantillons cytologiques prélevés par un professionnel de santé et remis en suspension dans du SurePath Preservative Fluid qui doivent être colorés par immunohistochimie à l'aide du CINtec PLUS Cytology Kit peuvent être conservés pendant un maximum de 4 semaines entre 15 et 30 °C ou pendant 6 mois dans un réfrigérateur entre 2 et 10 °C.

Slide Preparation BD SurePath immédiatement après le processus de traitement d'une lame de frottis cervico-utérin

Une fois qu'un culot cellulaire enrichi a été obtenu pour la préparation d'une lame en vue de la coloration d'un frottis, il peut être utilisé immédiatement pour la préparation d'une deuxième lame en vue de la coloration avec le CINtec PLUS Cytology Kit. Suivre les recommandations du fabricant concernant l'utilisation de « Slide Preparation » [option 2] pour les échantillons GYN sur l'appareil PrepStain™. Le volume de remise en suspension doit être réglé sur 0 mL dans l'option de menu « Change Sample/Stain Parameters ».

Slide Preparation BD SurePath à partir d'un culot cellulaire conservé

Les culots cellulaires enrichis peuvent être conservés après avoir ajouté environ 2 mL de SurePath Preservative Fluid et bouché les tubes à échantillons en vue de leur stockage (consulter les instructions du fabricant pour plus de détails). À partir de la date de prélèvement des échantillons, les culots cellulaires qui ont été remis en suspension dans un liquide de conservation peuvent être conservés jusqu'à 4 semaines entre 15 et 30 °C, ou pendant 6 mois dans un réfrigérateur maintenu entre 2 et 10 °C. Pour traiter une lame pour le CINtec PLUS Cytology Kit, porter d'abord l'échantillon à température ambiante pendant 60 minutes. Commencer par la deuxième étape de centrifugation du processus d'enrichissement GYN et procéder aux autres étapes de prétraitement comme indiqué dans les instructions du fabricant pour le retraitement des culots cellulaires conservés. Suivre les recommandations du fabricant concernant l'utilisation de « Slide Preparation » [option 2] pour les échantillons GYN sur l'appareil PrepStain.

Pour toutes les options de préparation indiquées ci-dessus, retirer le portoir à lames de l'appareil PrepStain une fois que l'étape de transfert d'échantillon est terminée. Retourner le portoir pour vider le liquide. Pipetter 2 mL d'une solution d'éthanol de qualité réactif $\geq 95\%$ dans chaque chambre de déposition et vider immédiatement. Rincer de nouveau avec 2 mL d'une solution d'éthanol de qualité réactif $\geq 95\%$ et incuber pendant 10 minutes. Vider de nouveau en retournant le portoir. Retirer les chambres de déposition des lames et laisser les lames sécher horizontalement sur une surface plane pendant au moins 60 minutes. Les lames séchées peuvent être conservées à l'abri de la lumière à température ambiante et doivent être colorées avec le CINtec PLUS Cytology Kit dans un délai de 7 jours après la préparation.

Utilisation de frottis classiques

Les frottis classiques doivent être fixés par pulvérisation d'un réactif de fixation cytologique contenant du polyéthylène glycol (p. ex. Safetex Cytology Fixative, Andwin Scientific) immédiatement après le prélèvement des échantillons. Les lames de frottis classiques fixés par pulvérisation peuvent être conservées à l'abri de la lumière à température ambiante et doivent être colorées avec le CINtec PLUS Cytology Kit dans un délai de 7 jours après la préparation.

Aucun autre prétraitement n'est requis avant le chargement des lames sur l'appareil BenchMark IHC/ISH.

PROCEDURE DE COLORATION

Le CINtec PLUS Cytology Kit a été développé pour être utilisé sur les appareils BenchMark IHC/ISH en association avec les réactifs auxiliaires et les accessoires VENTANA.

Le CINtec PLUS Cytology Kit a été optimisé avec les paramètres indiqués dans les tableaux 2, 3 et 4. L'utilisateur doit valider les résultats obtenus avec ce kit.

Les paramètres des protocoles automatisés peuvent être affichés, imprimés et modifiés conformément aux instructions décrites dans le guide d'utilisation de l'appareil.

Tableau 2. Protocole de coloration recommandé pour les lames préparées à l'aide du ThinPrep ou du SurePath et les lames de frottis classiques sur l'appareil BenchMark GX.

Procédure de coloration	GX CINtec PLUS Cytology		
Options sélectionnables	Type Slide Preparation		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Conventionnel
ThinPrep	Sélectionné	Non	Non
SurePath	Non sélectionné	Sélectionné	Non
Autre	Non sélectionné	Non	Sélectionné
Option Cell Conditioning	Non sélectionnable	Non sélectionnable	16 min
Durée d'inc. de l'anticorps	16 min	20 min	16 min
Durée d'Inc. de l'HQ Linker	12 min	16 min	12 min
Durée de IHRP Multimer Inc	6 min	8 min	8 min
Durée du NP Linker Inc	8 min	16 min	8 min
Durée de l'AP Multimer Inc	8 min	8 min	8 min
Hematoxylin	8 min	8 min	8 min
Bluing	4 min	4 min	4 min

Tableau 3. Protocole de coloration recommandé pour les lames préparées à l'aide du ThinPrep ou du SurePath et les lames de frottis classiques sur l'appareil BenchMark XT.

Procédure de coloration	XT CINtec PLUS Cytology		
Options sélectionnables	Type Slide Preparation		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Conventionnel
ThinPrep	Sélectionné	Non sélectionné	Non sélectionné
SurePath	Non sélectionné	Sélectionné	Non
Autre	Non sélectionné	Non	Sélectionné
Option Cell Conditioning	Non	Non	16 min
Durée d'inc. de l'anticorps	16 min	20 min	16 min
Durée d'Inc. de l'HQ Linker	12 min	16 min	12 min
Durée de IHRP Multimer Inc	8 min	8 min	8 min
Durée du NP Linker Inc	8 min	16 min	8 min
Durée de l'AP Multimer Inc	8 min	8 min	8 min
Hematoxylin	8 min	8 min	8 min
Bluing	4 min	4 min	4 min

Tableau 4. Protocole de coloration recommandé pour les lames préparées à l'aide du ThinPrep ou du SurePath et les lames de frottis classiques sur les appareils BenchMark ULTRA ou BenchMark ULTRA PLUS.

Procédure de coloration	U CINtec PLUS Cytology		
Options sélectionnables	Type Slide Preparation		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Conventionnel
ThinPrep	Sélectionné	Non sélectionné	Non
SurePath	Non sélectionné	Sélectionné	Non
Autre	Non sélectionné	Non sélectionné	Sélectionné
Option Cell Conditioning	Non sélectionnable	Non sélectionnable	16 min
Durée d'inc. de l'anticorps	16 min	16 min	16 min
Durée d'Inc. de l'HQ Linker	12 min	16 min	12 min
Durée de IHRP Multimer Inc	8 min	8 min	8 min
Durée du NP Linker Inc	8 min	16 min	8 min
Durée de l'AP Multimer Inc	8 min	8 min	8 min
Hematoxylin	8 min	8 min	8 min
Bluing	4 min	4 min	4 min

PROCEDURE APRES TRAITEMENT : MONTAGE ET APPOSITION DU COUVRE-OBJET

Pour maintenir une sensibilité optimale et éviter que les couleurs des chromogènes s'estompent, il est nécessaire de suivre une procédure de montage en deux étapes. Retirer les lames de l'appareil BenchMark IHC/ISH, puis, tout en les agitant, rincer délicatement les lames avec de l'eau du robinet, de l'eau déionisée ou de l'eau distillée et avec un liquide vaisselle doux jusqu'à ce que la solution de LCS soit complètement éliminée des lames.

REMARQUE : ne pas laisser l'eau couler directement sur les lames. Faire couler l'eau avec un débit minimal.

Les lames doivent être montées en suivant un protocole à deux étapes et les étapes suivantes doivent être exécutées de façon séquentielle :

Montage aqueux :

1. Incuber les lames dans de l'eau distillée ou déionisée pendant au moins 1 minute.
2. Les lames qui ne sont pas recouvertes par une lamelle doivent rester dans de l'eau distillée ou déionisée pendant l'application du milieu de montage aqueux CC/Mount sur les autres lames.
3. Sortir une lame de l'eau distillée ou déionisée et essuyer soigneusement le dos de la lame avec un essuie-tout pour éliminer l'excès d'eau. Ne pas égoutter ni essuyer l'eau sur le dessus de la lame (le côté avec l'échantillon).
4. Tenir la lame légèrement inclinée et appliquer quatre à six gouttes de milieu de montage aqueux CC/Mount par lame ThinPrep ou SurePath et huit gouttes par lame de frottis classique. Éviter la formation de bulles d'air. Pour éviter les bulles d'air, faire couler la première goutte sur un essuie-tout, puis appliquer le CC/Mount sur la zone de préparation d'échantillon de la lame.
5. Incliner et faire tourner délicatement la lame sur elle-même pour former une mince couche de milieu de montage recouvrant entièrement la zone de préparation d'échantillon (ne pas appliquer tout de suite de film ou la lamelle couvre-objet) ; vérifier visuellement la distribution du milieu de montage sur la lame.
6. Nettoyer l'excès de milieu de montage aqueux CC/Mount au dos et sur les bords de la lame. Utiliser un essuie-tout humide si nécessaire.

7. Pour le séchage, placer les lames préparées en position horizontale.
 - Incuber les lames ThinPrep ou SurePath ainsi préparées à 37-60 °C pendant 1 heure ou à température ambiante pendant une nuit.
 - Incuber les lames de frottis classiques à 37 °C pendant 4 heures, à 60 °C pendant 1 heure ou à température ambiante pendant une nuit.

Pose d'une lamelle de verre ou d'un film couvre-objet :

1. Après le séchage complet du milieu de montage aqueux CC/Mount, laisser les lames revenir à température ambiante, si nécessaire. Incuber les lames dans du xylène pendant 1 minute au minimum et 20 minutes au maximum. Ensuite, recouvrir les lames soit d'une lamelle de verre à l'aide d'un milieu de montage au xylène, soit d'un film compatible avec le xylène.

REMARQUE : les lames ne doivent pas être déshydratées par des séries ascendantes d'alcool avant d'être recouvertes de verre ou de film.

2. Laisser le milieu de montage au xylène sécher à température ambiante.

REMARQUE : pour minimiser la décoloration, protéger les lames de la lumière et les conserver à température ambiante.

CONTROLE QUALITE

Tout écart par rapport aux procédures recommandées pour la fixation et le traitement subséquent des échantillons cytologiques cervicaux peut entraîner une importante variabilité des résultats. Une défaillance du produit dû à des problèmes de manipulation ou de stabilité ne se manifeste pas par des signes évidents. Par conséquent, des contrôles appropriés doivent être testés en même temps que les échantillons des patients.

