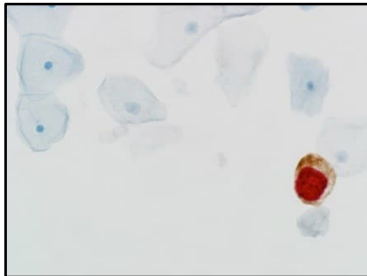


CINtec® PLUS Cytology Kit

REF 605-100
06889565001

IVD 100



Figur 1. Cervikale epitelceller som er positive for p16^{INK4a} (brun cytoplasmisk farging) og for Ki-67 (rød kjernefarging).

TILTENKT BRUK

CINtec PLUS Cytology Kit er en immuncytokjemianalyse til laboratoriebruk for samtidig kvalitativ påvisning av p16^{INK4a}- og Ki-67-proteinene i cervikale cytologipreparater farget på et BenchMark IHC/ISH-instrument. Den er indisert som hjelpemiddel for å identifisere kvinner med høygradige cervikale intraepiteliale lesjoner i en screeningpopulasjon, og i undergruppene av pasienter med Pap-cytologiresultatet ASC-US (atypiske plateepitelceller av usikker betydning) eller LSIL (lavgradig intraepitelial plateepitellesjon) eller hos pasienter

med positive høyrisiko-HPV-testresultater.

Tolkning av testresultatene kan kun gjøres av en sertifisert fagperson vurdert opp mot pasientens sykehistorie og andre diagnostiske tester som er utført.

Produktet er beregnet på in vitro-diagnostisk bruk (IVD).

SAMMENDRAG OG FORKLARING

I eukaryote celler reguleres kontrollen av progresjonen av celledelingscyklusen av et komplekst mønster av kontrollert uttrykk og post-translasjonelle modifikasjoner av cellesyklusregulerende proteiner. p16^{INK4a}-proteinet spiller en stor rolle i denne mekanismen for regulering av syklusen i eukaryote celler. Det er en del av retinoblastomprotein (pRb)-mediert kontroll av G1/S-faseovergangen, og det utløser stans i cellesyklusen i løpet av celledifferensieringsprosesser. Dermed gir p16^{INK4a} en anti-proliferativ effekt under vanlig cellesyklusprogresjon.¹ I terminalt differensierte epitelceller er p16^{INK4a}-uttrykket nedregulert til nivåer som vanligvis ikke kan påvises ved immuncytokjemi (ICC).²

Ved cervikal dysplasi er overuttrykk av p16 ansett som en surrogatbiomarkør for transformerende HPV-infeksjoner, som gjenspeiler aktivering av HPV E6/E7 onkoprotein-drevet celleproliferasjon.^{2,3,4,5} Påvisning av p16 i cervixcytologiske preparater har blitt foreslått som en nyttig tilleggsmarkør for triagering av kvinner med unormale Pap-cytologiresultater og med positive HPV-testresultater.^{3,4,5} Men fordi p16-spesifikk farging kan observeres i enkelte metaplastiske eller endocervikale celler der p16 kan uttrykkes for å utøve fysiologisk, normal, vekstundertrykkende cellulær funksjon, krever tolkningen av p16 enkeltfargede cervixcytologiske preparater identifikasjon av p16 immunreaktive celler og videre klassifisering av disse cellene med hensyn til tegn på morfologiske avvik.^{2,3,4} Den kombinerte samtidige påvisningen av p16 og proliferasjonsmarkøren Ki-67 i samme celle ved hjelp av ICC har vist seg å være et nyttig verktøy for å identifisere dysplastiske cervixceller i cytologipreparater uten behov for morfologisk tolkning.^{3,7,8} Ki-67 er et nukleært og nukleolært protein som er strengt assosiert med celleproliferasjon, og som ikke kan påvises med standard immunfargemetoder i hvilende (G0)-celler.⁶ Under normale fysiologiske forhold er uttrykket av det proliferasjonsassosierte proteinet Ki-67 og uttrykket av det antiproliferative proteinet p16 gjensidig utelukkende. Celler der den retinoblastomprotein-(pRB)-medierte banen som kontrollerer cellesyklusprogresjonen, er opphevet oppstrøms for den tumorundertrykkende funksjonen av p16 (som i epitelceller uttrykker E6/E7-onkoproteiner for høyrisiko HPV), kan derimot proliferere og uttrykke Ki-67 i nærvær av funksjonell p16.^{2,3}

Derfor kan påvisning av individuelle celler i cervixcytologiske preparater som samtidig uttrykker p16 og Ki-67, fungere som en morfologi-uavhengig indikator på celler med cellesyklusdysregulering. Dette samtidige uttrykket av p16 og Ki-67 kan brukes som indikator for forekomst av transformerende HPV-infeksjoner og underliggende cervikal

intraepitelial neoplas.^{2,3} Den senere tiden er det utført og publisert en rekke studier som evaluerer den potensielle verdien og kliniske nytten av p16/Ki-67-dobbeltfarget cytologi for identifisering av kvinner som kan ha nytte av henvisning til kolposkopi basert på forskjellige screeningresultater for primær kreft i livmorhalsen. Disse resultatene inkluderer triagering av kvinner med Pap-cytologiresultater som er Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (ASC-US) (atypiske plateepitelceller av ubestemt betydning) eller Low grade Squamous Intraepithelial Lesion (LSIL) (lavgradig intraepitelial plateepitellesjon), kvinner som er positive for høyrisiko-HPV i primær HPV-screening, eller kvinner som er Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy (NILM) (negative for intraepitelial lesjon eller malignitet) / HPV-positive i kliniske miljøer der Pap-cytologi/HPV ko-testing brukes til primær screening.⁷⁻²⁵

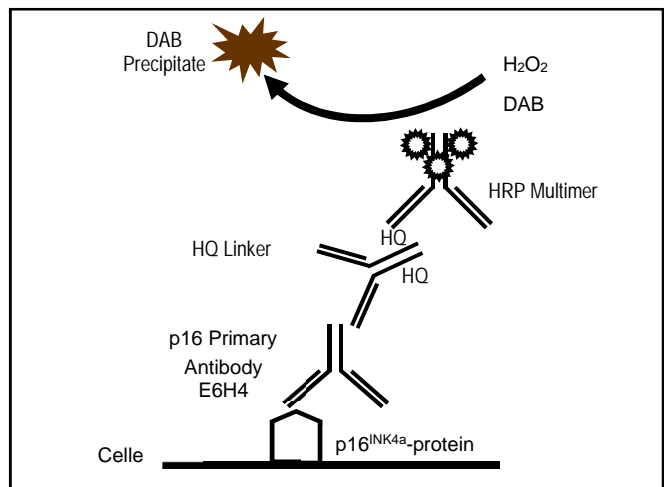
PROSEDYREPRINSIPP

CINtec PLUS Cytology Kit inneholder et sett med reagenser for samtidig immuncytokjemisk påvisning av p16^{INK4a}- og Ki-67-proteinene i cytologiske prøver hentet fra livmorhalsen. Proteinene påvises ved bruk av en bruksklar cocktail av primære monoklonale antistoffer som inneholder et rekombinant monoklonalt antistoff fra mus rettet mot humant p16^{INK4a}-protein (klon E6H4TM) og et primært, rekombinant antistoff fra kanin rettet mot humant Ki-67-protein (klon 274-11AC3V1). Etter cellekondisjonering, hemming av endogen peroksidaseaktivitet og inkubasjon med en cocktail av primært antistoff bruker analysen to bruksklare påvisningssystemer optimalisert for bruk på cervixcytologiprøver:

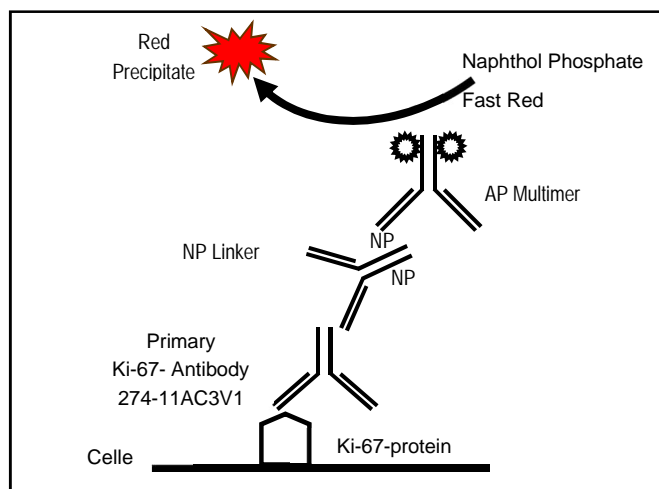
- Et sekundært anti-museantistoff fra geit kovalent bundet til HQ-haptener (egenutviklet haptener) og et anti-HQ-haptener, pepperrotperoksidase (HRP)-konjugert tertiært antistoff optimalisert for påvisningen av den monoklonale antistoffklonen E6H4 fra mus;
- Et sekundært anti-kaninantistoff fra geit kovalent bundet til NP-haptener (egenutviklet haptener) og et anti-NP-haptener, alkalisk fosfatase (AP)-konjugert tertiært antistoff optimalisert for påvisningen av den rekombinante antistoffklonen 274-11AC3V1 fra kanin.

De kromogene reaksjonene er basert på HRP-mediert omdanning av 3,3'-diaminobenzidintetrahydroklorid (DAB) og AP-mediert omdanning av Fast Red med Naphthol Phosphate, noe som gir hhv. et brunt presipitat på p16^{INK4a}-antigenstedet og et rødt presipitat på Ki-67-antigenstedet.

Etter automatisert kontrastfarge og blåning følges en monteringsprosedyre i to trinn. Først monteres objektglasset ved hjelp av et vandig monteringsmedium. Objektglasset påføres deretter dekkglass ved hjelp av et permanent monteringsmedium. Fargingsresultatene evalueres ved lysmikroskopiinspeksjon.



Figur 2. Påvisning av humant p16^{INK4a}-protein.



Figur 3. Påvisning av humant Ki-67-protein.

MEDFØLGENDE MATERIALER

CINtec PLUS Cytology Kit inneholder tilstrekkelig reagens til 100 tester.

- Én 10 mL dispenser CINtec PLUS Cytology Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67) inneholder en cocktail av rekombinant monoklonal antistoffklon E6H4 fra mus rettet mot humant p16^{INK4a}-protein og primær rekombinant antistoffklon 274-11AC3V1 fra kanin rettet mot humant Ki-67-protein (< 5 µg/mL) i en buffer som inneholder protein med ProClin 300-konserveringsmiddel.
- Én 10 mL dispenser CINtec PLUS Cytology Red anti-Rabbit NP Linker inneholder NP-merket anti-kanin-IgG fra geit (< 10 µg/mL; NP er et egenutviklet hapten kovalent bundet til antistoffet fra geit) i en buffer som inneholder protein med ProClin 300-konserveringsmiddel.
- Én 10 mL dispenser CINtec PLUS Cytology Red AP Multimer inneholder et monoklonalt AP-merket anti-NP tertiært antistoff fra mus (< 20 µg/mL) i en buffer som inneholder protein med ProClin 300-konserveringsmiddel.
- Én 10 mL dispenser CINtec PLUS Cytology Red Naphthol Phosphate inneholder Naphthol Phosphate (< 1 %) med ProClin 300-konserveringsmiddel.
- Én 10 mL dispenser CINtec PLUS Cytology Fast Red inneholder Fast Red (< 1 %) i acetatbuffer med ProClin 300-konserveringsmiddel.
- Én 10 mL dispenser CINtec PLUS Cytology DAB Peroxidase Inhibitor inneholder hydrogenperoksidløsning (< 5 %).
- Én 10 mL dispenser CINtec PLUS Cytology DAB anti-Mouse HQ Linker inneholder HQ-merket anti-mus-IgG fra geit (< 40 µg/mL; HQ er et egenutviklet hapten kovalent bundet til antistoffet fra geit) i en buffer som inneholder protein med ProClin 300-konserveringsmiddel.
- Én 10 mL dispenser CINtec PLUS Cytology DAB HRP Multimer inneholder et monoklonalt anti-HQ-merket HRP-tertiært antistoff fra mus (< 10 µg/mL) i en buffer som inneholder protein med ProClin 300-konserveringsmiddel.
- Én 10 mL dispenser CINtec PLUS Cytology DAB inneholder 3,3'-diaminobenzidintetrahydroklorid (< 1 %) i en egenutviklet stabilisatorløsning med et egenutviklet konserveringsmiddel.
- Én 10 mL dispenser CINtec PLUS Cytology DAB H₂O₂ inneholder hydrogenperoksid (< 1 %) i en fosfatbufferløsning.