Contrôle positif

Des échantillons préparés de la même façon que les échantillons des patients doivent être utilisés comme contrôles positifs. Les contrôles positifs permettent de vérifier que les échantillons ont été correctement préparés et que les techniques de coloration sont appropriées. Un contrôle positif doit être inclus à chaque cycle de coloration.

Des contrôles positifs connus doivent être utilisés uniquement pour vérifier les performances des échantillons préparés et des réactifs du test, et non comme une aide à la formulation d'un diagnostic spécifique sur les échantillons des patients. Si les contrôles positifs ne présentent pas la coloration positive appropriée, les résultats obtenus avec les échantillons testés doivent être considérés comme non valides.

Negative Control

De nombreux types cellulaires différents présents dans des échantillons représentatifs de cytologie cervicale et connus pour être négatifs pour l'expression des antigènes p16^{INK4a} et Ki-67 (tels que les cellules superficielles) peuvent servir de contrôle négatif interne pour évaluer la coloration de fond.

Vérification du test

Avant la première utilisation du CINtec PLUS Cytology Kit dans une procédure de diagnostic, l'utilisateur doit en vérifier les performances sur des échantillons positifs et négatifs dont les caractéristiques de performances sont connues.

INTERPRETATION DE LA COLORATION / RESULTATS ATTENDUS

La coloration du CINtec PLUS Cytology Kit donne lieu à deux produits de réaction de couleur distincte : un précipité brun aux sites de l'antigène p16^{INK4a} et un précipité rouge aux sites de l'antigène Ki-67. La coloration brune des cellules (cytoplasme et/ou noyaux) indique une surexpression de p16^{INK4a}. La coloration Red des cellules (noyaux) indique l'expression de Ki-67. Les cellules marquées au niveau de ces deux antigènes présentent une coloration cytoplasmique brune et une coloration nucléaire rouge généralement prononcée. Un anatomopathologiste ou cytopathologiste qualifié, expert en procédures immunocytochimiques et formé à l'interprétation des lames colorées avec le CINtec PLUS Cytology Kit, doit évaluer les contrôles avant d'interpréter les résultats.

L'interprétation des résultats des tests ne peut être faite que par un professionnel qualifié, en conjonction avec les antécédents cliniques du patient et les tests diagnostiques complémentaires qui ont été effectués.

Pour l'interprétation des lames de cytologie cervicale colorées avec le CINtec PLUS Cytology Kit, les lames doivent être évaluées en fonction de la présence de cellules épithéliales cervicales présentant une coloration brune cytoplasmique et une coloration rouge nucléaire indiquant l'expression simultanée de p16^{INK4a} et de Ki-67. En outre, de manière similaire à la communication des résultats de cytologie de frottis cervico-utérin, il convient d'évaluer l'adéquation des échantillons conformément aux Bethesda Guidelines 2015 (ou TBS)²⁸ lors de la communication du résultat du test CINtec PLUS Cytology Kit.

Résultat positif du test

La présence d'une ou de plusieurs cellules épithéliales cervicales présentant la colocalisation d'une immunocoloration cytoplasmique spécifique brune et d'une immunocoloration nucléaire spécifique rouge au sein de la même cellule est considérée comme un résultat positif au test CINtec PLUS Cytology Kit, indépendamment des caractéristiques cytomorphologiques.

Résultat négatif du test

Si aucune cellule épithéliale cervicale ne présente à la fois une immunocoloration cytoplasmique brune et une immunocoloration nucléaire rouge, le résultat du test CINtec PLUS Cytology Kit est considéré comme négatif.

La présence de cellules épithéliales cervicales qui présentent une immunoréactivité uniquement pour l'un des marqueurs mais pas pour les deux (comme une coloration brune pour p16^{INK4a} uniquement ou une coloration rouge pour Ki-67 uniquement) n'est pas considérée comme un résultat de test positif pour le CINtec PLUS Cytology Kit.

LIMITES SPECIFIQUES

1. Pour utilisation professionnelle uniquement. Une formation spéciale est nécessaire pour l'exécution des procédures immunocytochimiques.
2. L'évaluation des lames de microscope colorées avec le CINtec PLUS Cytology Kit doit être assurée uniquement par un professionnel qualifié ayant été formé à l'interprétation des résultats de ces tests.
3. L'interprétation clinique de toute coloration positive ou négative doit être évaluée à la lumière du tableau clinique et des critères cytologiques.
4. L'interprétation des résultats de la coloration avec le CINtec PLUS Cytology Kit dépend de l'intensité et de la qualité de la contre-coloration à l'hématoxyline. Tout écart par rapport aux réactifs et aux durées d'incubation recommandés nécessite une validation par le client, car une contre-coloration excessive ou incomplète peut gêner l'interprétation appropriée des résultats.
5. Les échantillons cervicaux présentent souvent des teneurs en sang total visuellement détectables. Si la concentration en sang total dépasse 1.0 %, l'échantillon doit être lysé avec de l'acide acétique glacial (AAG) conformément au protocole ThinPrep avant la préparation des lames.
6. Les lames de frottis classiques destinées à être utilisées pour une coloration avec le CINtec PLUS Cytology Kit doivent être préparées à l'aide de lames de microscope en verre Superfrost Plus et du Safetex Cytology Fixative (Andwin Scientific), un réactif de fixation contenant du polyéthylène glycol et appliqué par pulvérisation. Tout écart par rapport à cette recommandation doit être validé par le client.
7. L'utilisation du ThinPrep 3000 Processor n'est pas recommandée pour la préparation d'échantillons ThinPrep, car la procédure de fixation par pulvérisation effectuée par l'appareil peut entraîner une perte de cellules importante lorsque les lames préparées sont colorées avec le CINtec PLUS Cytology Kit.
8. Les lames de ThinPrep Arcless Microscope ou ThinPrep Microscope Slides pour un traitement spécial ou les lames de microscope Superfrost Plus sont nécessaires pour la préparation des échantillons ThinPrep pour la coloration immunocytochimique avec le CINtec PLUS Cytology Kit sur les appareils BenchMark IHC/ISH. Les lames de microscope ThinPrep comportant une zone de criblage imprimée peuvent donner des résultats de coloration incohérents.
9. Le fabricant fournit ces anticorps et ces réactifs à la dilution optimale pour une utilisation conforme aux instructions indiquées dans le présent document pour les tests immunocytochimiques sur des lames de cytologie en milieu liquide (liquid-based cytology, LBC). Tout écart par rapport aux procédures de test recommandées peut invalider les résultats attendus ; des contrôles appropriés doivent être utilisés et documentés. Les utilisateurs qui s'écartent des procédures de test recommandées doivent assumer la responsabilité de l'interprétation des résultats des patients dans ces circonstances.
10. Tous les tests ne sont pas forcément enregistrés sur chaque appareil. Contacter votre représentant Roche local pour plus d'informations.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

PERFORMANCES ANALYTIQUES

Les performances du CINtec PLUS Cytology Kit ont été évaluées dans une étude de la reproductibilité analytique et d'autres études pertinentes.

Sensibilité et spécificité analytiques

Les sensibilité et spécificité analytiques des anticorps primaires dirigés contre p16 et Ki-67 ont été évaluées par des tests de western blot et d'inhibition peptidique.

Les tests de western blot ont été effectués avec des lysats de lignées cellulaires représentant une gamme d'intensités de coloration. L'anticorps anti-p16^{INK4a} (E6H4) a été capable de détecter une bande d'environ 15-20kD dans la préparation de la protéine p16^{INK4a} recombinante purifiée. De plus, l'anticorps se lie spécifiquement à la protéine p16^{INK4a} recombinante purifiée et non à une quantité équivalente de protéine recombinante non apparentée. Il a également été démontré que l'anticorps se liait à la protéine p16^{INK4a} endogène exprimée dans des lysats dérivés des lignées cellulaires HeLa, SK Mel 28 et DU145 et non dans la lignée cellulaire négative p16^{INK4a} MDA MB 231. Les niveaux relatifs de la protéine p16^{INK4a} détectés dans les lysats des quatre lignées cellulaires par Western Blot correspondaient aux données de la coloration IHC, ce qui démontre la sensibilité de la détection de l'anticorps anti-p16^{INK4a} (E6H4). La liaison de l'anticorps Ki-67 clone (274-11AC3V1) a été testée dans un test Western Blot en utilisant des lysats de cellules entières préparés à partir des lignées cellulaires L428 (un lymphome de Hodgkin positif pour l'antigène Ki-67 ; DSMZ ATCC 197) et LNCaP (une lignée cellulaire de carcinome de la prostate avec une faible expression de la protéine Ki-67 ; ATCC CRL-1740). L'anticorps a permis de détecter la protéine Ki-67 endogène dans les lysats cellulaires, même à de faibles niveaux d'expression, et l'intensité de la bande était en corrélation avec la coloration IHC pour Ki-67 dans ces lignées cellulaires. L'anticorps primaire dirigé contre Ki-67 (clone 274-11AC3V1) dans le CINtec PLUS Cytology Kit se liait à un fragment recombinant purifié de la protéine Ki-67, mais ne se liait pas à une quantité équivalente d'une protéine recombinante de contrôle négatif non apparentée. La liaison dans ce test n'a pas été détectée dans la lignée cellulaire LNCaP exprimant peu la Ki-67. Les teneurs relatives en protéine Ki-67 détectées dans les lysats de ces lignées cellulaires par western blot correspondent aux données de coloration par IHC et aux données d'expression de l'ARNm. Les résultats des tests de western blot démontrent que l'anticorps primaire dirigé contre Ki-67 utilisé dans le CINtec PLUS Cytology Kit permet de détecter la protéine Ki-67 endogène dans les lysats cellulaires et le fragment recombinant de la protéine Ki-67 dans sa forme purifiée.

Les tests d'inhibition peptidique ont utilisé des solutions contenant des peptides p16 ou Ki-67 spécifiques. Le cocktail d'anticorps primaires a été dilué selon un rapport volume:volume de 1:1 avec des solutions de peptide spécifique de p16 ou de Ki-67 de diverses concentrations de façon à couvrir une gamme de rapports molaire, à savoir un excès molaire de peptide d'un facteur d'environ 1, 10, 100, 1000 et 10000 par rapport à la concentration finale d'anticorps dans la solution. Un cocktail d'anticorps primaires contenant le peptide spécifique de p16 a servi de contrôle non spécifique pour l'anticorps anti-Ki-67, et un peptide Alk-a non apparenté a servi de contrôle non spécifique pour l'anticorps anti-p16. Une lame de chaque échantillon (trois pools d'échantillons de cytologie cervicale et un de cellules CaSki) a été colorée avec chaque solution. Les résultats de cette étude ont montré que l'anticorps anti-p16 se lie spécifiquement à la protéine p16 et que l'anticorps anti-Ki-67 se lie spécifiquement à la protéine Ki-67. Comme attendu, les intensités de coloration pour p16 et Ki-67 étaient réduites dans tous les échantillons après coloration avec des solutions contenant les peptides spécifiques respectifs à une concentration de 1 M, l'inhibition complète étant atteinte avec les solutions contenant ≥ 10 M, tandis qu'aucune diminution de l'intensité de la coloration pour p16 n'a été observée après coloration avec des solutions contenant un peptide non spécifique ou ne contenant aucun peptide.

Répétabilité et précision intermédiaire

Des études de précision de la coloration réalisée avec le CINtec PLUS Cytology Kit sur des échantillons cervicaux ThinPrep ont été menées pour déterminer :

- La précision globale : le pourcentage de résultats d'évaluation identiques au résultat majoritaire (positif ou négatif) a été calculé pour chacun des 12 pools d'échantillons cytologiques cervicaux testés (trois pools de HSIL/HPV+, un pool de LSIL/HPV+, un pool d'ASC-US/HPV+, un pool de NILM/HPV+, trois pools de NILM/HPV- LBC et trois pools de lignée cellulaire T24 négative) après coloration de deux lames répliquées par pool avec trois lots de CINtec PLUS Cytology Kit, lors de cinq jours non consécutifs, évaluées par trois équipes de lecteurs de lames.
- La précision interjours : le pourcentage de résultats d'évaluation identiques au résultat majoritaire (positif ou négatif) a été calculé pour chaque jour (jour 1 à jour 5), en regroupant les données des 12 pools d'échantillons cytologiques cervicaux testés (trois pools de HSIL/HPV+, un pool de LSIL/HPV+, un pool d'ASC-US/HPV+, un pool de NILM/HPV+, trois pools de NILM/HPV- LBC et trois pools de lignée cellulaire T24 négative) de deux lames répliquées par pool avec trois lots de CINtec PLUS Cytology Kit, et trois équipes de lecteurs de lames.
- La précision interlots : le pourcentage de résultats d'évaluation identiques au résultat majoritaire (positif ou négatif) a été calculé pour chaque lot de CINtec PLUS Cytology Kit (lot 1 à 3) en regroupant les données des 12 pools d'échantillons

cytologiques cervicaux testés (trois pools de HSIL/HPV+, un pool de LSIL/HPV+, un pool d'ASC-US/HPV+, un pool de NILM/HPV+, trois pools de NILM/HPV- LBC pools et trois pools de lignée cellulaire T24 négative), pendant cinq jours non consécutifs, de deux lames répliquées, et trois équipes de lecteurs de lames.

Toutes les lames ont été mises en aveugle et randomisées, puis évaluées suivant l'interprétation de la coloration du CINtec PLUS Cytology Kit. Les lames ont été évaluées par trois équipes de lecteurs, toutes composées d'un cytopathologiste et d'un anatomopathologiste. Le résultat majoritaire, ou résultat modal au niveau du pool (positif ou négatif), a été utilisé comme référence pour déterminer le pourcentage de résultats identiques au résultat majoritaire. Le pourcentage de résultats identiques au résultat majoritaire est équivalent au taux de concordance pour les positifs (PPA) quand le résultat majoritaire est « positif » et au taux de concordance pour les négatifs (NPA) quand le résultat majoritaire est « négatif ». Les résultats sont résumés dans les Tableau 5, Tableau 6 et Tableau 7. Tous les intervalles de confiance (CI) étaient des intervalles de confiance bilatéraux à 95 %. Les CI ont été calculés par la méthode du percentile bootstrap, sauf dans les cas où les estimations ponctuelles étaient de 100 %, pour lesquels la méthode du score de Wilson a été utilisée.

Tableau 5. Étude de précision intra-laboratoire — Précision globale

Catégorie de pool	Nombre d'évaluations	Mode des résultats du CINtec PLUS Cytology Kit (résultat majoritaire)	Pourcentage de résultats identiques au résultat majoritaire	Intervalle de confiance à 95 %
Lignée cellulaire T24	270	Négatif	100.0 %	(98.6, 100.0)
NILM/HPV-	270	Négatif	94.1 %	(90.7, 97.0)
NILM/HPV+	90	Positif	61.1 %	(47.2, 74.4)
ASC-US/HPV+	90	Positif	93.3 %	(88.9, 97.8)
LSIL/HPV+	90	Positif	100.0 %	(95.9, 100.0)
HSIL/HPV+	270	Positif	98.9 %	(96.7, 100.0)

Tableau 6. Étude de précision intralaboratoire : précision interjours

Catégorie de pool	Nombre d'évaluations	Mode des résultats du CINtec PLUS Cytology Kit (résultat majoritaire)	Pourcentage de résultats identiques au résultat majoritaire				
			Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 5
Lignée cellulaire T24	270	Négatif	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM/HPV-	270	Négatif	88.9 %	90.7 %	98.1 %	98.1 %	94.4 %
NILM/HPV+	90	Positif	44.4 %	50.0 %	77.8 %	66.7 %	66.7 %
ASC-US/HPV+	90	Positif	94.4 %	88.9 %	88.9 %	94.4 %	100.0 %
LSIL/HPV+	90	Positif	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %
HSIL/HPV+	270	Positif	100.0 %	94.4 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %

Tableau 7. Étude de précision intralaboratoire : précision interlots

Catégorie de pool	Nombre d'évaluations	Mode des résultats du CINtec PLUS Cytology Kit (résultat majoritaire)	Pourcentage de résultats identiques au résultat majoritaire		
			Lot 1	Lot 2	Lot 3
Lignée cellulaire T24	270	Négatif	100.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM/HPV-	270	Négatif	92.2 %	93.3 %	96.7 %
NILM/HPV+	90	Positif	46.7 %	70.0 %	66.7 %
ASC-US/HPV+	90	Positif	90.0 %	96.7 %	93.3 %
LSIL/HPV+	90	Positif	100.0 %	100.0 %	100.0 %
HSIL/HPV+	270	Positif	100.0 %	100.0 %	96.7 %

Précision du lecteur

Pour évaluer la précision des lecteurs, trois équipes de lecteurs, toutes composées d'un cytopathologiste et d'un anatomopathologiste, ont évalué toutes les lames colorées pour les études de précision, à raison de deux lames par pool des 12 pools d'échantillons cytologiques cervicaux testés (trois pools de HSIL/HPV+, un pool de LSIL/HPV+, un pool d'ASC-US/HPV+, un pool de NILM/HPV+, trois pools de NILM/HPV- LBC et trois pools d'une lignée cellulaire T24 négative) colorées avec trois lots de CINtec PLUS Cytology Kit lors de cinq jours non consécutifs. Le pourcentage de résultats identiques au résultat majoritaire a été calculé à partir des résultats agrégés entre les équipes de lecteurs et est résumé dans le Tableau 8.

Tableau 8. Étude de précision intralaboratoire : précision interlecteurs

Catégorie de pool	Nombre d'évaluations	Mode des résultats du CINtec PLUS Cytology Kit (résultat majoritaire)	Pourcentage de résultats identiques au résultat majoritaire		
			Équipe de lecteurs 1	Équipe de lecteurs 2	Équipe de lecteurs 3
Lignée cellulaire T24	270	Négatif	100.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM/HPV-	270	Négatif	95.6 %	91.1 %	95.6 %
NILM/HPV+	90	Positif	70.0 %	63.3 %	50.0 %
ASC-US/HPV+	90	Positif	100.0 %	90.0 %	90.0 %
LSIL/HPV+	90	Positif	100.0 %	100.0 %	100.0 %
HSIL/HPV+	270	Positif	98.9 %	98.9 %	98.9 %

Reproductibilité

Des études de reproductibilité du CINtec PLUS Cytology Kit ont été menées pour déterminer :

- La reproductibilité interlots du CINtec PLUS Cytology Kit (Tableau 9)
- La reproductibilité intracycle (Tableau 10) et intercycles (Tableau 11) sur les appareils BenchMark GX, XT et ULTRA
- La reproductibilité intraplateforme sur les appareils BenchMark GX, XT et ULTRA (Tableau 12)
- La reproductibilité interplateformes entre les appareils BenchMark GX, XT et ULTRA (Tableau 13)

Tableau 9. Reproductibilité interlots du CINtec PLUS Cytology Kit

Type d'échantillon	Taux de concordance globale
ThinPrep	100.0
SurePath	100.0

Tableau 10. Reproductibilité intracycle du CINtec PLUS Cytology Kit

Type d'échantillon	Taux de concordance globale		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	100.0	100.0
SurePath	93.8	96.3	92.6

Tableau 11. Reproductibilité intercycles du CINtec PLUS Cytology Kit

Type d'échantillon	Taux de concordance globale		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	96.2	100.0
SurePath	100.0	92.6	100

Tableau 12. Reproductibilité intraplateforme du CINtec PLUS Cytology Kit

Type d'échantillon	Taux de concordance globale		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	100.0	100.0
SurePath	100.0	100.0	96.3

Tableau 13. Reproductibilité interplateformes du CINtec PLUS Cytology Kit.

Type d'échantillon	Taux de concordance globale
ThinPrep	100.0
SurePath	96.3

Ces études ont été réalisées sur des échantillons cervicaux ThinPrep et SurePath. Tous les résultats des études étaient conformes aux critères d'acceptation prédéterminés.

Études de concordance

Les performances du CINtec PLUS Cytology Kit utilisé sur les appareils BenchMark GX, XT et ULTRA ont été évaluées par comparaison avec celles du CINtec PLUS Kit (dispositif prédiat Roche mtm laboratories AG, Mannheim) qui a précédemment démontré une sensibilité et une spécificité élevées pour la présence de maladies précancéreuses et cancéreuses dans les échantillons de cytologie cervicale en ce qui concerne la présence de cellules épithéliales cervicales individuelles présentant un résultat positif à la double coloration pour p16^{INK4a} et Ki-67^{7-15,18,20,23,25-28}

Des études de concordance ont été réalisées à partir d'échantillons de patientes appartenant à la population d'utilisation prévue et ayant obtenu un résultat de cytologie de frottis cervico-utérin NILM (négatif pour une lésion intraépithéliale ou une tumeur maligne), ASC-US, LSIL et HSIL pour chacune des méthodes individuelles de préparation de la cytologie cervicale : des lames de ThinPrep, de BD SurePath et de frottis conventionnel. Pour les échantillons de LBC, deux lames ont été préparées à partir de chaque échantillon de patiente. Pour les frottis classiques, deux lames ont été préparées à partir d'un échantillon de la même patiente prélevé durant la même consultation en divisant l'échantillon prélevé entre deux lames (« technique de division de l'échantillon »). Une lame a été testée avec le CINtec PLUS Cytology Kit sur un appareil BenchMark IHC/ISH et l'autre lame a été colorée avec le dispositif prédiat.