REKONSTITUSJON, BLANDING, FORTYNNING, TITRERING

CINtec PLUS Cytology Kit er optimalisert for bruk på BenchMark IHC/ISH-instrumenter. Ingen rekonstitusjon, blanding, fortytning eller titrering av kitreagenser er nødvendig.

Avvik fra de anbefalte prosedyrene for fiksering og videre prosessering av de cervikale cytologiske prøvene kan gi vesentlig variabilitet i resultatene og kreve regelmessig gjennomføring av interne kontroller.

Mer informasjon om kontroller finnes i avsnittet Kvalitetskontroll.

MATERIALER SOM ER NØDVENDIGE, MEN SOM IKKE MEDFØLGER

Fargereagenser som VENTANA-deteksjonskit og tilleggskomponenter, herunder objektglass med negativ og positiv vevskontroll, medfølger ikke.

Ikke alle produkter som er oppgitt i metodearket, er tilgjengelige i alle markeder. Kontakt lokal brukerstøtte.

Følgende reagenser og materialer er nødvendige for farging, men følger ikke med deteksjonskitet:

1. Relevante kontroller (valgfri, se avsnittet Kvalitetskontroll)
2. Hematoxylin Counterstain (kat. nr. 760-2021 / 05266726001)
3. Bluing Reagent (kat. nr. 760-2037 / 05266769001)
4. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat. nr. 950-300 / 05353955001)
5. Cell Conditioning Solution (CC1) (kat. nr. 950-124 / 05279801001)
6. Cell Conditioning Solution (CC2) (kat. nr. 950-123 / 05279798001)
7. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (kat. nr. 950-224 / 05424569001)
8. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (kat. nr. 950-223 / 05424542001)
9. LCS (Predilute) (kat. nr. 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (kat. nr. 650-210 / 05424534001)
11. Reagent Grade Ethanol denaturert (renhet ≥ 95 %)
12. BenchMark IHC/ISH-instrument
13. Superfrost Plus-objektglass for mikroskop (Thermo Fisher Scientific) for konvensjonelle utstryk anbefales
14. ThinPrep Arcless mikroskopobjektglass (Hologic REF 70126-002) eller Superfrost Plus mikroskopobjektglass (VWR REF 48311-703)
15. Roche Cell Collection Medium (REF 07994753190)
16. PreservCyt® Solution (Hologic REF 234004)
17. BD SurePath PreCoat-objektglass (inkludert i SurePath GYN-settet)
18. SurePath™ Preservative Fluid (BD REF 490522)
19. CC/Mount vandig monteringsmedium (Roche REF 7342098001; Diagnostic BioSystems P/N: K 002; Sigma-Aldrich P/N: C9368)
20. Valgfritt: Tørkeovn som kan opprettholde en temperatur på 60 °C ± 5 °C
21. Laboratorieutstyr til generelle formål

OPPBEVARING OG STABILITET

Ved mottak, og når det ikke er i bruk, må det oppbevares ved 2–8 °C. Skal ikke fryses. Brukeren må validere alle andre oppbevaringsforhold enn de som er angitt i metodearket. Dette deteksjonskitet kan brukes umiddelbart etter at det er tatt ut av kjøleskapet.

For å sikre korrekt tilførsel av reagenser og stabilitet av reagensene skal dispenserlokket settes på igjen og dispenserens umiddelbart settes i stående posisjon etter hver kjøring.

Hvert deteksjonskit er merket med utløpsdato. Når produktet oppbevares på riktig måte, er det stabilt frem til datoen som står på etiketten. Produktet skal ikke brukes etter utløpsdatoen for den foreskrevne oppbevaringsmetoden. Det er ingen endelige tegn som angir at dette produktet er ustabil, og derfor skal en positiv kontroll kjøres samtidig med ukjente prøver. Kontakt lokal brukerstøtte umiddelbart hvis det er en indikasjon på et ustabil reagens.


ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Til in vitro-diagnostisk bruk (IVD).
2. Kun til profesjonell bruk.
3. Skal ikke brukes utover det spesifiserte antallet tester.
4. Ikke bruk produktet hvis emballasjen på noen av komponentene er skadet. Informer lokal brukerstøtte umiddelbart hvis emballasjen er påvirket eller komponentene er skadet.
5. ProClin 300-løsning brukes som konserveringsmiddel i denne løsningen. Det er klassifisert som irriterende stoff og kan forårsake sensibilisering ved hudkontakt. Ta

- rimelige forholdsregler ved håndtering. Unngå at reagenser kommer i kontakt med øyne, hud og slimhinner. Bruk verneklær og -hansker.
- Materiale som stammer fra mennesker eller dyr, skal håndteres som potensielt biologisk smittefarlig og kastes i henhold til korrekt prosedyre. Dersom en person har vært utsatt for slikt materiale, skal helsedirektivene fra myndighetene følges.^{26,27}
 - Ta rimelige forholdsregler ved håndtering av reagenser. Unngå at reagenser kommer i kontakt med øyne, hud og slimhinner. Unngå innånding av reagenser. Bruk engangshansker og egnede verneklær ved håndtering av mulige kreftfremkallende stoffer eller toksisk materiale.
 - Hvis reagenser kommer i kontakt med sensitive områder, må du skylle med rikelige mengder vann.
 - Unngå mikrobiell kontaminasjon av reagenser, da det kan gi feil resultater.
 - Hvis du vil ha mer informasjon om bruken av denne enheten, kan du se brukerhåndboken for BenchMark IHC/ISH-instrumentet og bruksanvisningen for alle nødvendige komponenter som finnes på navifyportal.roche.com.
 - Rådfør deg med lokale og/eller nasjonale myndigheter når det gjelder anbefalte metoder for avfallshåndtering.
 - Når du håndterer og kaster cytologiske prøver, inkludert alle prøver før og etter fiksering, samt alle materialer som eksponeres for dem, må du overholde sikkerhetsreglene for håndtering av potensielt smittefarlig materiale samt gjeldende krav til avfallshåndtering.
 - Produktsikkerhetsmerking følger primært EU GHS-veiledningen. Sikkerhetsdataark er tilgjengelige for profesjonelle brukere på anmodning.
 - Hvis du trenger å rapportere mistenkte alvorlige hendelser knyttet til denne enheten, kontakter du den lokale Roche-representanten og ansvarlig myndighet i medlemslandet der brukeren holder til.

Dette deteksjonskitet inneholder komponenter som er klassifisert som følger, i samsvar med forordning (EU) nr. 1272/2008:

Tabell 1. Informasjon om farer.

Fare	Kode	Setning
	H317	Kan gi en allergisk hudreaksjon.
	H350	Kan forårsake kreft.
	H412	Skadelig for vannlevende organismer, med langtidsvirkninger.
	P201	Innhent særskilt instruks før bruk.
	P261	Unngå å puste inn tåke eller damp.
	P273	Unngå utslipp til miljøet.
	P280	Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern/hørselvern.
	P308 + P313	Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søk legehjelp.
	P333 + P313	Ved hudirritasjon eller utslett: Søk legehjelp.

Dette produktet inneholder CAS-numrene:

- 868272-85-9: 3,3'-diaminobenzindintetrahydrokloridhydrat
- 2682-20-4: 2-metyl-2H-isotiazol-3-one
- 55965-84-9, reaksjonsmasse av: 5-klor-2-metyl-2H-isotiazol-3-on og 2-metyl-2H-isotiazol-3-one (3:1)

KLARGJØRING AV PRØVEN

Cytologiske prøver må håndteres på en adekvat måte for å konservere prøvene til immuncytokjemiske prosedyrer. Alle prøver bør utsettes for standardmetoder for celleprosessering.

For å unngå tilslørende elementer som blod og slim og for å sikre en prøve som er tilstrekkelig i henhold til Bethesda Guidelines²⁸, bør klinikere følge de anbefalte prøvetakingsteknikkene.

Følgende metoder for objektglassklargjøring er egnet til bruk med CINtec PLUS Cytology Kit:

- ThinPrep (Hologic Inc.)-objektglass klargjort på en ThinPrep 2000 eller 5000 Processor (Hologic Inc.) ved bruk av ThinPrep Arcless Microscope-objektglass eller Superfrost Plus-objektglass i henhold til produsentens anbefaling.
- BD SurePath (BD Diagnostics)-objektglass klargjort i henhold til produsentens anbefalinger.
- Manuelt klargjorte objektglass (objektglass for konvensjonelle utstryk)

Det anbefales å kjøre relevante kontroller samtidig med pasientprøver (mer informasjon finnes i avsnittet Kvalitetskontroll).

Roche Cell Collection Medium-prøveklargjøring

Cytologiske prøver tatt av helsepersonell og resuspendert i Roche Cell Collection Medium (RCCM) beregnet på immuncytokjemisk farging med CINtec PLUS Cytology Kit kan oppbevares ved 15–30 °C i 6 uker etterfulgt av 12 ytterligere uker i kjøleskap ved 2–8 °C. ThinPrep Arcless Microscope-objektglass eller Superfrost Plus-objektglass brukes til klargjøring til immuncytokjemisk farging med CINtec PLUS Cytology Kit på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.

Klargjøring av objektglass fra prøver tatt i Roche Cell Collection Medium ved bruk av ThinPrep 2000 Processor

Objektglass klargjøres fra prøver tatt i Roche Cell Collection Medium ved bruk av ThinPrep 2000 Processor. Når ThinPrep 2000 Processor-sekvensen er ferdig, plasseres det behandlede objektglasset i en fiksativbeholder som inneholder en løsning med $\geq 95\%$ etanol av reagenskvalitet. Fjern beholderen fra fiksativbadholderen på ThinPrep 2000 Processor, og overfør det prosesserte objektglasset fra beholderen til en objektglassbeholder fylt med en $\geq 95\%$ reagensetanolløsning. Inkuber objektglassene i etanol i minst 15 minutter til høyst 60 minutter. Skift etanoløsningen i fiksativbeholderen og objektglassbeholderen etter hvert 20. klargjorte objektglass. Når inkubasjonstiden er fullført, må du fjerne objektglassene fra etanoløsningen og tørke objektglassene horisontalt på et flatt underlag i minst 60 minutter. Tørkede objektglass kan oppbevares ved romtemperatur beskyttet mot lys og må farges med CINtec PLUS Cytology Kit innen 7 dager etter klargjøring.

Klargjøring av objektglass fra prøver tatt i Roche Cell Collection Medium ved bruk av ThinPrep 5000 Processor

Objektglass klargjøres fra prøver tatt i Roche Cell Collection Medium ved bruk av ThinPrep 5000 Processor. Etter at ThinPrep 5000 Processor-sekvensen er ferdig, sitter det prosesserte objektglasset i et objektglasstativ som er senket ned i et fiksativbad med $\geq 95\%$ reagensetanolløsning. Fjern fiksativbadet eller objektglassbeholderen fra ThinPrep 5000 Processor, og inkuber objektglass i ytterligere minst 15 minutter til høyst 60 minutter. Skift etanoløsningen i objektglassbeholderen etter hver kjøring. Når inkubasjonstiden er fullført, må du fjerne objektglassene fra etanoløsningen og tørke objektglassene horisontalt på et flatt underlag i minst 60 minutter. Tørkede objektglass kan oppbevares ved romtemperatur beskyttet mot lys og må farges med CINtec PLUS Cytology Kit innen 7 dager etter klargjøring.

For immuncytokjemisk farging med CINtec PLUS Cytology Kit må du fjerne den originale objektglassetiketten som brukes av ThinPrep 5000 Processor.

Klargjøring av PreservCyt-prøve

Cytologisk prøve i PreservCyt Solution (PC) beregnet på immuncytokjemisk farging med CINtec PLUS Cytology Kit kan oppbevares ved 15–30 °C i 6 uker etterfulgt av 12 ytterligere uker i kjøleskap ved 2–8 °C.

ThinPrep Arcless Microscope-objektglass eller Superfrost Plus-objektglass brukes til klargjøring til immuncytokjemisk farging med CINtec PLUS Cytology Kit på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.

Slide Preparation fra prøver tatt i PreservCyt, med ThinPrep 2000 Processor
Objektglass klargjøres fra cytologiske prøver tatt av helsepersonell og resuspendert i PreservCyt, med ThinPrep 2000 Processor. Når ThinPrep 2000 Processor-sekvensen er ferdig, plasseres det behandlede objektglasset i en fiksativbeholder som inneholder en løsning med $\geq 95\%$ etanol av reagenskvalitet. Fjern beholderen fra fiksativbadholderen på ThinPrep 2000 Processor, og overfør det prosesserte objektglasset fra beholderen til en objektglassbeholder fylt med en $\geq 95\%$ reagensetanolløsning. Inkuber objektglassene i etanol i minst 15 minutter til høyst 60 minutter. Skift etanoløsningen i fiksativbeholderen og objektglassbeholderen etter hvert 20. klargjorte objektglass. Når inkubasjonstiden er fullført, må du fjerne objektglassene fra etanoløsningen og tørke objektglassene horisontalt på et flatt underlag i minst 60 minutter. Tørkede objektglass kan oppbevares

ved 15–30 °C beskyttet mot lys og må farges med CINtec PLUS Cytology Kit innen 7 dager etter klargjøring.

Slide Preparation fra prøver tatt i PreservCyt, med ThinPrep 5000 Processor
Objektglass klargjøres fra cytologiske prøver tatt av helsepersonell og resuspendert i PreservCyt, med ThinPrep 5000 Processor. Etter at ThinPrep 5000 Processor-sekvensen er ferdig, sitter det prosesserte objektglasset i et objektglasstativ som er senket ned i et fiksativbad med ≥ 95 % reagensetanolløsning. Fjern fiksativbadet eller objektglassbeholderen fra ThinPrep 5000 Processor, og inkuber objektglass i ytterligere minst 15 minutter til høyst 60 minutter. Skift etanolløsningen i objektglassbeholderen etter hver kjøring. Når inkubasjonstiden er fullført, må du fjerne objektglassene fra etanolløsningen og tørke objektglassene horisontalt på et flatt underlag i minst 60 minutter. Tørkede objektglass kan oppbevares ved romtemperatur beskyttet mot lys og må farges med CINtec PLUS Cytology Kit innen 7 dager etter klargjøring.

Før immunocytochemisk farging med CINtec PLUS Cytology Kit må du fjerne den originale objektglasetiketten som brukes av ThinPrep 5000 Processor.

Klargjøring av BD SurePath-prøve

Cytologiske prøver tatt av helsepersonell og resuspendert i SurePath Preservative Fluid, beregnet på immunocytochemisk farging med CINtec PLUS Cytology Kit kan oppbevares i opptil 4 uker ved 15–30 °C, eller i 6 måneder i kjøleskap ved 2–10 °C.

BD SurePath Slide Preparation umiddelbart etter prosessering av et Pap-objektglass

Når en anriket cellepellet er opprettet for klargjøring av et objektglass for Pap-farging, kan den brukes umiddelbart til å klargjøre et andre objektglass som skal farges med CINtec PLUS Cytology Kit. Følg produsentens anbefaling for bruk av «Slide Preparation» [alternativ 2] for GYN-prøver på PrepStain™-instrumentet. Resuspensjonsvolumet må endres til 0 mL i menyalternativet «Change Sample/Stain Parameters».

BD SurePath Slide Preparation fra en konserverte cellepellet

Anrikede cellepelleter kan konserveres ved å tilsette ca. 2 mL SurePath Preservative Fluid og kapsle prøverørerne for oppbevaring (mer informasjon finnes i produsentens bruksanvisning). Fra prøvetaksdatoen kan cellepelleter som er resuspendert i flytende konserveringsmiddel, oppbevares i opptil 4 uker ved 15–30 °C, eller i 6 måneder i kjøleskap ved 2–10 °C. For å prosessere et objektglass for CINtec PLUS Cytology Kit må prøven først bringes til romtemperatur i 60 minutter. Start med det andre sentrifugeringsstrinnet i GYN-anrikingsprosessen, og fortsett med resten av forbehandlingsstrinnene som beskrevet i produsentens instruksjoner for reprosessering av konserverte cellepelleter. Følg produsentens anbefaling for bruk av «Slide Preparation» [alternativ 2] for GYN-prøver på PrepStain-instrumentet.

For alle klargjøringsalternativer som er angitt ovenfor, må du fjerne objektglasstativet fra PrepStain-instrumentet straks prøveoverføringstrinnet er fullført. Snu stativet for å dekantere væsken. Pipetter 2 mL av en ≥ 95 % reagensetanolløsning til hvert sedimenteringskammer, og dekanter umiddelbart. Skyll med 2 mL av en ≥ 95 % reagensetanolløsning en andre gang, og inkuber i 10 minutter. Dekanter en andre gang ved å snu stativet. Fjern sedimenteringskamrene fra objektglassene, og la objektglassene tørke horisontalt på et flatt underlag i minst 60 minutter. Tørkede objektglass kan oppbevares ved romtemperatur beskyttet mot lys og må farges med CINtec PLUS Cytology Kit innen 7 dager etter klargjøring.

Bruk av konvensjonelle utstryk

Konvensjonelle utstryk skal fikseres med cytologisk sprayfikseringsreagens som inneholder polyetylenglykol (f.eks. Safetex Cytology Fixative, Andwin Scientific) umiddelbart etter prøvetaking. Sprayfikserte objektglass for konvensjonelle utstryk kan oppbevares ved romtemperatur beskyttet mot lys og må farges med CINtec PLUS Cytology Kit innen 7 dager etter klargjøring.

Ingen ytterligere forbehandling er nødvendig før objektglass lastes inn på BenchMark IHC/ISH-instrumentet.

FARGINGSPROSEDYRE

CINtec PLUS Cytology Kit er utviklet for bruk på BenchMark IHC/ISH-instrumenter i kombinasjon med VENTANA-tilleggsreagenser og tilbehør.

CINtec PLUS Cytology Kit er optimalisert med parameterne angitt i tabell 2, 3 og 4. Brukeren må validere resultater som oppnås med dette kitet.

Parameterne for de automatiserte prosedyrene kan vises, skrives ut og redigeres i henhold til instruksjonene i instrumentets brukerhåndbok.

Tabell 2. Anbefalt fargeprotokoll for klargjorte ThinPrep, SurePath og konvensjonelle utstrykobjektglass på BenchMark GX-instrumentet.

Fargingsprosedyre	GX CINtec PLUS Cytology		
Valgbare alternativer	Slide Preparation-type		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Konvensjone II
ThinPrep	Valgt	Ikke valgt	Ikke valgt
SurePath	Ikke valgt	Valgt	Ikke valgt
Annet	Ikke valgt	Ikke valgt	Valgt
Cell Conditioning-alternativ	Ikke valgbar	Ikke valgbar	16 min
Antistoffinkubasjonstid	16 min	20 min	16 min
HQ Linker-inkubasjonstid	12 min	16 min	12 min
HRP Multimer Inc-tid	6 min	8 min	8 min
NP Linker-inkubasjonstid	8 min	16 min	8 min
AP Multimer--inkubasjonstid	8 min	8 min	8 min
Hematoxylin	8 min	8 min	8 min
Bluing	4 min	4 min	4 min

Tabell 3. Anbefalt fargeprotokoll for klargjort ThinPrep, SurePath og objektglass for konvensjonelle utstryk på BenchMark XT-instrumentet.

Fargingsprosedyre	XT CINtec PLUS Cytology		
Valgbare alternativer	Slide Preparation-type		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Konvensjone II
ThinPrep	Valgt	Ikke valgt	Ikke valgt
SurePath	Ikke valgt	Valgt	Ikke valgt
Annet	Ikke valgt	Ikke valgt	Valgt
Cell Conditioning-alternativ	Ikke valgbar	Ikke valgbar	16 min
Antistoffinkubasjonstid	16 min	20 min	16 min
HQ Linker-inkubasjonstid	12 min	16 min	12 min
HRP Multimer Inc-tid	8 min	8 min	8 min
NP Linker-inkubasjonstid	8 min	16 min	8 min
AP Multimer--inkubasjonstid	8 min	8 min	8 min
Hematoxylin	8 min	8 min	8 min
Bluing	4 min	4 min	4 min

Tabell 4. Anbefalt fargeprotokoll for klargjorte ThinPrep-, SurePath- og konvensjonelle utstryksobjektglass på BenchMark ULTRA- eller BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet.

Fargingsprosedyre	U CINtec PLUS Cytology		
Valgbare alternativer	Slide Preparation-type		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Konvensjonell
ThinPrep	Valgt	Ikke valgt	Ikke valgt
SurePath	Ikke valgt	Valgt	Ikke valgt
Annet	Ikke valgt	Ikke valgt	Valgt
Cell Conditioning-alternativ	Ikke valgbar	Ikke valgbar	16 min
Antistoffinkubasjonstid	16 min	16 min	16 min
HQ Linker-inkubasjonstid	12 min	16 min	12 min
HRP Multimer Inc-tid	8 min	8 min	8 min
NP Linker-inkubasjonstid	8 min	16 min	8 min
AP Multimer--inkubasjonstid	8 min	8 min	8 min
Hematoxylin	8 min	8 min	8 min
Bluing	4 min	4 min	4 min

ETTERBEHANDLINGSPROSEDYRE – MONTERING OG PÅFØRING AV DEKKGlass

For å opprettholde optimal sensitivitet og hindre falming av kromogener kreves en totrinnns monteringsprosedyre.

Fjern objektglassene fra BenchMark IHC/ISH-instrumentet, og rist og skyll objektglass forsiktig med springvann, deionisert vann eller destillert vann og mildt oppvaskmiddel til LCS er fullstendig fjernet fra objektglassene.

MERK: Ikke la vannet renne direkte på toppen av objektglassene. La vannet renne med minimal styrke.