Algorithme d'évaluation des échantillons LBC :

Chaque lame a été évaluée par deux lecteurs qualifiés. S'ils étaient d'accord sur le résultat, ce résultat était considéré comme le résultat final pour cette lame. S'ils n'étaient pas d'accord sur le résultat, une évaluation supplémentaire était réalisée par un troisième lecteur, et le résultat majoritaire devenait le résultat final pour cette lame.

Algorithme d'évaluation pour les lames de frottis classiques :

Chaque lame a été évaluée par deux lecteurs qualifiés. Si les deux lecteurs qualifiaient la lame de positive, le résultat final de cette lame était positif. S'ils n'étaient pas d'accord sur le résultat, la lame était examinée par un panel de trois lecteurs pour un examen par consensus, et le résultat devenait le résultat final pour cette lame. Si deux lecteurs qualifiaient la lame de négative, la lame était examinée par un troisième lecteur pour confirmer le résultat négatif. Si le troisième lecteur confirmait le résultat négatif, alors le résultat final pour la lame était négatif. Si le troisième lecteur qualifiait la lame de positive, la lame était soumise à un examen du panel par consensus, dont le résultat était le résultat final pour cette lame.

La concordance des résultats des tests est indiquée sous forme de taux de concordance positive (PPA) et de taux de concordance négative (NPA) ± intervalle de confiance (CI) à 95 % entre le CINtec PLUS Cytology Kit à utiliser sur un appareil BenchMark IHC/ISH et le dispositif prédictif.

Tableau 14. Concordance entre les résultats des tests réalisés avec le CINtec PLUS Cytology Kit et le dispositif prédictif sur les préparations de lames de cytologie cervicale ThinPrep.

		Dispositif de prédictif	
		+	-
CINtec PLUS Cytology Kit	+	140	25
	-	17	147
Total		157	172
PPA (n/N) (CI à 95 %) = 140/157 x 100 % = 89.2 % (83.3-93.1 %)			
NPA (n/N) (CI à 95 %) = 147/172 x 100 % = 85.5 % (79.4-90.0 %)			

Tableau 15. Concordance entre les résultats des tests réalisés avec le CINtec PLUS Cytology Kit et le dispositif prédictif sur les préparations de lames de cytologie cervicale SurePath.

		Dispositif de prédictif	
		+	-
CINtec PLUS Cytology Kit	+	56	3
	-	9	108
Total		65	111
PPA (n/N) (CI à 95 %) = 56/65 x 100 % = 86.2 % (75.7-92.5 %)			
NPA (n/N) (CI à 95 %) = 108/111 x 100 % = 97.3 % (92.4-99.1 %)			

Tableau 16. Concordance entre les résultats des tests réalisés avec le CINtec PLUS Cytology Kit et le dispositif prédictif sur les préparations de lames de cytologie cervicale avec frottis classiques.

		Dispositif de prédictif	
		+	-
CINtec PLUS Cytology Kit	+	98	17
	-	20	72
Total		118	89
PPA (n/N) (CI à 95 %) = 98/118 x 100 % = 83.1 % (75.3-88.8 %)			
NPA (n/N) (CI à 95 %) = 72/89 x 100 % = 80.9 % (71.5-87.7 %)			

Étude du Roche Cell Collection Medium

Les performances du Roche Cell Collection Medium (RCCM) par rapport à celles de la solution PreservCyt ont été évaluées par coloration de 616 paires d'échantillons cervicaux (cas) à l'aide du CINtec PLUS Cytology Kit. Pour chaque cas, une lame a été préparée à partir des flacons PC ou RCCM respectifs. Toutes les lames ont été évaluées par une équipe composée d'un cytopathologiste et d'un anatomopathologiste tenus dans l'ignorance de l'identité des lames. Les résultats des tests du CINtec PLUS Cytology Kit

comparant les différents milieux (PC vs RCCM) sont résumés dans le Tableau 17. Les taux de positivité ont été calculés en divisant le nombre de cas positifs par le nombre total de cas appropriés pour chaque milieu. Les résultats indiquent une différence de 2.4 % (1.5, 6.3) entre les deux taux de positivité.

Tableau 17. Équivalence des taux de positivité du CINtec PLUS Cytology Kit pour Roche Cell Collection Medium (RCCM) et PreservCyt (PC).

Résultat du CINtec PLUS Cytology Kit pour RCCM	Résultat du CINtec PLUS Cytology Kit pour PC		
	Positif	Négatif	Total
Positif	170	48	218
Négatif	37	204	241
Total	207	252	459
Taux de positivité de RCCM, n/N (%) :			
218/459 (47.5 %)			
Taux de positivité de PC, n/N (%) :			
207/459 (45.1 %)			
Différence entre les taux de positivité, n/N (%) :			
11/459 (2.4 % ; CI à 95 % : -1.5, 6.3)			

La comparaison entre les résultats du CINtec PLUS Cytology Kit quant à l'adéquation de la cellularité avec le milieu PreservCyt et le milieu Roche Cell Collection Medium est résumée dans le Tableau 18. Les taux de cellularité adéquate ont été calculés en divisant le nombre de cas avec une cellularité adéquate par le nombre total de cas pour chaque milieu. Les résultats indiquent une différence de 3.2 % (-0.0, 6.6) entre les deux taux de cellularité adéquate.

Tableau 18. Comparaison de l'adéquation de la cellularité du CINtec PLUS Cytology Kit pour Roche Cell Collection Medium (RCCM) et PreservCyt (PC).

Adéquation de la cellularité du CINtec PLUS Cytology Kit pour RCCM	Adéquation de la cellularité du CINtec PLUS Cytology Kit pour PC		
	Oui	Non	Total
Oui	468	63	531
Non	43	42	85
Total	511	105	616
Taux d'adéquation de RCCM, n/N (%) :			
531/616 (86.2 %)			
Taux d'adéquation de PC, n/N (%) :			
511/616 (83.0 %)			
Différence entre les taux d'adéquation, n/N (%) :			
20/616 (3.2 % ; CI à 95 % : -0.0, 6.6)			

Étude de reproductibilité interlaboratoires sur la plateforme de coloration BenchMark ULTRA PLUS

Une étude de reproductibilité a été menée pour évaluer le test CINtec PLUS Cytology sur l'appareil BenchMark ULTRA PLUS pour la double détection immunocytochimique de p16INK4a et Ki-67 dans les échantillons de cytologie. L'étude comprenait deux cultures distinctes de cellules T24 et dix échantillons provenant de patients. (deux pools de HSIL/HPV+, deux pools de LSIL/HPV+, deux pools d'ASC-US/HPV+, deux pools de NILM/HPV+ et deux pools de NILM/HPV- LBC). Les cultures de cellules T24 ont été préparées à partir d'une seule banque de cellules. Chacun des trois centres d'étude a reçu des aliquotes de chaque pool d'échantillons, de la culture de cellules T24 et d'un pool de contrôle contenant un volume suffisant pour permettre les tests prévus dans chaque centre. Chacun des cinq jours de coloration, les centres ont préparé une lame de test à partir de chacune des aliquotes fournies par RTD à l'aide d'un processeur de lame ThinPrep 2000 ou d'un ThinPrep 5000. Après la préparation des lames, chaque centre a coloré une série de 13 lames sur un appareil BenchMark ULTRA PLUS. Les 5 jours de coloration n'étaient pas consécutifs et s'évaluaient sur au moins 20 jours. Dans chaque

centre, deux équipes de lecteurs, composées chacune d'un cytopathologiste et d'un anatomopathologiste, ont évalué indépendamment les lames colorées dans leur centre pour la présence ou l'absence de double coloration et ont attribué à la lame un résultat de test de CINtec PLUS Cytology positif, négatif ou non satisfaisant. Les équipes de lecteurs étaient mis en aveugle à toute détermination préalable du statut HPV, du statut de la cytologie de frottis cervico-utérin, des résultats du test CINtec PLUS Cytology ou d'autres informations cliniques.

Les données ont été directement entrées dans une base de données clinique et analysées pour déterminer la reproductibilité du test sur plusieurs centres, plusieurs jours et plusieurs équipes de lecteurs. Les taux d'acceptabilité de cellularité et de la morphologie de tous les cas étaient de 100 % avec tous les appareils. Les résultats sont résumés dans le Tableau 19 et le Tableau 20.

Tableau 19. Étude de reproductibilité interlaboratoires sur l'appareil BenchMark ULTRA PLUS — Reproductibilité intercentres

Catégorie de pool	Nombre d'évaluations	Mode des résultats du CINtec PLUS Cytology (résultat majoritaire)	Pourcentage de résultats identiques au résultat majoritaire		
			Centre A	Centre B	Centre C
Lignée cellulaire T24	60	Négatif	95.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM/HPV-	60	Négatif	100.0 %	95.0 %	100.0 %
NILM/HPV+	60	Positif	90.0 %	80.0 %	95.0 %
ASC-US/HPV+	60	Positif	100.0 %	95.0 %	100.0 %
LSIL/HPV+	60	Positif	100.0 %	95.0 %	100.0 %
HSIL/HPV+	60	Positif	100.0 %	100.0 %	100.0 %

Tableau 20. Étude de reproductibilité interlaboratoires sur l'appareil BenchMark ULTRA PLUS — Précision globale

Catégorie de pool	Mode des résultats du CINtec PLUS Cytology (résultat majoritaire)	Pourcentage de résultats identiques au résultat majoritaire	n/N	Intervalles de confiance à 95 %
Lignée cellulaire T24	Négatif	98.3 %	59/60	(96.7, 100.0)
NILM/HPV-	Négatif	98.3 %	59/60	(96.7, 100.0)
NILM/HPV+	Positif	88.3 %	53/60	(86.7, 90.0)
ASC-US/HPV+	Positif	98.3 %	59/60	(96.7, 100.0)
LSIL/HPV+	Positif	98.3 %	59/60	(96.7, 100.0)
HSIL/HPV+	Positif	100.0 %	60/60	(94.0, 100.0)

Concordance entre l'appareil BenchMark ULTRA PLUS et l'appareil BenchMark ULTRA (échantillons ThinPrep)

Trois laboratoires ont participé à une étude de concordance entre l'appareil BenchMark ULTRA PLUS et l'appareil BenchMark ULTRA. Cette étude a utilisé 220 pools d'échantillons cervicaux ThinPrep LBC dépersonnalisés préparés chez Roche Tissue Diagnostics (RTD) dans les catégories suivantes : 88 pools positifs, 22 pools positifs limites, 22 pools intermédiaires négatifs et 88 pools de culture cellulaire T24 négatifs. Un ensemble de quatre lames de chaque échantillon a été préparé à RTD en utilisant le processeur de lames ThinPrep 2000 ou ThinPrep 5000. La première lame préparée de chaque série a été colorée sur un appareil BenchMark ULTRA à RTD. Une des trois lames restantes a été fournie à chaque centre d'étude pour une coloration avec le test CINtec PLUS Cytology sur l'appareil BenchMark ULTRA PLUS. La lame de BenchMark

ULTRA colorée à RTD a été évaluée pour la présence ou l'absence de double coloration et s'est vue attribuer un résultat positif, négatif ou non satisfaisant par une équipe de lecteurs RTD, composée d'un cytopathologiste et d'un anatomopathologiste, afin d'établir un score de référence. Dans chaque centre, une équipe de lecteurs de l'étude a évalué indépendamment les lames colorées sur l'appareil BenchMark ULTRA pour un résultat du test CINtec PLUS Cytology. Les lames colorées sur l'appareil BenchMark ULTRA PLUS dans chaque centre ont été évaluées par l'équipe de lecteurs de ce centre pour un résultat du test CINtec PLUS Cytology. Par conséquent, chaque équipe de lecteurs du centre a évalué une lame colorée BenchMark ULTRA et une lame colorée BenchMark ULTRA PLUS pour chaque échantillon. Les lectures des lames colorées BenchMark ULTRA et BenchMark ULTRA PLUS ont été séparées par une période de lavage de deux semaines. Toutes les équipes de lecteurs étaient mis en aveugle à toute détermination préalable du statut HPV, du statut de la cytologie de frottis cervico-utérin, des résultats du test CINtec PLUS Cytology ou d'autres informations cliniques.