Objektglassene monteres etter en totrinnns protokoll, og følgende trinn må utføres i rekkefølge:

Vandig montering:

1. Inkuber objektglass i destillert eller deionisert vann i minst 1 min.
2. Objektglass som ikke påføres dekkglass, må forbli i destillert eller deionisert vann under påføring av CC/Mount vandig monteringsmedium på de andre objektglassene.
3. Fjern enkeltstående objektglass fra destillert eller deionisert vann, og tørk forsiktig baksiden av objektglasset med et tørkepapir for å fjerne overskytende vann. Ikke tøm eller tørk vann av fronten av objektglass (prøveside).
4. Hold objektglasset i en liten vinkel, og påfør 4–6 dråper CC/Mount vandig monteringsmedium per ThinPrep- eller SurePath-objektglass og 8 dråper per objektglass for konvensjonelle utstryk. Unngå bobledannelse. For å hindre bobledannelse kan den første dråpen kasseres på et tørkepapir før CC/Mount påføres på objektglassets prøveklargjøringsområde.
5. Vipp forsiktig opp og roter objektglasset for å generere et tynt lag med monteringsmedium for å dekke prøveklargjøringsområdet helt (ikke påfør dekkglass av glass eller film ennå). Kontroller fordelingen av monteringsmediet på objektglasset ved visuell inspeksjon.
6. Tørk bort overflødig CC/Mount vandig monteringsmedium fra baksiden og kantene på objektglasset. Bruk vått tørkepapir om nødvendig.
7. Tørk ved å legge klargjorte objektglass horisontalt.
 - Inkuber klargjorte ThinPrep eller SurePath-objektglass i 37–60 °C i 1 time, eller alternativt over natten ved romtemperatur.
 - Inkuber objektglass for konvensjonelle utstryk ved 37 °C i 4 timer, eller ved 60 °C i 1 time, eller alternativt over natten ved romtemperatur

Påføring av dekkglass av glass eller film:

1. La objektglass stabilisere seg til romtemperatur, om nødvendig, etter fullstendig tørking av CC/Mount vandig montering. Inkuber objektglass i xylen i minst 1 minutt og opptil høyst 20 minutter. Påfør deretter dekkglass av glass på objektglassene med et xylenbasert monteringsmedium eller en xylenbasert metode for påføring av dekkglass av film.

MERK: Objektglass skal ikke dehydreres ved stigende alkoholserier før de dekkes med dekkglass av glass eller film.

2. La det xylenbaserte monteringsmediet tørke ved romtemperatur.

MERK: Falming minimeres ved å beskytte objektglassene mot lys og oppbevare dem ved romtemperatur.

KVALITETSKONTROLL

Avvik fra de anbefalte prosedyrene for fiksering og videre prosessering av de cervikale cytologiprøvene kan gi vesentlig variabilitet i resultatene. Produktfeil på grunn av håndteringsproblemer eller ustabilitet fører ikke til åpenbare tegn. Relevante kontroller må derfor kjøres samtidig med pasientprøver.

Positiv kontroll

Prøver prosessert på samme måte som pasientprøven(e) bør brukes som positive kontroller. Positive kontroller indikerer riktig klargjorte prøver og riktige fargingsteknikker. En positiv kontroll bør inkluderes i hver fargekjøring.

Kjente positive kontroller bør kun benyttes for overvåking av korrekt ytelse for prosesserte prøver og testreagenser i stedet for som hjelpemiddel for å formulere en spesifikk diagnostikk av pasientprøver. Hvis de positive kontrollene ikke viser riktig positiv farging, bør resultater med testprøvene anses som ugyldige.

Negative Control

En rekke forskjellige cellyper som finnes i representative cervikale cytologiprøver, og som er kjent for å være negative for uttrykk av p16^{INK4a}- og Ki-67-antigenene (som overfladiske celler), kan brukes som intern negativ kontroll for å vurdere bakgrunnsfarging.

Analyseverifisering

Brukeren må verifisere ytelsen til CINtec PLUS Cytology Kit på positive og negative prøver med kjente ytelsesegenskaper før første gangs bruk i en diagnostisk prosedyre.

FARGINGSTOLKNING / FORVENTEDE RESULTATER

Farging med CINtec PLUS Cytology Kit produserer to distinkte fargede reaksjonsprodukter: et brunt presipitat ved p16^{INK4a}-antigenstedene og et rødt presipitat ved Ki-67-antigenstedene. Brun farging av celler (cytoplasmisk farging og/eller kjernefarging) indikerer p16^{INK4a}-overuttrykk. Red farging av celler (kjerner) indikerer uttrykk av Ki-67. Celler farget for begge antigenene viser brun cytoplasmisk farge med typisk markerte røde kjerner. En kvalifisert patolog/cytotekniker med erfaring fra immuncytokjemiske prosedyrer og lært opp i tolkning av CINtec PLUS Cytology Kit-fargede objektglass må evaluere kontrollene før resultater tolkes.

Tolking av testresultatene kan kun gjøres av en sertifisert fagperson vurdert opp mot pasientens sykehistorie og andre diagnostiske tester som er utført.

For tolkning av cervikale cytologiobjektglass som er farget med CINtec PLUS Cytology Kit, bør objektglassene evalueres med hensyn til tilstedeværelsen av cervikale epitelceller som viser både brun cytoplasmisk farging og rød kjernefarge, noe som indikerer samtidig p16^{INK4a}- og Ki-67-uttrykk. I tillegg, på samme måte som ved rapportering av Pap-cytologieresultater, skal prøvene vurderes for prøvetilstrekkelighet i henhold til Bethesda Guidelines 2015 (eller TBS)²⁸ ved rapportering av CINtec PLUS Cytology Kit-testresultatet.

Positivt testresultat

Forekomst av én eller flere cervikale epitelceller med kolokalisering av spesifikk brun cytoplasmisk immunfarging og spesifikk rød nukleær immunfarging innen samme celle anses som et positivt CINtec PLUS Cytology Kit-testresultat uansett cytologiske funksjoner.

Negativt testresultat

Hvis ingen cervical epitelcelle viser samtidig brun cytoplasmisk immunfarging og rød nukleær immunfarging, vurderes CINtec PLUS Cytology Kit-testresultatet som negativt.

Tilstedeværelsen av cervikale epitelceller som viser immunreaktivitet kun for én, men ikke begge markørene (som f.eks. brun farging kun for p16^{INK4a} eller rød farging kun for Ki-67), anses ikke som et positivt testresultat for CINtec PLUS Cytology Kit.

SPESIFIKKE BEGRENŚNINGER

1. Kun til profesjonell bruk. Spesialoppl ring er nødvendig for å utføre immuncytokjemiske prosedyrer.
2. Vurdering av objektglass for mikroskop farget med CINtec PLUS Cytology Kit bør bare utføres av sertifisert personell som er kvalifisert til å tolke disse testresultatene.
3. Den kliniske tolkningen av positiv eller negativ farging må evalueres i sammenheng med klinisk presentasjon og cytologiske kriterier.
4. Tolkningen av CINtec PLUS Cytology Kit-fargingsresultater avhenger av hematoksylinkontrasfargens intensitet og kvalitet. Avvik fra de anbefalte reagensene og inkubasjonstidene krever validering av kunden, siden unødig eller ufullstendig kontrastfarge kan påvirke riktig tolkning av resultatene.
5. Cervikale prøver viser ofte synlig påvisbare nivåer av fullblod. Hvis konsentrasjonen av fullblod overskrider 1.0 %, må prøven lyseres med iseddik (GAA) i henhold til ThinPrep-protokollen for klargjøring av objektglass.
6. Objektglass for konvensjonelle utstryk for farging med CINtec PLUS Cytology Kit skal klargjøres ved hjelp av Superfrost Plus-objektglass for mikroskop og Safetex Cytology Fixative (Andwin Scientific), et cytologisk sprayfiksereagens som inneholder polyetylenglykol. Avvik fra denne anbefalingen krever validering av kunden.
7. Bruken av ThinPrep 3000 Processor anbefales ikke for klargjøring av ThinPrep-prøver, siden sprayfiksereagensprosedyren som instrumentet utfører, kan føre til vesentlig celletap n r klargj rte objektglass farges med CINtec PLUS Cytology Kit.
8. ThinPrep Arcless Microscope-objektglass eller ThinPrep Microscope Slides til spesiell prosessering eller Superfrost Plus-objektglass til mikroskop brukes til klargjøring av ThinPrep-prøver til immuncytokjemisk farging med CINtec PLUS Cytology Kit på BenchMark IHC/ISH-instrumenter. ThinPrep-objektglass for mikroskop med preget screeningfelt kan føre til inkonsekvente fargingsresultater.
9. Produsenten tilbyr disse antistoffene/reagensene ved optimal fortynning for bruk i henhold til bruksanvisningen som følger med, for immuncytokjemisk testing på klargj rte objektglass for v skebasert cytologi (LBC). Alle avvik fra de anbefalte testprosedyrene kan gjøre spesifiserte forventede resultater ugyldige. Relevante kontroller må brukes og dokumenteres. Brukere som avviker fra de anbefalte testprosedyrene, må ta ansvar for tolkning av pasientresultater under disse omstendighetene.
10. Alle analyser er ikke nødvendigvis registrert på alle instrumenter. Kontakt den lokale Roche-representanten for mer informasjon.

YTELSEEGENSKAPER

ANALYTISK YTELSE

Ytelsen til CINtec PLUS Cytology Kit ble evaluert via analytisk reproduserbarhet og andre relevante studier.

Analytisk sensitivitet og spesifisitet

Analytisk sensitivitet og spesifisitet av de primære p16- og Ki-67-antistoffene ble testet i Western blot- og peptidhemmingsanalyser.

Western blot-analyser brukte lysater fra cellelinjer som representerer en rekke fargingsintensiteter. Anti-p16^{INK4a} (E6H4)-antistoff kunne påvise et bånd på ca. 15–20 kD i det rensede rekombinante t p16^{INK4a}-proteinpreparatet. Videre ble antistoffet spesifikt bundet til rensert rekombinant p16^{INK4a}-protein og ikke til en ekvivalent mengde urelatert rekombinant protein. Antistoffet ble også vist å binde endogent p16^{INK4a}-protein uttrykt i lysater avledet fra cellelinjene HeLa, SK Mel 28 og DU145 og ikke i den p16^{INK4a}-negative cellelinjen MDA MB 231. De relative nivåene av p16^{INK4a}-protein som ble påvist i lysater fra alle de fire cellelinjene på Western Blot, tilsvarte IHC-fargingsdata, noe som viser sensitiviteten av anti-p16^{INK4a} (E6H4)-antistoffp visningen. Bindingen til Ki-67-antistoffklon (274-11AC3V1) ble testet i en Western Blot-analyse ved bruk av helcellelysater klargj rt fra L428-cellelinje (et Hodgkins lymfom positivt for Ki-67-antigen; DSMZ ATCC 197) og fra LNCaP-cellelinje (en prostatakarsinomcellelinje med lavt uttrykk av Ki-67-protein; ATCC CRL-1740). Antistoffet var i stand til å påvise endogent Ki-67-protein i cellelysater selv ved lave uttrykksniv er, og b ndintensiteten korrelerte med IHC-farging for Ki-67 i disse cellelinjene. CINtec PLUS Cytology Kit Ki-67 primært antistoff (274-11AC3V1) bandt til et rensert rekombinant Ki-67-proteinfragment og ikke til en tilsvarende mengde urelatert rekombinant negativt kontrollprotein. Binding i denne analysen ble ikke påvist i cellelinjen LNCaP med lavt Ki-67-uttrykk. De relative nivåene av Ki-67-protein som ble påvist i lysater fra disse cellelinjene på Western blot, korrelerer med IHC-fargingsdata og mRNA-uttrykksdata. Western blot-resultatene viser at det primære Ki-67-antistoffet som brukes i

CINtec PLUS Cytology Kit, kan påvise endogent Ki-67-protein i cellelysater og rekombinant Ki-67-proteinfragment i rensert form.

Peptidhemmingsanalyser brukte løsninger som inneholdt p16- eller Ki-67-spesifikke peptider. Cocktaillen med primært antistoff ble fortennet i et 1:1-volum:volum-forhold med p16- eller Ki-67-spesifikke peptidl sninger av forskjellige konsentrasjoner over en rekke molforhold: ca. et 1-gangers, 10-gangers, 100-gangers, 1000-gangers og 10000-gangers moloverskudd av peptid sammenlignet med sluttkonsentrasjonen av antistoff i løsningen. Cocktaillen med primært antistoff inneholdende p16-spesifikt peptid fungerte som en uspesifikk kontroll for anti-Ki-67-antistoffet, og et urelatert Alk-a peptid fungerte som en uspesifikk kontroll for anti-p16-antistoff. Ett objektglass fra hver prøve (tre cervikale cytologipr veblandinger og én med CaSki-celler) ble farget med hver løsning. Resultatene av denne studien viste at anti-p16-antistoffet spesifikt binder p16-proteinet, og at anti-Ki-67-antistoffet spesifikt binder Ki-67-protein. Som forventet ble p16- og Ki-67-fargingsintensitetene redusert i alle prøver etter farging med løsninger som inneholdt de respektive spesifikke peptidene ved konsentrasjon på 1 M. Fullstendig hemming ble oppnådd med løsningene som inneholdt ≥ 10 M, mens ingen reduksjon av p16-fargingsintensiteten ble observert etter farging med løsninger som inneholdt ikke-spesifikt peptid eller intet peptid.

Repeterbarhet og intermediær presisjon

Presisjonsstudier for CINtec PLUS Cytology Kit-farging av ThinPrep cervikale prøver ble utført for å vise:

- Samlet presisjon – Prosentandelen resultater som var likt majoritetsavgjørelsen, ble beregnet for hver av 12 cervikale cytologiblandinger (3 HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV– LBC-blandinger og 3 negative T24-cellelinjeblandinger) farget med 3 loter av CINtec PLUS Cytology Kit på 5 ikke-etterfølgende dager med 2 replikerte objektglass fra hver blanding og evaluert av 3 leserteam.
- Presisjon mellom dager – Prosentandelen resultater som var likt majoritetsavgjørelsen, ble beregnet for hver dag (dag 1 – dag 5), som aggregerte data fra 12 cervikale cytologiblandinger (3 HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV– LBC-blandinger og 3 negative T24-cellelinjeblandinger), 3 loter av CINtec PLUS Cytology Kit, 2 replikerte objektglass fra hver blanding og 3 leserteam.
- Presisjon mellom loter – Prosentandelen resultater som var likt majoritetsavgjørelsen, ble beregnet for hver CINtec PLUS Cytology Kit-lot (lot 1–3), som aggregerte data fra 12 cervikale cytologiblandinger (3 HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV– LBC-blandinger og 3 negative T24-cellelinjeblandinger), 5 ikke-etterfølgende dager, 2 replikater og 3 leserteam.

Alle objektglass ble blindet og randomisert og deretter evaluert med fargingstolkning for CINtec PLUS Cytology Kit. Objektglass ble evaluert av tre leserteam, hvert bestående av en cytotekniker og en patolog. Majoritetsavgj relsen, eller blandingsniv modusresultatet (positivt eller negativt), ble brukt som referanse for å bestemme samme prosent av resultater som majoritetsavgjørelsen. Samme prosent av resultater som majoritetsavgjørelsen tilsvarer PPA n r majoritetsavgjørelsen er positiv, og NPA n r majoritetsavgjørelsen er negativ. Resultatene er oppsummert i Tabell 5, Tabell 6 og Tabell 7. Alle konfidensintervaller (CI-er) var 2-sidige 95 % konfidensintervaller. CI-er ble beregnet ved hjelp av persentil bootstrap-metoden. Når punktestimaten var 100 %, ble imidlertid Wilson-sk rmetoden brukt.

Tabell 5. Studie av presisjon innenfor laboratoriet – samlet presisjon

Blandingskat egori	Antall vurderin ger	Modus for CINtec PLUS Cytology Kit- resultater (majoritetsavgj �relse)	Samme prosent av resultater som majoritetsavgj �relse	95 % konfidensint ervall
T24-cellelinje	270	Negativ	100.0 %	(98.6, 100.0)
NILM/HPV–	270	Negativ	94.1 %	(90.7, 97.0)
NILM/HPV+	90	Positiv	61.1 %	(47.2, 74.4)
ASC-US/HPV+	90	Positiv	93.3 %	(88.9, 97.8)
LSIL/HPV+	90	Positiv	100.0 %	(95.9, 100.0)
HSIL/HPV+	270	Positiv	98.9 %	(96.7, 100.0)

Tabell 6. Studie av presisjon innen laboratorium – presisjon mellom dager

Blandingskategorori	Antall vurderinger	Modus for CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (majoritetsavgjørelse)	Samme prosent av resultater som majoritetsavgjørelse				
			Dag 1	Dag 2	Dag 3	Dag 4	Dag 5
T-24-cellelinje	270	Negativ	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM/HPV-	270	Negativ	88.9 %	90.7 %	98.1 %	98.1 %	94.4 %
NILM/HPV+	90	Positiv	44.4 %	50.0 %	77.8 %	66.7 %	66.7 %
ASC-US/HPV+	90	Positiv	94.4 %	88.9 %	88.9 %	94.4 %	100.0 %
LSIL/HPV+	90	Positiv	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %
HSIL/HPV+	270	Positiv	100.0 %	94.4 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %

Tabell 7. Studie av presisjon innen laboratorium – presisjon mellom loter

Blandingskategorori	Antall vurderinger	Modus for CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (majoritetsavgjørelse)	Samme prosent av resultater som majoritetsavgjørelse		
			Lot 1	Lot 2	Lot 3
T24-cellelinje	270	Negativ	100.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM/HPV-	270	Negativ	92.2 %	93.3 %	96.7 %
NILM/HPV+	90	Positiv	46.7 %	70.0 %	66.7 %
ASC-US/HPV+	90	Positiv	90.0 %	96.7 %	93.3 %
LSIL/HPV+	90	Positiv	100.0 %	100.0 %	100.0 %
HSIL/HPV+	270	Positiv	100.0 %	100.0 %	96.7 %

Leserpresisjon

For å vurdere leserpresisjonen evaluerte tre leserteam, hvert bestående av en cytotekniker og en patolog, alle objektglass farget for presisjonsstudiene, som besto av 2 replikater fra 12 cervikale cytologiblandinger (3 HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV- LBC-blandinger og 3 negative T24-cellelinjeblandinger), 3 CINtec PLUS Cytology Kit-loter, på 5 ikke-etterfølgende dager. Andelen samme prosent av resultater som majoritetsavgjørelsen ble beregnet ut fra de aggregerte resultatene for de ulike leserteamene og er oppsummert i Tabell 8.

Tabell 8. Studie av presisjon innen laboratorium – presisjon mellom lesere

Blandingskategorori	Antall vurderinger	Modus for CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (majoritetsavgjørelse)	Samme prosent av resultater som majoritetsavgjørelse		
			Leser team 1	Leser team 2	Leser team 3
T-24-cellelinje	270	Negativ	100.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM/HPV-	270	Negativ	95.6 %	91.1 %	95.6 %
NILM/HPV+	90	Positiv	70.0 %	63.3 %	50.0 %
ASC-US/HPV+	90	Positiv	100.0 %	90.0 %	90.0 %
LSIL/HPV+	90	Positiv	100.0 %	100.0 %	100.0 %

Blandingskategorori	Antall vurderinger	Modus for CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (majoritetsavgjørelse)	Samme prosent av resultater som majoritetsavgjørelse		
			Leser team 1	Leser team 2	Leser team 3
HSIL/HPV+	270	Positiv	98.9 %	98.9 %	98.9 %

Reproduserbarhet

Reproduserbarhetsstudier for CINtec PLUS Cytology Kit ble utført for å vise:

- Reproduserbarhet mellom loter for CINtec PLUS Cytology Kit (Tabell 9),
- Reproduserbarhet innen kjøring (Tabell 10) og mellom kjøringer (Tabell 11) på BenchMark GX-, XT- og ULTRA-instrumentene
- Reproduserbarhet innen plattform på BenchMark GX-, XT- og ULTRA-instrumentene (Tabell 12).
- Reproduserbarhet mellom plattformer mellom BenchMark GX-, XT- og ULTRA-instrumentene (0).

Tabell 9. Reproduserbarhet mellom loter for CINtec PLUS Cytology Kit.

Prøvetype	Totalt samsvar i prosent
ThinPrep	100.0
SurePath	100.0

Tabell 10. Reproduserbarhet innen kjøring for CINtec PLUS Cytology Kit.

Prøvetype	Totalt samsvar i prosent		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	100.0	100.0
SurePath	93.8	96.3	92.6

Tabell 11. Reproduserbarhet mellom kjøringer for CINtec PLUS Cytology Kit.

Prøvetype	Totalt samsvar i prosent		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	96.2	100.0
SurePath	100.0	92.6	100

Tabell 12. Reproduserbarhet innen plattform for CINtec PLUS Cytology Kit.

Prøvetype	Totalt samsvar i prosent		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	100.0	100.0
SurePath	100.0	100.0	96.3

Tabell 13. Reproduserbarhet mellom plattformer for CINtec PLUS Cytology Kit.

Prøvetype	Totalt samsvar i prosent
ThinPrep	100.0
SurePath	96.3

Disse studiene ble utført på både ThinPrep og SurePath cervikale prøver. Alle studiene oppfylte de forhåndsbestemte akseptkriteriene.

Konkordansstudier

Ytelsen til CINtec PLUS Cytology Kit til bruk på BenchMark GX-, XT- og ULTRA-instrumentene ble evaluert gjennom sammenligning med CINtec PLUS Kit (predikatutstyr, Roche mtm laboratories AG, Mannheim) som tidligere har vist høy sensitivitet og spesifisitet for tilstedeværelsen av pre-kankrøs og kankrøs sykdom i cervikale

cytologi prøver, med hensyn til tilstedeværelsen av individuelle cervikale epitelceller som viser et dobbelt positivt fargingsresultat for p16^{INK4a} og Ki-67.^{7-15,18,20,23,25-28}

Det ble utført konkordansstudier med pasientprøver fra den tiltenkte brukspopulasjonen med et Pap-cytologiresultat på NILM (negativ for intraepitelial lesjon eller malignitet), ASC-US, LSIL og HSIL for hver av de individuelle klargjøringsmetodene for cervixcytologi: ThinPrep, BD SurePath og objektglass for konvensjonelle utstryk. For LBC-prøver ble det klargjort to objektglass fra hver pasientprøve. For konvensjonelle utstryk ble det klargjort to objektglass fra samme pasient ved samme besøk, og prøvetakingsmaterialet ble fordelt mellom to objektglass («prøvefordelingsteknikk»). Ett objektglass ble testet med CINtec PLUS Cytology Kit på et BenchMark IHC/ISH-instrument, og ett objektglass ble farget med predikatinstrumentet.

Lesealgoritme for LBC-prøver:

Hvert objektglass ble lest av to kvalifiserte lesere. Hvis de var enige om resultatet, ble det vurdert som det endelige resultatet for dette objektglasset. Hvis de var uenige om resultatet, ble det utført en avgjørende lesning av en tredje leser, og majoritetsavgjørelsen ble sluttresultatet for dette objektglasset.

Lesealgoritme for objektglass for konvensjonelle utstryk:

Hvert objektglass ble lest av to kvalifiserte lesere. Hvis begge leserne skåret objektglasset som positivt, var det endelige resultatet for det objektglasset positivt. Hvis de var uenige om resultatet, ble objektglasset gjennomgått av tre lesere som et panel for en konsensusgjennomgang, og resultatet ble sluttresultatet for dette objektglasset. Hvis begge leserne skåret objektglasset som negativt, ble objektglasset lest av en tredje leser for å bekrefte det negative resultatet. Hvis den tredje leseren bekreftet det negative resultatet, var det endelige resultatet for objektglasset negativt. Hvis den tredje leseren skåret objektglasset som positivt, gikk objektglasset til en panelgjennomgang for konsensus, som ble sluttresultatet for dette objektglasset.