L'équivalence de performance du test CINtec PLUS Cytology a été considérée comme acceptable sur l'appareil BenchMark ULTRA PLUS si les taux PPA et NPA avaient une borne inférieure d'intervalle de confiance bilatéral à 95 % d'au moins 85 %. Le taux d'acceptabilité du fond et de la cellularité des lames de test colorées avec CINtec PLUS Cytology sur l'appareil BenchMark ULTRA PLUS devait être acceptable sur ≥ 90 % de toutes les lames de test pour que l'étude soit réussie. Les taux d'acceptabilité pour le bruit de fond et la cellularité sur toutes les lames testées étaient respectivement de 99.7 % et 99.4 %. Le Tableau 21 ci-dessous résume le taux de concordance du statut de CINtec PLUS Cytology entre les appareils BenchMark ULTRA et BenchMark ULTRA PLUS.

Tableau 21. Étude de concordance entre les appareils BenchMark ULTRA et BenchMark ULTRA PLUS — Concordance globale sur le statut de CINtec PLUS Cytology entre les plateformes (ThinPrep)

Statut du CINtec PLUS Cytology	BenchMark ULTRA			totale		
	Positif	Négatif	Total	Taux	% (n/N)	bilatéral
Positif	314	13	327	PPA	95.7 (314/328)	(92.8, 98.1)
Négatif	14	317	331	NPA	96.1 (317/330)	(93.5, 98.1)
Total	328	330	658	OPA	95.9 (631/658)	(94.1, 97.4)

Remarque : Les taux de concordance groupés regroupent tous les échantillons et toutes les équipes de lecteurs pour ULTRA PLUS.

Remarque : PPA = taux de concordance positive, NPA = taux de concordance négative, OPA = taux de concordance globale

Étude de reproductibilité intralaboratoire sur la plateforme de coloration BenchMark ULTRA PLUS

Une étude de reproductibilité intralaboratoire a été menée pour évaluer la répétabilité intracycle, la précision intermédiaire interjournalière et la précision intermédiaire entre deux appareils du test CINtec PLUS Cytology dans des échantillons SurePath. L'étude comprenait deux cultures distinctes de cellules T24 et neuf pools d'échantillons SurePath provenant de patients (trois CINtec positifs/HPV+, trois limites et trois CINtec négatifs/HPV-). Les lames de test ont été préparées sur l'appareil de préparation des lames BD Totalys lors de chacun des cinq jours de coloration, qui n'étaient pas consécutifs et s'étendaient sur au moins 20 jours. Trois appareils BenchMark ULTRA PLUS ont été utilisés pour évaluer la reproductibilité interappareils. Les lames de test ont été évaluées par une équipe de lecteurs composée d'un cytopathologiste et d'un anatomopathologiste formés pour évaluer le CINtec PLUS Cytology. La concordance des lames de test a été déterminée en comparant le statut de CINtec PLUS Cytology des lames de test au Mode niveau du pool (PLM, Pool-Level Mode), qui est défini comme le résultat de statut le plus fréquent parmi toutes les évaluations d'un pool regroupant les données de tous les appareils, de tous les jours et de toutes les répliques de ce pool. Les taux d'acceptabilité du bruit de fond et de la cellularité pour toutes les lames de test étaient respectivement de 99.4 % et 99.7 %. Les résultats sont résumés dans le Tableau 22, le Tableau 23, le Tableau 24 et le Tableau 25.

Tableau 22. Étude de précision intralaboratoire — Précision globale des échantillons SurePath vrais positifs et vrais négatifs

Statut du CINtec PLUS	Statut modal au niveau du pool			totale		
	Positif	Négatif	Total	Mesure	% (n/N)	bilatéral
Positif	89	0	89	PPA	100.0 (89/89)	(95.9, 100.0)
Négatif	0	90	90	NPA	100.0 (90/90)	(95.9, 100.0)
Total	89	90	179	OPA	100.0 (179/179)	(97.9, 100.0)

Tableau 23. Étude de précision intralaboratoire — Précision intermédiaire interjournalière

Jour	Même résultat avec le PLM, n (%)	Résultat différent de PLM, n (%)	Total, n (%)
Jour 1	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
Jour 2	35 (100.0)	0 (0.0)	35 (100.0)
Jour 3	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
Jour 4	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
Jour 5	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)

Tableau 24. Étude de précision intralaboratoire — Répétabilité intracycle

Réplikat	Même résultat avec le PLM, n (%)	Résultat différent de PLM, n (%)	Total, n (%)
Réplikat 1	90 (100.0)	0 (0.0)	90 (100.0)
Réplikat 2	89 (100.0)	0 (0.0)	89 (100.0)

Tableau 25. Étude de précision intralaboratoire — Précision intermédiaire interappareils

Appareil	Même résultat avec le PLM, n (%)	Résultat différent de PLM, n (%)	Total, n (%)
Appareil 1	60 (100.0)	0 (0.0)	60 (100.0)
Appareil 2	60 (100.0)	0 (0.0)	60 (100.0)
Appareil 3	59 (100.0)	0 (0.0)	59 (100.0)

Concordance entre les plateformes de coloration BenchMark ULTRA PLUS et BenchMark ULTRA (échantillons SurePath)

Une étude de concordance interne a été menée afin de vérifier l'équivalence des performances de coloration du kit CINtec PLUS Cytology entre les plateformes de coloration BenchMark ULTRA et ULTRA PLUS sur les échantillons SurePath. L'étude a porté sur 88 cultures de lignées cellulaires de T24 vraies positives, 26 à la limite du positif, 26 négatives intermédiaires et 88 vraies négatives. Deux lames de test ont été préparées à partir de chaque échantillon sur l'appareil de préparation des lames BD Totalys, qui ont ensuite été colorées avec CINtec PLUS Cytology sur le BenchMark ULTRA ou le BenchMark ULTRA PLUS. Les lames de test ont été évaluées par une équipe de lecteurs composée d'un cytopathologiste et d'un anatomopathologiste formés pour évaluer le CINtec PLUS Cytology. L'équivalence de performance du test CINtec PLUS Cytology a été considérée comme acceptable sur l'appareil BenchMark ULTRA PLUS si les taux PPA

et NPA avaient une borne inférieure d'intervalle de confiance bilatéral à 95 % d'au moins 85 %. Le taux d'acceptabilité du fond et de la cellularité des lames de test colorées avec CINtec PLUS Cytology sur l'appareil BenchMark ULTRA PLUS devait être acceptable sur $\geq 90\%$ de toutes les lames de test pour que l'étude soit réussie. Les taux d'acceptabilité du bruit de fond et de la cellularité pour toutes les lames de test étaient respectivement de 99.6 % et 99.1 %. Les résultats sont résumés dans le Tableau 26 ci-dessous.

Tableau 26. Étude de concordance entre les appareils BenchMark ULTRA et BenchMark ULTRA PLUS (SurePath)

Statut ULTRA PLUS	Statut ULTRA			totale		
	Positif	Négatif	Total	Mesure	% (n/N)	bilatéral
Positif	94	2	96	PPA	92.2 (94/102)	(85.3, 96.0)
Négatif	8	119	127	NPA	98.3 (119/121)	(94.2, 99.5)
Total	102	121	223	OPA	95.5 (213/223)	(91.9, 97.5)

PERFORMANCES CLINIQUES

Un essai prospectif multicentrique (IMPACT, Improved Primary screening And Colposcopy Triage) a été conçu pour évaluer les performances cliniques du CINtec PLUS Cytology Kit sur l'appareil BenchMark ULTRA, à partir d'échantillons cervicaux prélevés cliniquement dans la solution PreservCyt®, pour l'identification des maladies cervicales de haut grade. Cette étude avait pour but d'évaluer les performances du CINtec PLUS Cytology Kit comme test réflexe chez les femmes ≥ 25 ans positives au HPV par le cobas® 4800 HPV Test ou le cobas® 6800/8800 HPV Test. Les données de cette étude soutiennent l'utilisation de CINtec PLUS Cytology Kit comme aide à l'identification des femmes présentant des lésions intraépithéliales cervicales de haut grade chez les patientes dont le test HPV à haut risque est positif.

Caractéristiques de performances du CINtec PLUS Cytology Kit et de la cytologie de frottis cervico-utérin pour les femmes âgées de 25 à 65 ans avec le cobas® 6800/8800 HPV Test ou le cobas® 4800 HPV Test, résultats positifs

Les performances comparées du CINtec PLUS Cytology Kit et de la cytologie de frottis cervico-utérin chez les femmes ayant des résultats positifs aux cobas® 6800/8800 HPV Test et cobas® 4800 HPV Test sont présentées dans les tableaux suivants pour la population des 12 autres souches d'HPV+ à haut risque (Tableau 27), populations d'HPV16+ (Tableau 28) et population d'HPV18+ (Tableau 29). Dans les trois groupes de génotypes, une augmentation de la sensibilité et une diminution de la spécificité pour la détection des maladies cervicales de haut grade ont été observées pour CINtec PLUS Cytology Kit par rapport à la cytologie de frottis cervico-utérin (Tableau 27, Tableau 28 et Tableau 29).

Tant parmi les femmes avec des résultats positifs aux cobas® 6800/8800 HPV Test et cobas® 4800 HPV Test, l'augmentation maximale de la sensibilité (différence = 23.1 % et 24.2 %, respectivement) et la diminution minimale de la spécificité (différence = 7.9 % et 8.7 %, respectivement) par rapport à la cytologie de frottis cervico-utérins ont été observées dans les populations des 12 autres souches d'HPV+ à haut risque (Tableau 27).

Dans tous les cas, l'utilisation du CINtec PLUS Cytology Kit a entraîné une réduction substantielle du risque de maladie pour les résultats du CINtec PLUS Cytology Kit négatifs par rapport à la cytologie de frottis cervico-utérin NILM. Parmi les femmes ayant des résultats positifs au cobas® 6800/8800 HPV Test, le 1-NPV était inférieur de 3.7 %, 6.1 % et 1.2 % pour \geq CIN2 et de 0.9 %, 3.3 % et 0.3 % pour \geq CIN3 dans les populations des 12 autres souches d'HPV+ à haut risque, HPV16+ et HPV18+, respectivement. Parmi les femmes ayant des résultats positifs au cobas® 4800 HPV Test, le 1-NPV était inférieur de 3.4 %, 9.1 % et 3.3 % pour \geq CIN2 et de 0.8 %, 5.1 % et 0.5 % pour \geq CIN3 dans les 12 autres populations HR HPV+, HPV16+ et HPV18+, respectivement.

Tableau 27. Performances du CINtec PLUS Cytology Kit par rapport à la cytologie de frottis cervico-utérin pour l'une des 12 autres souches d'HPV+ à haut risque chez les femmes de 25 à 65 ans.

cobas® 6800/8800 system, + pour l'une des 12 autres souches d'HPV à haut risque			
Performances Mesure	Diagnostic CPR de ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Cytologie de frottis cervico-utérin	Différence
Sensibilité (%)	83.0 (254/306) (78.4, 86.8)	58.8 (180/306) (53.2, 64.2)	24.2 (18.3, 29.9)
Spécificité (%)	56.8 (1373/2416) (54.8, 58.8)	65.5 (1583/2416) (63.6, 67.4)	-8.7 (-10.9, -6.4)
VPP (%)	19.6 (254/1297) (18.5, 20.6)	17.8 (180/1013) (16.2, 19.3)	1.8 (0.0, 3.3)
1-VPN (%)	3.6 (52/1425) (2.9, 4.6)	7.4 (126/1709) (6.5, 8.3)	-3.7 (-4.5, -2.4)
Prévalence (%)	11.2 (306/2722)		
Performances Mesure	Diagnostic CPR de ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Cytologie de frottis cervico-utérin	Différence
Sensibilité (%)	86.0 (80/93) (77.5, 91.6)	66.7 (62/93) (56.6, 75.4)	19.4 (10.0, 28.7)
Spécificité (%)	53.7 (1412/2629) (51.8, 55.6)	63.8 (1678/2629) (62.0, 65.6)	-10.1 (-12.3, -8.0)
VPP (%)	6.2 (80/1297) (5.6, 6.6)	6.1 (62/1013) (5.2, 6.9)	0.0 (-0.8, 0.8)
1-VPN (%)	0.9 (13/1425) (0.5, 1.5)	1.8 (31/1709) (1.3, 2.4)	-0.9 (-1.4, -0.3)
Prévalence (%)	3.4 (93/2722)		
cobas® 4800 system, + pour l'une des 12 autres souches d'HPV à haut risque			
Performances Mesure	Diagnostic CPR de ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Cytologie de frottis cervico-utérin	Différence
Sensibilité (%)	82.1 (256/312) (77.4, 85.9)	59.0 (184/312) (53.4, 64.3)	23.1 (17.3, 28.7)
Spécificité (%)	58.6 (1520/2594) (56.7, 60.5)	66.5 (1726/2594) (64.7, 68.3)	-7.9 (-10.1, -5.8)
VPP (%)	19.2 (256/1330) (18.1, 20.3)	17.5 (184/1052) (15.9, 19.0)	1.8 (0.2, 3.3)
1-VPN (%)	3.6 (56/1576) (2.8, 4.4)	6.9 (128/1854) (6.0, 7.8)	-3.4 (-4.4, -2.3)
Prévalence (%)	10.7 (312/2906)		
Performances Mesure	Diagnostic CPR de ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Cytologie de frottis cervico-utérin	Différence
Sensibilité (%)	86.2 (81/94) (77.8, 91.7)	67.0 (63/94) (57.0, 75.7)	19.1 (9.8, 28.4)
Spécificité (%)	55.6 (1563/2812) (53.7, 57.4)	64.8 (1823/2812) (63.0, 66.6)	-9.2 (-11.3, -7.2)
VPP (%)	6.1 (81/1330) (5.5, 6.5)	6.0 (63/1052) (5.1, 6.8)	0.1 (-0.7, 0.9)
1-VPN (%)	0.8 (13/1576) (0.5, 1.3)	1.7 (31/1854) (1.2, 2.2)	-0.8 (-1.3, -0.3)
Prévalence (%)	3.2 (94/2906)		
Remarque : CPR = examen de pathologie centrale ; VPP = valeur prédictive positive ; VPN = valeur prédictive négative ; les chiffres entre parenthèses sont (n/N) et les intervalles de confiance bilatéraux à 95 %.			

Tableau 28. Performances du CINtec PLUS Cytology Kit par rapport à la cytologie de frottis cervico-utérin chez les femmes de 25 à -65 ans HPV16+.

cobas® 6800/8800 system, HPV16+			
Performances Mesure	Diagnostic CPR de ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Cytologie de frottis cervico-utérin	Différence
Sensibilité (%)	92.6 (176/190) (88.0, 95.6)	75.8 (144/190) (69.2, 81.3)	16.8 (10.7, 23.2)
Spécificité (%)	57.2 (349/610) (53.3, 61.1)	68.5 (418/610) (64.7, 72.1)	-11.3 (-15.4, -7.2)
VPP (%)	40.3 (176/437) (37.9, 42.7)	42.9 (144/336) (39.4, 46.3)	-2.6 (-5.7, 0.8)
1-VPN (%)	3.9 (14/363) (2.3, 6.2)	9.9 (46/464) (7.8, 12.3)	-6.1 (-7.1, -2.6)
Prévalence (%)	23.8 (190/800)		
Performances Mesure	Diagnostic CPR de ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Cytologie de frottis cervico-utérin	Différence
Sensibilité (%)	92.5 (111/120) (86.4, 96.0)	77.5 (93/120) (69.2, 84.1)	15.0 (7.7, 22.8)
Spécificité (%)	52.1 (354/680) (48.3, 55.8)	64.3 (437/680) (60.6, 67.8)	-12.2 (-16.0, -8.3)
VPP (%)	25.4 (111/437) (23.6, 27.2)	27.7 (93/336) (24.8, 30.5)	-2.3 (-4.7, 0.3)
1-VPN (%)	2.5 (9/363) (1.3, 4.4)	5.8 (27/464) (4.2, 7.8)	-3.3 (-4.7, -1.1)
Prévalence (%)	15.0 (120/800)		
cobas® 4800 system, HPV16+			
Performances Mesure	Diagnostic CPR de ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Cytologie de frottis cervico-utérin	Différence
Sensibilité (%)	93.6 (176/188) (89.2, 96.3)	76.6 (144/188) (70.0, 82.1)	17.0 (10.9, 23.5)
Spécificité (%)	44.8 (182/406) (40.1, 49.7)	60.1 (244/406) (55.3, 64.7)	-15.3 (-20.6, -9.8)
VPP (%)	44.0 (176/400) (41.7, 46.4)	47.1 (144/306) (43.5, 50.6)	-3.1 (-6.6, 0.5)
1-VPN (%)	6.2 (12/194) (3.6, 10.2)	15.3 (44/288) (12.0, 19.0)	-9.1 (-13.4, -4.8)
Prévalence (%)	31.6 (188/594)		
Performances Mesure	Diagnostic CPR de ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Cytologie de frottis cervico-utérin	Différence
Sensibilité (%)	94.0 (110/117) (88.2, 97.1)	78.6 (92/117) (70.4, 85.1)	15.4 (7.9, 23.4)
Spécificité (%)	39.2 (187/477) (34.9, 43.7)	55.1 (263/477) (50.6, 59.5)	-15.9 (-20.7, -11.0)
VPP (%)	27.5 (110/400) (25.7, 29.2)	30.1 (92/306) (27.1, 32.9)	-2.6 (-5.4, 0.2)
1-VPN (%)	3.6 (7/194) (1.8, 7.0)	8.7 (25/288) (6.2, 11.8)	-5.1 (-8.3, -1.7)
Prévalence (%)	19.7 (117/594)		
Remarque : CPR = examen de pathologie centrale ; VPP = valeur prédictive positive ; VPN = valeur prédictive négative ; les chiffres entre parenthèses sont (n/N) et les intervalles de confiance bilatéraux à 95 %.			

Tableau 29. Performances du CINtec PLUS Cytology Kit par rapport à la cytologie de frottis cervico-utérin chez les femmes de 25 à 65 ans HPV18+.

cobas® 6800/8800 system, HPV18+			
Performances Mesure	Diagnostic CPR de ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Cytologie de frottis cervico-utérin	Différence
Sensibilité (%)	83.8 (31/37) (68.9, 92.3)	73.0 (27/37) (57.0, 84.6)	10.8 (-6.7, 27.8)
Spécificité (%)	62.7 (205/327) (57.3, 67.8)	73.1 (239/327) (68.0, 77.6)	-10.4 (-16.1, -4.6)
VPP (%)	20.3 (31/153) (16.8, 23.4)	23.5 (27/115) (18.6, 28.2)	-3.2 (-8.2, 1.8)
1-VPN (%)	2.8 (6/211) (1.4, 5.4)	4.0 (10/249) (2.3, 6.3)	-1.2 (-3.6, 1.3)
Prévalence (%)	10.2 (37/364)		
Performances Mesure	Diagnostic CPR de ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Cytologie de frottis cervico-utérin	Différence
Sensibilité (%)	87.5 (14/16) (64.0, 96.5)	81.3 (13/16) (57.0, 93.4)	6.3 (-19.6, 31.6)
Spécificité (%)	60.1 (209/348) (54.8, 65.1)	70.7 (246/348) (65.7, 75.2)	-10.6 (-16.1, -5.0)
VPP (%)	9.2 (14/153) (6.7, 10.8)	11.3 (13/115) (8.0, 13.9)	-2.2 (-5.2, 0.8)
1-VPN (%)	0.9 (2/211) (0.3, 2.7)	1.2 (3/249) (0.4, 2.7)	-0.3 (-1.7, 1.1)
Prévalence (%)	4.4 (16/364)		
cobas® 4800 system, HPV18+			
Performances Mesure	Diagnostic CPR de ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Cytologie de frottis cervico-utérin	Différence
Sensibilité (%)	87.5 (28/32) (71.9, 95.0)	71.9 (23/32) (54.6, 84.4)	15.6 (-3.6, 33.9)
Spécificité (%)	53.4 (102/191) (46.3, 60.3)	62.3 (119/191) (55.3, 68.9)	-8.9 (-16.6, -1.0)
VPP (%)	23.9 (28/117) (19.9, 27.6)	24.2 (23/95) (18.8, 29.3)	-0.3 (-5.8, 5.3)
1-VPN (%)	3.8 (4/106) (1.5, 8.2)	7.0 (9/128) (4.0, 11.0)	-3.3 (-8.1, 1.3)
Prévalence (%)	14.3 (32/223)		
Performances Mesure	Diagnostic CPR de ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Cytologie de frottis cervico-utérin	Différence
Sensibilité (%)	86.7 (13/15) (62.1, 96.3)	80.0 (12/15) (54.8, 93.0)	6.7 (-20.5, 33.2)
Spécificité (%)	50.0 (104/208) (43.3, 56.7)	60.1 (125/208) (53.3, 66.5)	-10.1 (-17.5, -2.5)
VPP (%)	11.1 (13/117) (8.1, 13.2)	12.6 (12/95) (8.8, 15.6)	-1.5 (-5.1, 2.0)
1-VPN (%)	1.9 (2/106) (0.5, 5.2)	2.3 (3/128) (0.8, 5.2)	-0.5 (-3.4, 2.3)
Prévalence (%)	6.7 (15/223)		
Remarque : CPR = examen de pathologie centrale ; VPP = valeur prédictive positive ; VPN = valeur prédictive négative ; les chiffres entre parenthèses sont (n/N) et les intervalles de confiance bilatéraux à 95 %.			