Samsvaret i testresultater rapporteres som positivt samsvar i prosent (PPA) og negativt samsvar i prosent (NPA) ± 95 % konfidensintervall (CI) mellom CINtec PLUS Cytology Kit til bruk på et BenchMark IHC/ISH-instrument og predikatinstrumentet.

Tabell 14. Samsvar i testresultater mellom CINtec PLUS Cytology Kit og predikatinstrument på klargjorte ThinPrep cervikale cytologiobjektglass.

		Predikatinstrument	
		+	-
CINtec PLUS Cytology Kit	+	140	25
	-	17	147
Totalt		157	172
PPA (n/N) (95 % CI) = 140/157 x 100 % = 89.2 % (83.3–93.1 %)			
NPA (n/N) (95 % CI) = 147/172 x 100 % = 85.5 % (79.4–90.0 %)			

Tabell 15. Samsvar i testresultater mellom CINtec PLUS Cytology Kit og predikatinstrumentet på klargjorte SurePath cervikale cytologiobjektglass.

		Predikatinstrument	
		+	-
CINtec PLUS Cytology Kit	+	56	3
	-	9	108
Totalt		65	111
PPA (n/N) (95 % CI) = 56/65 x 100 % = 86.2 % (75.7–92.5 %)			
NPA (n/N) (95 % CI) = 108/111 x 100 % = 97.3 % (92.4–99.1 %)			

Tabell 16. Samsvar i testresultater mellom CINtec PLUS Cytology Kit og predikatinstrumentet på cervikale cytologi preparater for objektglass for konvensjonelle utstryk.

		Predikatinstrument	
		+	-
CINtec PLUS Cytology Kit	+	98	17
	-	20	72
Totalt		118	89
PPA (n/N) (95 % CI) = 98/118 x 100 % = 83.1 % (75.3–88.8 %)			
NPA (n/N) (95 % CI) = 72/89 x 100 % = 80.9 % (71.5–87.7 %)			

Roche Cell Collection Medium-studie

Ytelsen til Roche Cell Collection Medium vs. PreservCyt-løsning ble vurdert ved å farge 616 par med cervikale prøver (tilfeller) ved hjelp av CINtec PLUS Cytology Kit. For hvert tilfelle ble det laget ett objektglass hver fra de respektive PC- eller RCCM-beholdere. Alle objektglass ble lest av et cytotekniker-/patologteam, som var blindet til objektglassenes identitet. Testresultatene for sammenligning av CINtec PLUS Cytology Kit med ulike medier (PC vs. RCCM) er oppsummert i Tabell 17. Positivitetsrater ble beregnet ved å dele antallet positive tilfeller med samlet antall tilstrekkelige tilfeller for hvert medium. Resultatene viser en differanse mellom de to positivitetsratene på 2.4 % (1.5, 6.3).

Tabell 17. Ekvivalens for positivitetsrater for CINtec PLUS Cytology Kit med Roche Cell Collection Medium (RCCM) og PreservCyt (PC).

CINtec PLUS Cytology Kit-resultat for RCCM	CINtec PLUS Cytology Kit-resultat for PC		
	Positiv	Negativ	Totalt
Positiv	170	48	218
Negativ	37	204	241
Totalt	207	252	459
RCCM-positivitetsrate, n/N (%): 218/459 (47.5 %)			
PC-positivitetsrate, n/N (%): 207/459 (45.1 %)			
Differanse i positivitetsrater, n/N (%): 11/459 (2.4 %; 95 % CI: -1.5, 6.3)			

Resultatene av tilstrekkelig cellularitet for CINtec PLUS Cytology Kit som sammenligner PreservCyt og Roche Cell Collection Medium, er oppsummert i Tabell 18. Rater for tilstrekkelig cellularitet ble beregnet ved å dele antallet tilfeller med samlet antall tilfeller med tilstrekkelig cellularitet for hvert medium. Resultatene viser differansen mellom de to tilstrekkelige cellularitetsratene som 3.2 % (-0.0, 6.6).

Tabell 18. Sammenligning av tilstrekkelig cellularitet for CINtec PLUS Cytology Kit for Roche Cell Collection Medium (RCCM) og PreservCyt (PC).

Tilstrekkelig cellularitet for CINtec PLUS Cytology Kit for RCCM	Tilstrekkelig cellularitet for CINtec PLUS Cytology Kit for PC		
	Ja	Nei	Totalt
Ja	468	63	531
Nei	43	42	85
Totalt	511	105	616
RCCM-tilstrekkelighetsrate, n/N (%):	531/616 (86.2 %)		
PC-tilstrekkelighetsrate, n/N (%):	511/616 (83.0 %)		
Differanse i tilstrekkelighetsrater, n/N (%):	20/616 (3.2 %; 95 % CI: -0.0, 6.6)		

Studie av reproduserbarheten mellom laboratorier på BenchMark ULTRA PLUS-fargingsplattform

Det ble utført en reproduserbarhetsstudie for å evaluere CINtec PLUS Cytology-testen på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet for dobbel immunocytochemisk påvisning av p16^{INK4a} og Ki-67 i cytologiprøver. Studien omfattet 2 forskjellige kulturer av T24-celler og 10 pasientderiverede prøveblandinger (2 HSIL/HPV+, 2 LSIL/HPV+, 2 ASC-US/HPV+, 2 NILM/HPV+ og 2 NILM/HPV- LBC-blandinger). T24-cellekulturene ble klargjort fra én enkel arbeidscellebank. Hvert av de 3 studiestedene fikk utlevert allikvoter av hver prøveblending, T24-cellekulturen og en kontrollblending av tilstrekkelig mengde for å kunne utføre den planlagte testingen på stedet. På hvert av de fem fargingsdagene klargjorte stedene et testobjektglass fra hvert av allikvotene levert av RTD, med en ThinPrep 2000- eller ThinPrep 5000-objektglassprosessor. Etter klargjøring av objektglassene farget hvert sted ett sett med 13 objektglass på et BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet. De 5 fargingsdagene var ikke-etterfølgende og strakk seg over en periode på minst 20 dager. På hvert sted evaluerte 2 uavhengige leserteam, hvert bestående av en cytotechnolog og en patolog, objektglassene farget på sitt sted for tilstedeværelse eller fravær av dobbelfarging og ga objektglasset et positivt, negativt eller utilfredsstillende CINtec PLUS Cytology-testresultat. Leserteamene var blindet for tidligere bestemmelser av HPV-status, Pap-cytologistatus, CINtec PLUS Cytology-testresultater og annen klinisk informasjon.

Dataene ble direkte lagt inn i en klinisk database og analysert for å bestemme reproduserbarheten av analysen over flere steder, dager og leserteam. Bakgrunns- og cellularitets-akseptabilitetsandelene for alle kasus var 100 % for alle instrumenter. Resultatene er oppsummert i Tabell 19 og Tabell 20.

Tabell 19. BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet, studie av reproduserbarhet mellom laboratorier – reproduserbarhet mellom steder

Blandingskategori	Antall vurderinger	Modus for CINtec PLUS Cytology-resultater (majoritetsavgjørelse)	Andel med samme resultat som majoritetsavgjørelsen		
			Studiested A	Studiested B	Studiested C
T24-cellelinje	60	Negativ	95.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM/HPV-	60	Negativ	100.0 %	95.0 %	100.0 %
NILM/HPV+	60	Positiv	90.0 %	80.0 %	95.0 %
ASC-US/HPV+	60	Positiv	100.0 %	95.0 %	100.0 %
LSIL/HPV+	60	Positiv	100.0 %	95.0 %	100.0 %
HSIL/HPV+	60	Positiv	100.0 %	100.0 %	100.0 %

Tabell 20. BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet, studie av reproduserbarhet mellom laboratorier – samlet presisjon

Blandingskategorier	Modus for CINtec PLUS Cytology-resultater (majoritetsavgjørelse)	Samme prosent av resultater som majoritetsavgjørelse	n/N	95 %-konfidensintervaller
T24-cellelinje	Negativ	98.3 %	59/60	(96.7, 100.0)
NILM/HPV-	Negativ	98.3 %	59/60	(96.7, 100.0)
NILM/HPV+	Positiv	88.3 %	53/60	(86.7, 90.0)
ASC-US/HPV+	Positiv	98.3 %	59/60	(96.7, 100.0)
LSIL/HPV+	Positiv	98.3 %	59/60	(96.7, 100.0)
HSIL/HPV+	Positiv	100.0 %	60/60	(94.0, 100.0)

Konkordans mellom BenchMark ULTRA PLUS- og BenchMark ULTRA-instrumentene (ThinPrep-prøver)

Tre laboratorier deltok i en konkordansstudie mellom BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet og BenchMark ULTRA-instrumentet. Denne studien brukte 220 blandinger fra aidentifiserte cervikale ThinPrep LBC-prøver som ble klargjort hos Roche Tissue Diagnostics (RTD), i følgende kategorier: 88 positive blandinger, 22 borderline-positive blandinger, 22 negative mellomliggende blandinger og 88 negative T24-cellekulturblandinger. RTD klargjorde et sett med 4 objektglass fra hvert prøvemateriale ved å bruke ThinPrep 2000- eller ThinPrep 5000-objektglassprosessoren. Det første klargjorte objektglass fra hvert sett ble farget på et BenchMark ULTRA-instrument hos RTD. Hvert studiested fikk ett av de 3 gjenværende objektglassene for farging med CINtec PLUS Cytology-testen på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet. BenchMark ULTRA-objektglasset som ble farget hos RTD, ble evaluert for tilstedeværelse eller fravær av dobbelfarging og gitt et positivt, negativt eller utilfredsstillende testresultat av et RTD-leserteam som besto av en cytotechniker og en patolog, for å bestemme referanseskåren. På hvert sted evaluerte studiets leserteam objektglassene som ble farget på BenchMark ULTRA-instrumentet, for å gi dem et CINtec PLUS Cytology-testresultat. Objektglassene som ble farget på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet, ble evaluert av leserteamet på dette stedet, for å gi dem et CINtec PLUS Cytology-testresultat. Leserteamet på hvert sted evaluerte altså ett objektglass farget med BenchMark ULTRA og ett farget med BenchMark ULTRA PLUS for hvert prøvemateriale. Objektglassene farget med BenchMark ULTRA og med BenchMark ULTRA PLUS ble lest i to ukers avstand. Alle leserteamene var blindet for tidligere bestemmelser av HPV-status, Pap-cytologistatus, CINtec PLUS Cytology-testresultater og annen klinisk informasjon.

Samsvaret i ytelsen til CINtec PLUS Cytology-analysen ble bedømt som akseptabel på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet hvis den nedre grensen av det 2-sidige 95 %-konfidensintervallet for PPA- og NPA-andelene var på minst 85 %. Akseptabilitetsandelen for bakgrunn og cellularitet av testobjektglassene farget med CINtec PLUS Cytology på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet måtte være akseptabel på $\geq 90\%$ av alle testobjektglassene for at studien skulle være bestått. Akseptabilitetsandelene for bakgrunn og cellularitet var hhv. 99.7 % og 99.4 % for alle testobjektglass. Tabell 21 nedre oppsummerer samsvaret av CINtec PLUS Cytology-statusen mellom BenchMark ULTRA og BenchMark ULTRA PLUS-instrumenter.