Caractéristiques de performances dans la population de femmes de 30 à 65 ans avec des résultats positifs au cobas® 6800/8800 HPV Test ou cobas® 4800 HPV Test et des résultats NILM de cytologie de frottis cervico-utérin

Les performances du CINtec PLUS Cytology Kit pour la détection des ≥ CIN2 et des ≥ CIN3 chez les femmes ayant des résultats positifs pour l'une des 12 autres souches d'HPV+ à haut risque ayant un résultat NILM de cytologie de frottis cervico-utérin sont présentées dans le Tableau 30.

Dans la population de femmes l'une des 12 autres souches d'HPV+ à haut risque avec le cobas® 6800/8800 system ayant un résultat NILM de cytologie de frottis cervico-utérin, la sensibilité et la spécificité pour la détection de ≥ CIN2 étaient de respectivement 66.7 % et 69.7 % (62.5 % et 67.8 % pour ≥ CIN3). Les VPP dans ce groupe étaient de respectivement 13.0 % et 2.6 % pour les ≥ CIN2 et pour les ≥ CIN3, tandis que le risque de maladie chez les femmes ayant des résultats négatifs avec le CINtec PLUS Cytology Kit (1-VPN) était de 3.1 % pour ≥ CIN2 et de 0.8 % pour ≥ CIN3.

Dans la population de femmes l'une des 12 autres souches d'HPV+ à haut risque avec le cobas® 4800 system ayant un résultat NILM de cytologie de frottis cervico-utérin, la sensibilité et la spécificité pour la détection de ≥ CIN2 étaient de respectivement 64.9 % et 71.0 % (66.7 % et 69.4 % pour ≥ CIN3). Les VPP dans ce groupe étaient de respectivement 12.0 % et 2.5 % pour les ≥ CIN2 et pour les ≥ CIN3, tandis que le risque de maladie chez les femmes ayant des résultats négatifs avec le CINtec PLUS Cytology Kit (1-VPN) était de 2.9 % pour ≥ CIN2 et de 0.6 % pour ≥ CIN3.

Tableau 30. Performances du CINtec PLUS Cytology Kit pour l'une des 12 autres souches d'HPV+ à haut risque chez les femmes de 30 à 65 ans avec cytologie NILM.

Mesure des performances	cobas® 6800/8800 system, + pour l'une des 12 autres souches d'HPV à haut risque/NILM		cobas® 4800 system, + pour l'une des 12 autres souches d'HPV à haut risque/NILM	
	Diagnostic CPR de ≥ CIN2	Diagnostic CPR de ≥ CIN3	Diagnostic CPR de ≥ CIN2	Diagnostic CPR de ≥ CIN3
Sensibilité (%)	66.7 (50/75) (55.4, 76.3)	62.5 (10/16) (38.6, 81.5)	64.9 (48/74) (53.5, 74.8)	66.7 (10/15) (41.7, 84.8)
Spécificité (%)	69.7 (772/1108) (66.9, 72.3)	67.8 (791/1167) (65.0, 70.4)	71.0 (864/1217) (68.4, 73.5)	69.4 (885/1276) (66.8, 71.8)
Prévalence (%)	6.3 (75/1183)	1.4 (16/1183)	5.7 (74/1291)	1.2 (15/1291)
VPP (%)	13.0 (50/386) (10.8, 14.9)	2.6 (10/386) (1.6, 3.4)	12.0 (48/401) (9.9, 13.9)	2.5 (10/401) (1.6, 3.2)
VPN (%)	96.9 (772/797) (95.8, 97.8)	99.2 (791/797) (98.8, 99.6)	97.1 (864/890) (96.2, 97.9)	99.4 (885/890) (99.0, 99.7)
1-VPN (%)	3.1 (25/797) (2.2, 4.2)	0.8 (6/797) (0.4, 1.2)	2.9 (26/890) (2.1, 3.8)	0.6 (5/890) (0.3, 1.0)
RVP	2.20 (1.79, 2.59)	1.94 (1.19, 2.58)	2.24 (1.81, 2.65)	2.18 (1.35, 2.82)
RVN	0.48 (0.34, 0.64)	0.55 (0.27, 0.91)	0.49 (0.35, 0.66)	0.48 (0.22, 0.84)
Taux de positivité (%)	32.6 (386/1183) (30.0, 35.3)		31.1 (401/1291) (28.6, 33.5)	

Remarque : CPR = examen de pathologie centrale ; VPP = valeur prédictive positive ; VPN = valeur prédictive négative ; RVP = rapport de vraisemblance positif ; RVN = rapport de vraisemblance négatif ; les chiffres entre parenthèses sont (n/N) et les intervalles de confiance bilatéraux à 95 %.

Les performances du CINtec PLUS Cytology Kit pour la détection des ≥ CIN2 et des ≥ CIN3 chez les femmes ayant des résultats positifs avec le HPV16+ ayant un résultat NILM de cytologie de frottis cervico-utérin sont présentées dans le Tableau 31.

Dans la population de femmes HPV16+ avec le cobas® 6800/8800 system ayant un résultat NILM de cytologie de frottis cervico-utérin, la sensibilité et la spécificité étaient de respectivement 76.3 et 72.5 % pour les ≥ CIN2 et de 75.0 et 70.5 % pour les ≥ CIN3. Les VPP dans ce groupe étaient de respectivement 23.8 % et 14.8 % pour les ≥ CIN2 et pour les ≥ CIN3, tandis que le risque de maladie chez les femmes ayant des résultats négatifs avec le CINtec PLUS Cytology Kit (1-VPN) était de 3.5 % pour ≥ CIN2 et de 2.4 % pour ≥ CIN3.

Dans la population de femmes HPV16+ avec le cobas® 4800 system ayant un résultat NILM de cytologie de frottis cervico-utérin, la sensibilité et la spécificité étaient de respectivement 80.6 et 61.7 % pour les ≥ CIN2 et de 81.8 et 59.0 % pour les ≥ CIN3. Les VPP dans ce groupe étaient de respectivement 27.9 % et 17.3 % pour les ≥ CIN2 et pour les ≥ CIN3, tandis que le risque de maladie chez les femmes ayant des résultats négatifs avec le CINtec PLUS Cytology Kit (1-VPN) était de 5.5 % pour ≥ CIN2 et de 3.1 % pour ≥ CIN3.

Tableau 31. Performances du CINtec PLUS Cytology Kit chez les femmes de 30 à 65 ans HPV16+ avec cytologie NILM.

Mesure des performances	cobas® 6800/8800 system, HPV16+/NILM		cobas® 4800 system, HPV16+/NILM	
	Diagnostic CPR de ≥ CIN2	Diagnostic CPR de ≥ CIN3	Diagnostic CPR de ≥ CIN2	Diagnostic CPR de ≥ CIN3
Sensibilité (%)	76.3 (29/38) (60.8, 87.0)	75.0 (18/24) (55.1, 88.0)	80.6 (29/36) (65.0, 90.2)	81.8 (18/22) (61.5, 92.7)
Spécificité (%)	72.5 (245/338) (67.5, 77.0)	70.5 (248/352) (65.5, 75.0)	61.7 (121/196) (54.8, 68.3)	59.0 (124/210) (52.3, 65.5)
Prévalence (%)	10.1 (38/376)	6.4 (24/376)	15.5 (36/232)	9.5 (22/232)
VPP (%)	23.8 (29/122) (19.1, 28.2)	14.8 (18/122) (11.0, 18.1)	27.9 (29/104) (22.8, 32.7)	17.3 (18/104) (13.2, 20.8)
VPN (%)	96.5 (245/254) (94.2, 98.0)	97.6 (248/254) (95.8, 98.9)	94.5 (121/128) (90.5, 97.2)	96.9 (124/128) (93.5, 98.7)
1-VPN (%)	3.5 (9/254) (2.0, 5.8)	2.4 (6/254) (1.1, 4.2)	5.5 (7/128) (2.8, 9.5)	3.1 (4/128) (1.3, 6.5)
RVP	2.77 (2.10, 3.49)	2.54 (1.81, 3.24)	2.11 (1.61, 2.64)	2.00 (1.45, 2.50)
RVN	0.33 (0.18, 0.54)	0.35 (0.17, 0.64)	0.31 (0.16, 0.57)	0.31 (0.12, 0.66)
Taux de positivité (%)	32.4 (122/376) (28.0, 36.9)		44.8 (104/232) (38.7, 50.9)	

Remarque : CPR = examen de pathologie centrale ; VPP = valeur prédictive positive ; VPN = valeur prédictive négative ; RVP = rapport de vraisemblance positif ; RVN = rapport de vraisemblance négatif ; les chiffres entre parenthèses sont (n/N) et les intervalles de confiance bilatéraux à 95 %.

Les performances du CINtec PLUS Cytology Kit pour la détection des ≥ CIN2 et des ≥ CIN3 chez les femmes ayant des résultats positifs avec le HPV18+ ayant un résultat NILM de cytologie de frottis cervico-utérin sont présentées dans le Tableau 32.

Dans la population de femmes HPV18+ avec le cobas® 6800/8800 system ayant un résultat NILM de cytologie de frottis cervico-utérin, la sensibilité et la spécificité étaient de respectivement 75.0 et 73.3 % pour les ≥ CIN2 et de 66.7 et 72.1 % pour les ≥ CIN3. Les VPP dans ce groupe étaient de respectivement 9.7 % et 3.2 % pour les ≥ CIN2 et pour les ≥ CIN3, tandis que le risque de maladie chez les femmes ayant des résultats négatifs avec le CINtec PLUS Cytology Kit (1-VPN) était de 1.3 % et 0.6 % pour les ≥ CIN2 et les ≥ CIN3, respectivement.