Tabell 21. BenchMark ULTRA mot BenchMark ULTRA PLUS-instrument-konkordansstudie – aggregert samsvar av CINtec PLUS Cytology-status mellom plattformer (ThinPrep)

BenchMark ULTRA PLUS	CINtec PLUS Cytology-status			BenchMark ULTRA samsvar		
	BenchMark ULTRA			Rate	% (n/N)	95 % CI
	Positiv	Negativ	Totalt			
Positiv	314	13	327	PPA	95.7 (314/328)	(92.8, 98.1)

CINtec PLUS Cytology-status						
BenchMark ULTRA PLUS	BenchMark ULTRA			samsvar		
	Positiv	Negativ	Totalt	Rate	% (n/N)	95 % CI
Negativ	14	317	331	NPA	96.1 (317/330)	(93.5, 98.1)
Totalt	328	330	658	OPA	95.9 (631/658)	(94.1, 97.4)

Merke: Det aggregerte samsvaret aggregerer alle prøvematerialer og leserteam for ULTRA PLUS.

Merke: PPA = positivt samsvar i prosent, NPA = negativt samsvar i prosent, OPA = totalt samsvar i prosent

Studie av reproduserbarheten innenfor laboratorium på BenchMark ULTRA PLUS-fargingsplattformen

Det ble utført en reproduserbarhetsstudie innenfor et laboratorium for å evaluere repeterbarheten innenfor kjøring, intermedieær presisjon (dag til dag-presisjon), og intermedieær presisjon mellom instrumenter av CINtec PLUS Cytology-testen av SurePath-prøver. Studien omfattet 2 forskjellige kulturer av T24-celler og 9 pasientderiverede SurePath-prøveblandinger (3 CINtec-positive/HPV+, 3 borderline og 3 CINtec-negative/HPV-). Testobjektglassene ble klargjort på BD Totalys-objektglassklargjøringsinstrumentet på hver av de fem fargingsdagene, som var ikke-etterfølgende, og som strakk seg over en periode på minst 20 dager. For å evaluere reproduserbarheten mellom instrumenter ble det brukt tre BenchMark ULTRA PLUS. Testobjektglassene ble evaluert av et leserteam bestående av en cytotekniker og en patolog, som hadde fått opplæring i evaluering av CINtec PLUS Cytology. Testobjektglassene ble sammenlignet ved å sammenligne testobjektglassenes CINtec PLUS Cytology-status med blandingsnivåmodusen (PLM), som er definert som det hyppigst forekommende statusresultatet av alle evalueringer av en blanding når man aggregerer data fra alle instrumenter, alle dager og alle replikater for denne blandingen. Bakgrunns- og cellularitets-akseptabilitetsandelene var hhv. 99.4 % og 99.7 % for alle testobjektglass. Resultatene er oppsummert i Tabell 22, Tabell 23, Tabell 24 og Tabell 25 nede.

Tabell 22. Presisjonsstudie innenfor laboratorium – Samlet presisjon av sanne positive og sanne negative SurePath-prøver

CINtec PLUS-status	Blandingsnivåmodus-status			samsvar		
	Positiv	Negativ	Totalt	Mål	% (n/N)	95 % CI
Positiv	89	0	89	PPA	100.0 (89/89)	(95.9, 100.0)
Negativ	0	90	90	NPA	100.0 (90/90)	(95.9, 100.0)
Totalt	89	90	179	OPA	100.0 (179/179)	(97.9, 100.0)

Tabell 23. Presisjonsstudie innenfor laboratorium – intermedieær presisjon (dag til dag presisjon)

Dag	Samme resultat som PLM, n (%)	Annet resultat enn PLM, n (%)	Totalt, n (%)
Dag 1	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
Dag 2	35 (100.0)	0 (0.0)	35 (100.0)
Dag 3	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
Dag 4	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
Dag 5	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)

Tabell 24. Presisjonsstudie innenfor laboratorium – repeterbarhet innenfor kjøring

Replikat	Samme resultat som PLM, n (%)	Annet resultat enn PLM, n (%)	Totalt, n (%)
Replikat 1	90 (100.0)	0 (0.0)	90 (100.0)
Replikat 2	89 (100.0)	0 (0.0)	89 (100.0)

Tabell 25. Presisjonsstudie innenfor laboratorium – intermedieær presisjon mellom instrumenter

Instrument	Samme resultat som PLM, n (%)	Annet resultat enn PLM, n (%)	Totalt, n (%)
Instrument 1	60 (100.0)	0 (0.0)	60 (100.0)
Instrument 2	60 (100.0)	0 (0.0)	60 (100.0)
Instrument 3	59 (100.0)	0 (0.0)	59 (100.0)

Konkordans mellom BenchMark ULTRA PLUS- og BenchMark ULTRA-fargingsplattformer (SurePath-prøver)

Det ble utført en konkordansstudie for å kontrollere ekvivalent fargingsytelse av CINtec PLUS Cytology-settet mellom BenchMark ULTRA- og ULTRA PLUS-fargingsplattformer på SurePath-prøver. Studien omfattet 88 sanne positive, 26 borderline-positive, 26 negative mellomliggende, og 88 sanne negative T24-cellelinjekulturer. Det ble klargjort to testobjektglass fra hver prøve på BD Totalys-objektglassklargjøringsinstrumentet, som så ble farget med CINtec PLUS Cytology på hhv. BenchMark ULTRA- og BenchMark ULTRA PLUS. Testobjektglassene ble evaluert av et leserteam bestående av en cytotekniker og en patolog, som hadde fått opplæring i evaluering av CINtec PLUS Cytology. Samsvaret i ytelsen til CINtec PLUS Cytology-analysen ble bedømt som akseptabel på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet hvis den nedre grensen av det 2-sidige 95 %-konfidensintervallet for PPA- og NPA-andelene var på minst 85 %. Akseptabilitetsandelen for bakgrunn og cellularitet av testobjektglassene farget med CINtec PLUS Cytology på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet måtte være akseptabel på ≥ 90 % av alle testobjektglassene for at studien skulle være bestått. Bakgrunns- og cellularitets-akseptabilitetsandelene var hhv. 99.6 % og 99.1 % for alle testobjektglass. Resultatene er oppsummert i Tabell 26 nede.

Tabell 26. BenchMark ULTRA mot BenchMark ULTRA PLUS-instrument, konkordansstudie (SurePath)

ULTRA PLUS-status	ULTRA-status			samsvar		
	Positiv	Negativ	Totalt	Mål	% (n/N)	95 % CI
Positiv	94	2	96	PPA	92.2 (94/102)	(85.3, 96.0)
Negativ	8	119	127	NPA	98.3 (119/121)	(94.2, 99.5)
Totalt	102	121	223	OPA	95.5 (213/223)	(91.9, 97.5)

KLINISK YTELSE

En prospektiv multisenterstudie (IMPACT, Improved Primary screening And Colposcopy Triage (forbedret primær screening og kolposkopi-triage)) ble utformet for å evaluere den kliniske ytelsen til CINtec PLUS Cytology Kit på BenchMark ULTRA-instrumentet ved bruk av kliniske livmorhalsprøver tatt i PreservCyt®-løsning for identifisering av høygradig livmorhals sykdom. Studien ble designet for å evaluere ytelsen til CINtec PLUS Cytology Kit som en reflekstest hos kvinner ≥ 25 år som fikk et HPV-positivt resultat med cobas® 4800 HPV Test eller cobas® 6800/8800 HPV Test. Data fra denne studien støtter bruken av CINtec PLUS Cytology Kit som et hjelpemiddel for å identifisere kvinner med høygradige cervikale intraepiteliale lesjoner hos pasienter med positive HR-HPV-testresultater.

Ytelseegenskaper av CINtec PLUS Cytology Kit vs. Pap-cytologi for kvinner 25–65 år med cobas® 6800/8800 HPV Test eller cobas® 4800 HPV Test, positive resultater

Den komparative ytelsen til CINtec PLUS Cytology Kit vs. Pap-cytologi hos cobas® 6800/8800 HPV Test- og cobas® 4800 HPV Test-positivt kvinner, er presentert i de følgende tabellene for «12 andre HR HPV+»-populasjonen (Tabell 27), HPV16+-populasjonen (Tabell 28) og HPV18+-populasjonen (Tabell 29). I de tre genotypegruppene ble det observert en økning i sensitivitet og en reduksjon i spesifisitet for påvisning av høygradig livmorhals sykdom for CINtec PLUS Cytology Kit vs. Pap-cytologi (Tabell 27, Tabell 28 og Tabell 29).

Både blant cobas® 6800/8800 HPV Test- og cobas® 4800 HPV Test-positivt kvinner ble den største økningen i sensitivitet (forskjell = henholdsvis 23.1 % og 24.2 %) og den minste reduksjonen i spesifisitet (forskjell = henholdsvis 7.9 % og 8.7 %) i forhold til Pap-cytologi observert hos «12 andre HR HPV+»-populasjonene (Tabell 27).

I alle tilfeller førte bruken av CINtec PLUS Cytology Kit til en signifikant reduksjon av sykdomsrisikoen for negative CINtec PLUS Cytology Kit-resultater versus NILM-Pap-cytologi. Blant kvinner som testet positivt med cobas® 6800/8800 HPV Test, var 1-NPV henholdsvis 3.7 %, 6.1 % og 1.2 % lavere for \geq CIN2, og henholdsvis 0.9 %, 3.3 % og 0.3 % lavere for \geq CIN3 i populasjonene «12 andre HR HPV+», HPV16+ og HPV18+. Blant kvinner som testet positivt ved cobas® 4800 HPV Test, var 1-NPV henholdsvis 3.4 %, 9.1 % og 3.3 % lavere for \geq CIN2, og henholdsvis 0.8 %, 5.1 % og 0.5 % lavere for \geq CIN3 i populasjonene «12 andre HR HPV+», HPV16+ og HPV18+.

Tabell 27. Ytelsen til CINtec PLUS Cytology Kit vs. Pap-cytologi hos 12 annen HR HPV+-kvinner i alderen 25–65 år.

cobas® 6800/8800 system, 12 andre HR HPV+			
Ytelse Mål	CPR-diagnostisering av ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Differanse
Sensitivitet (%)	83.0 (254/306) (78.4, 86.8)	58.8 (180/306) (53.2, 64.2)	24.2 (18.3, 29.9)
Spesifisitet (%)	56.8 (1373/2416) (54.8, 58.8)	65.5 (1583/2416) (63.6, 67.4)	-8.7 (-10.9, -6.4)
PPV (%)	19.6 (254/1297) (18.5, 20.6)	17.8 (180/1013) (16.2, 19.3)	1.8 (0.0, 3.3)
1-NPV (%)	3.6 (52/1425) (2.9, 4.6)	7.4 (126/1709) (6.5, 8.3)	-3.7 (-4.5, -2.4)
Prevalens (%)	11.2 (306/2722)		
Ytelse Mål	CPR-diagnostisering av ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Differanse
Sensitivitet (%)	86.0 (80/93) (77.5, 91.6)	66.7 (62/93) (56.6, 75.4)	19.4 (10.0, 28.7)
Spesifisitet (%)	53.7 (1412/2629) (51.8, 55.6)	63.8 (1678/2629) (62.0, 65.6)	-10.1 (-12.3, -8.0)
PPV (%)	6.2 (80/1297) (5.6, 6.6)	6.1 (62/1013) (5.2, 6.9)	0.0 (-0.8, 0.8)
1-NPV (%)	0.9 (13/1425) (0.5, 1.5)	1.8 (31/1709) (1.3, 2.4)	-0.9 (-1.4, -0.3)
Prevalens (%)	3.4 (93/2722)		
cobas® 4800 system, 12 andre HR HPV+			
Ytelse Mål	CPR-diagnostisering av ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Differanse
Sensitivitet (%)	82.1 (256/312) (77.4, 85.9)	59.0 (184/312) (53.4, 64.3)	23.1 (17.3, 28.7)
Spesifisitet (%)	58.6 (1520/2594) (56.7, 60.5)	66.5 (1726/2594) (64.7, 68.3)	-7.9 (-10.1, -5.8)
PPV (%)	19.2 (256/1330) (18.1, 20.3)	17.5 (184/1052) (15.9, 19.0)	1.8 (0.2, 3.3)
1-NPV (%)	3.6 (56/1576) (2.8, 4.4)	6.9 (128/1854) (6.0, 7.8)	-3.4 (-4.4, -2.3)
Prevalens (%)	10.7 (312/2906)		
Ytelse Mål	CPR-diagnostisering av ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Differanse
Sensitivitet (%)	86.2 (81/94) (77.8, 91.7)	67.0 (63/94) (57.0, 75.7)	19.1 (9.8, 28.4)
Spesifisitet (%)	55.6 (1563/2812) (53.7, 57.4)	64.8 (1823/2812) (63.0, 66.6)	-9.2 (-11.3, -7.2)
PPV (%)	6.1 (81/1330) (5.5, 6.5)	6.0 (63/1052) (5.1, 6.8)	0.1 (-0.7, 0.9)
1-NPV (%)	0.8 (13/1576) (0.5, 1.3)	1.7 (31/1854) (1.2, 2.2)	-0.8 (-1.3, -0.3)
Prevalens (%)	3.2 (94/2906)		

Merk: CPR = Central Pathology Review; PPV = positiv prediktiv verdi; NPV = negativ prediktiv verdi; tall i parentes er (n/N) og 2-sidige 95 % konfidensintervaller.

Tabell 28. Ytelsen til CINtec PLUS Cytology Kit vs. Pap-cytologi hos HPV16+-kvinner i alderen 25–65 år.

cobas® 6800/8800 system, HPV16+			
Ytelse Mål	CPR-diagnostisering av ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Differanse
Sensitivitet (%)	92.6 (176/190) (88.0, 95.6)	75.8 (144/190) (69.2, 81.3)	16.8 (10.7, 23.2)
Spesifisitet (%)	57.2 (349/610) (53.3, 61.1)	68.5 (418/610) (64.7, 72.1)	-11.3 (-15.4, -7.2)
PPV (%)	40.3 (176/437) (37.9, 42.7)	42.9 (144/336) (39.4, 46.3)	-2.6 (-5.7, 0.8)
1-NPV (%)	3.9 (14/363) (2.3, 6.2)	9.9 (46/464) (7.8, 12.3)	-6.1 (-7.1, -2.6)
Prevalens (%)	23.8 (190/800)		
Ytelse Mål	CPR-diagnostisering av ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Differanse
Sensitivitet (%)	92.5 (111/120) (86.4, 96.0)	77.5 (93/120) (69.2, 84.1)	15.0 (7.7, 22.8)
Spesifisitet (%)	52.1 (354/680) (48.3, 55.8)	64.3 (437/680) (60.6, 67.8)	-12.2 (-16.0, -8.3)
PPV (%)	25.4 (111/437) (23.6, 27.2)	27.7 (93/336) (24.8, 30.5)	-2.3 (-4.7, 0.3)
1-NPV (%)	2.5 (9/363) (1.3, 4.4)	5.8 (27/464) (4.2, 7.8)	-3.3 (-4.7, -1.1)
Prevalens (%)	15.0 (120/800)		
cobas® 4800 system, HPV16+			
Ytelse Mål	CPR-diagnostisering av ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Differanse
Sensitivitet (%)	93.6 (176/188) (89.2, 96.3)	76.6 (144/188) (70.0, 82.1)	17.0 (10.9, 23.5)
Spesifisitet (%)	44.8 (182/406) (40.1, 49.7)	60.1 (244/406) (55.3, 64.7)	-15.3 (-20.6, -9.8)
PPV (%)	44.0 (176/400) (41.7, 46.4)	47.1 (144/306) (43.5, 50.6)	-3.1 (-6.6, 0.5)
1-NPV (%)	6.2 (12/194) (3.6, 10.2)	15.3 (44/288) (12.0, 19.0)	-9.1 (-13.4, -4.8)
Prevalens (%)	31.6 (188/594)		
Ytelse Mål	CPR-diagnostisering av ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Differanse
Sensitivitet (%)	94.0 (110/117) (88.2, 97.1)	78.6 (92/117) (70.4, 85.1)	15.4 (7.9, 23.4)
Spesifisitet (%)	39.2 (187/477) (34.9, 43.7)	55.1 (263/477) (50.6, 59.5)	-15.9 (-20.7, -11.0)
PPV (%)	27.5 (110/400) (25.7, 29.2)	30.1 (92/306) (27.1, 32.9)	-2.6 (-5.4, 0.2)
1-NPV (%)	3.6 (7/194) (1.8, 7.0)	8.7 (25/288) (6.2, 11.8)	-5.1 (-8.3, -1.7)
Prevalens (%)	19.7 (117/594)		

Merk: CPR = Central Pathology Review; PPV = positiv prediktiv verdi; NPV = negativ prediktiv verdi; tall i parentes er (n/N) og 2-sidige 95 % konfidensintervaller.

Tabell 29. Ytelsen til CINtec PLUS Cytology Kit vs. Pap-cytologi hos HPV18+-kvinner i alderen 25–65 år.

cobas® 6800/8800 system, HPV18+			
Ytelse Mål	CPR-diagnostisering av ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Differanse
Sensitivitet (%)	83.8 (31/37) (68.9, 92.3)	73.0 (27/37) (57.0, 84.6)	10.8 (-6.7, 27.8)
Spesifisitet (%)	62.7 (205/327) (57.3, 67.8)	73.1 (239/327) (68.0, 77.6)	-10.4 (-16.1, -4.6)
PPV (%)	20.3 (31/153) (16.8, 23.4)	23.5 (27/115) (18.6, 28.2)	-3.2 (-8.2, 1.8)
1-NPV (%)	2.8 (6/211) (1.4, 5.4)	4.0 (10/249) (2.3, 6.3)	-1.2 (-3.6, 1.3)
Prevalens (%)	10.2 (37/364)		
Ytelse Mål	CPR-diagnostisering av ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Differanse
Sensitivitet (%)	87.5 (14/16) (64.0, 96.5)	81.3 (13/16) (57.0, 93.4)	6.3 (-19.6, 31.6)
Spesifisitet (%)	60.1 (209/348) (54.8, 65.1)	70.7 (246/348) (65.7, 75.2)	-10.6 (-16.1, -5.0)
PPV (%)	9.2 (14/153) (6.7, 10.8)	11.3 (13/115) (8.0, 13.9)	-2.2 (-5.2, 0.8)
1-NPV (%)	0.9 (2/211) (0.3, 2.7)	1.2 (3/249) (0.4, 2.7)	-0.3 (-1.7, 1.1)
Prevalens (%)	4.4 (16/364)		
cobas® 4800 system, HPV18+			
Ytelse Mål	CPR-diagnostisering av ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Differanse
Sensitivitet (%)	87.5 (28/32) (71.9, 95.0)	71.9 (23/32) (54.6, 84.4)	15.6 (-3.6, 33.9)
Spesifisitet (%)	53.4 (102/191) (46.3, 60.3)	62.3 (119/191) (55.3, 68.9)	-8.9 (-16.6, -1.0)
PPV (%)	23.9 (28/117) (19.9, 27.6)	24.2 (23/95) (18.8, 29.3)	-0.3 (-5.8, 5.3)
1-NPV (%)	3.8 (4/106) (1.5, 8.2)	7.0 (9/128) (4.0, 11.0)	-3.3 (-8.1, 1.3)
Prevalens (%)	14.3 (32/223)		
Ytelse Mål	CPR-diagnostisering av ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Differanse
Sensitivitet (%)	86.7 (13/15) (62.1, 96.3)	80.0 (12/15) (54.8, 93.0)	6.7 (-20.5, 33.2)
Spesifisitet (%)	50.0 (104/208) (43.3, 56.7)	60.1 (125/208) (53.3, 66.5)	-10.1 (-17.5, -2.5)
PPV (%)	11.1 (13/117) (8.1, 13.2)	12.6 (12/95) (8.8, 15.6)	-1.5 (-5.1, 2.0)
1-NPV (%)	1.9 (2/106) (0.5, 5.2)	2.3 (3/128) (0.8, 5.2)	-0.5 (-3.4, 2.3)
Prevalens (%)	6.7 (15/223)		

Merk: CPR = Central Pathology Review; PPV = positiv prediktiv verdi; NPV = negativ prediktiv verdi; tall i parentes er (n/N) og 2-sidige 95 % konfidensintervaller.

Ytelseegenskaper i populasjonen av cobas® 6800/8800 HPV Test eller cobas® 4800 HPV Test, positive resultater, kvinner 30–65 år med NILM-Pap-cytologiretultater
Ytelsen til CINtec PLUS Cytology Kit for å påvise ≥ CIN2 og ≥ CIN3 hos «12 andre HR HPV+»-kvinner med NILM-Pap-cytologi er vist i Tabell 30.

I populasjonen av cobas® 6800/8800 system, «12 andre HR HPV+»-kvinner med NILM-Pap-cytologi, var sensitiviteten og spesifisiteten for påvisning av ≥ CIN2 henholdsvis 66.7 % og 69.7 % (henholdsvis 62.5 % og 67.8 % for ≥ CIN3). PPV-er i denne gruppen var 13.0 % for ≥ CIN2 og 2.6 % for ≥ CIN3, mens sykdomsrisiko hos kvinner med negative CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (1-NPV) var 3.1 % for ≥ CIN2 og 0.8 % for ≥ CIN3.

I populasjonen av cobas® 4800 system, «12 andre HR HPV+»-kvinner med NILM-Pap-cytologi, var sensitiviteten og spesifisiteten for påvisning av ≥ CIN2 henholdsvis 64.9 % og 71.0 % (henholdsvis 66.7 % og 69.4 % for ≥ CIN3). PPV-er i denne gruppen var 12.0 % for ≥ CIN2 og 2.5 % for ≥ CIN3, mens sykdomsrisiko hos kvinner med negative CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (1-NPV) var 2.9 % for ≥ CIN2 og 0.6 % for ≥ CIN3.

Tabell 30. Ytelsen til CINtec PLUS Cytology Kit hos «12 andre HR HPV+»-kvinner 30–65 år med NILM-cytologi.

Ytelsesmål	cobas® 6800/8800 system, 12 andre HR HPV+/NILM		cobas® 4800 system, 12 andre HR HPV+/NILM	
	CPR-diagnostisering av ≥ CIN2	CPR-diagnostisering av ≥ CIN3	CPR-diagnostisering av ≥ CIN2	CPR-diagnostisering av ≥ CIN3
Sensitivitet (%)	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)
Spesifisitet (%)	69.7 (77/1108) (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)

Ytelsesmål	cobas® 6800/8800 system, 12 andre HR HPV+/NILM		cobas® 4800 system, 12 andre HR HPV+/NILM	
	CPR-diagnostisering av ≥ CIN2	CPR-diagnostisering av ≥ CIN3	CPR-diagnostisering av ≥ CIN2	CPR-diagnostisering av ≥ CIN3
Prevalens (%)	6.3 (75/1183)	1.4 (16/1183)	5.7 (74/1291)	1.2 (15/1291)
PPV (%)	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)
NPV (%)	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-NPV (%)	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)
PLR	2.20 (1.79, 2.59)	1.94 (1.19, 2.58)	2.24 (1.81, 2.65)	2.18 (1.35, 2.82)
NLR	0.48 (0.34, 0.64)	0.55 (0.27, 0.91)	0.49 (0.35, 0.66)	0.48 (0.22, 0.84)
Positivitetsrate (%)	32.6 (386/1183) (30.0, 35.3)		31.1 (401/1291) (28.6, 33.5)	

Merk: CPR = Central