Dans la population de femmes HPV18+ avec le cobas® 4800 system ayant un résultat NILM de cytologie de frottis cervico-utérin, la sensibilité et la spécificité étaient de respectivement 85.7 et 68.3 % pour les ≥ CIN2 et de 66.7 et 65.7 % pour les ≥ CIN3. Les VPP dans ce groupe étaient de respectivement 15.8 et 5.3 % pour les ≥ CIN2 et pour les ≥ CIN3, tandis que le risque de maladie chez les femmes ayant des résultats négatifs avec le CINtec PLUS Cytology Kit (1-VPN) était de 1.4 % pour les deux seuils de maladie.

Tableau 32. Performances du CINtec PLUS Cytology Kit chez les femmes de 30 à 65 ans HPV18+ avec cytologie NILM.

Mesure des performances	cobas® 6800/8800 system, HPV18+/NILM		cobas® 4800 system, HPV18+/NILM	
	Diagnostic CPR de ≥ CIN2	Diagnostic CPR de ≥ CIN3	Diagnostic CPR de ≥ CIN2	Diagnostic CPR de ≥ CIN3
Sensibilité (%)	75.0 (6/8) (40.9, 92.9)	66.7 (2/3) (20.8, 93.9)	85.7 (6/7) (48.7, 97.4)	66.7 (2/3) (20.8, 93.9)
Spécificité (%)	73.3 (154/210) (67.0, 78.9)	72.1 (155/215) (65.7, 77.7)	68.3 (69/101) (58.7, 76.6)	65.7 (69/105) (56.2, 74.1)
Prévalence (%)	3.7 (8/218)	1.4 (3/218)	6.5 (7/108)	2.8 (3/108)
VPP (%)	9.7 (6/62) (5.4, 13.1)	3.2 (2/62) (1.0, 5.0)	15.8 (6/38) (9.2, 21.1)	5.3 (2/38) (1.7, 8.3)
VPN (%)	98.7 (154/156) (97.0, 99.6)	99.4 (155/156) (98.5, 99.9)	98.6 (69/70) (95.0, 99.7)	98.6 (69/70) (96.6, 99.7)
1-VPN (%)	1.3 (2/156) (0.4, 3.0)	0.6 (1/156) (0.1, 1.5)	1.4 (1/70) (0.3, 5.0)	1.4 (1/70) (0.3, 3.4)
RVP	2.81 (1.49, 3.97)	2.39 (0.73, 3.74)	2.71 (1.46, 3.87)	1.94 (0.59, 3.18)
RVN	0.34 (0.10, 0.81)	0.46 (0.09, 1.11)	0.21 (0.04, 0.76)	0.51 (0.09, 1.24)
Taux de positivité (%)	28.4 (62/218) (22.6, 34.3)		35.2 (38/108) (26.5, 43.8)	

Remarque : CPR = examen de pathologie centrale ; VPP = valeur prédictive positive ; VPV = valeur prédictive négative ; RVP = rapport de vraisemblance positif ; RVN = rapport de vraisemblance négatif ; les chiffres entre parenthèses sont (n/N) et les intervalles de confiance bilatéraux à 95 %.

RESOLUTION DES PROBLEMES

1. Si le distributeur de réactif ne délivre pas de liquide, inspecter la chambre d'amorçage ou le ménisque pour vérifier la présence éventuelle de corps étrangers ou de particules, comme des fibres ou des précipités. Si le distributeur est bloqué, cesser de l'utiliser et contacter un représentant du service client local. Sinon, réamorcer le distributeur en retirant le capuchon de l'embout et en appuyant sur la partie supérieure du distributeur en le pointant au-dessus d'un récipient à déchets.
2. Des cristaux provenant du distributeur de CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate sont parfois observés. Les investigations n'ont révélé aucune interférence de ces cristaux avec l'interprétation des résultats. Si des cristaux sont présents sur les lames, nettoyer l'embout du distributeur et amorcer le distributeur pour s'assurer de l'élimination de toute particule de cristaux. Si la formation de cristaux persiste, arrêter d'utiliser le distributeur et contactez votre représentant du service client local pour le faire remplacer.
3. Si le contrôle positif présente une coloration plus faible que prévu, vérifier que le protocole sélectionné correspond au type d'échantillon analysé ; par exemple, les préparations cytologiques SurePath nécessitent une durée de démasquage cellulaire plus longue que les lames ThinPrep ou les préparations de frottis classiques. En complément, vérifier que le cylindre de tous les distributeurs est exempt de débris.
4. Si le contrôle positif est négatif, vérifier que la lame porte la bonne étiquette code-barres. Si la lame est étiquetée correctement, vérifier que le cylindre des distributeurs est libre de tout débris.
5. Si le bruit de fond est important, diminuer la durée d'incubation dans les protocoles de coloration. En outre, vérifier que la solution consommable Reaction Buffer a été formulée correctement.
6. Si une faible coloration est observée, augmenter les durées d'incubation dans les protocoles de coloration. La durée d'incubation pour le démasquage cellulaire peut aussi être ajustée pour les lames de frottis classiques.
7. Le précipité rouge indiquant l'expression de la protéine Ki-67 est soluble dans l'alcool. Si la coloration Ki-67 est faible ou inexistante, vérifier que l'hématoxyline contenant de l'alcool n'a pas été utilisée et que la procédure de post-traitement

recommandée a été suivie conformément aux instructions de la Procédure après traitement : montage et apposition du couvre-objet.

8. Si l'échantillon se détache de la lame, les lames doivent être vérifiées pour s'assurer que l'échantillon a été préparé correctement conformément à la section Préparation des échantillons et que le type de lame de microscope recommandé a été utilisé.
9. Pour les mesures correctives, consulter la rubrique Procédure de coloration ou le guide d'utilisation de l'appareil, ou contacter un représentant du service client local.
10. Si un bouchon d'échantillon RCCM est égaré ou si le flacon d'échantillon fuit, des bouchons de rechange peuvent être commandés (en vrac, 250/sac, RÉF. 08037230190 ou 8 plateaux de 48/boîte, RÉF. 06913512001).

REFERENCES

1. Kim WY, Sharpless NE. The regulation of INK4/ARF in cancer and aging. *Cell*. 2006 Oct 20;127(2):265-75.
2. Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. *Dis Markers*. 2007;23:315-30.
3. 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(10):2536-2545.
4. Roelens J, Reuschenbach M, von Knebel Doeberitz M, et al. p16^{INK4a} immunocytochemistry versus human papillomavirus testing for triage of women with minor cytologic abnormalities: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Cytopathol*. 2012;120(5):294-307.
5. 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.
6. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol*. 2000;182:311-22.
7. 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 Papanicolaou cytology study. *Cancer Cytopathol*. 2011;119(3):158-66.

8. Petry KU, Schmidt D, Scherbring S, et al. Triage Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. *Gynecol Oncol.* 2011;121(3):505-9.
9. 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):652-6.
10. 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.
11. Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, et al. 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.
12. 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.
13. Uijterwaal MH, Polman NJ, Witte BI, et al. Triage HPV-positive women with normal cytology by p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: baseline and longitudinal data. *Int J Cancer.* 2015;136(10):2361-68.
14. 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.
15. Bergeron C, Ikenberg H, Sideri M, et al. Prospective evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology for managing women with abnormal Papanicolaou cytology: PALMS study results. *Cancer Cytopathol.* 2015. 123(6):373-81.
16. Dona MG, Vocaturo A, Giuliani M, et al. p16/Ki-67 dual staining in cervico-vaginal cytology: Correlation with histology, Human Papillomavirus detection and genotyping in women undergoing colposcopy. *Gynecol Oncol.* 2012;126(2):198-202.
17. Allia E, Ronco G, Coccia A, et al. Interpretation of p16(INK4a) /Ki-67 dual immunostaining for the triage of human papillomavirus-positive women by experts and nonexperts in cervical cytology. *Cancer Cytopathol.* 2015;123(4):212-218.
18. Gustinucci D, Giorgi Rossi P, Cesarini E, et al. Use of cytology, E6/E7 mRNA, and p16^{INK4a}-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.
19. Rossi P, Borghi L, Ferro R, Mencarelli R. A population of 1136 HPV DNA-HR positive women: expression of p16(INK4a)/Ki67 Dual-Stain Cytology and cytological diagnosis. Histological correlations and cytological follow up. *Pathologica.* 2015;107(3-4):185-191.
20. Wright TC Jr, Behrens CM, Ranger-Moore J, et al. Triage HPV-positive women with p16/Ki-67 dual-stained cytology: Results from a sub-study nested into the ATHENA trial. *Gynecol Oncol.* 2017;144:51-56.
21. Clarke MA, Cheung LC, Castle PE, et al. Five-Year Risk of Cervical Precancer Following p16/Ki-67 Dual-Stain Triage of HPV-Positive Women. *JAMA Oncol.* 2019;5(2):181-186.
22. Wentzensen N, Clarke MA, Bremer R, et al. Clinical Evaluation of Human Papillomavirus Screening With p16/Ki-67 Dual Stain Triage in a Large Organized Cervical Cancer Screening Program. *JAMA Intern Med.* 2019;179(7):881-888.
23. 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.
24. Arean-Cuns C, Mercado-Gutierrez M, Paniello-Alastruey I, et al. Dual staining for p16/Ki67 is a more specific test than cytology for triage of HPV-positive women. *Virchows Arch.* 2018;473(5):599-606.
25. Ebisch RMF, van der Horst J, Hermesen M, et al. Evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology as triage test for high-risk human papillomavirus-positive women. *Mod Pathol.* 2017;30(7): 1021-1031.
26. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
27. 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.
28. Nayar R and Wilbur DC, eds. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: Definitions, Criteria, and Explanatory Notes. 3rd ed. 2015, Springer International Publishing: Switzerland.

REMARQUE : Un point est toujours utilisé dans ce document comme séparateur décimal et indique la séparation entre la partie entière et la partie décimale d'un nombre. Aucun séparateur de milliers n'est utilisé.

Le résumé des résultats sur la sécurité et les performances est disponible ici :

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

Symboles

Ventana utilise les symboles et les signes suivants en plus de ceux indiqués dans la norme ISO 15223-1 (pour les USA, voir elabdoc.roche.com/symbols pour de plus amples informations).



Code article international

Rx only

Pour les USA : Attention : La loi fédérale stipule que ce produit peut uniquement être vendu par un médecin ou sur prescription médicale.

HISTORIQUE DES REVISIONS

Rév.	Mises à jour
J	Mise à jour des rubriques Modèle et Étiquetage Ajout de BenchMark ULTRA PLUS.

PROPRIETE INTELLECTUELLE

VENTANA, BENCHMARK, CINTEC et COBAS sont des marques commerciales de Roche. Tous les autres noms de produit et marques commerciales appartiennent à leurs propriétaires respectifs.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

COORDONNEES



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

www.roche.com

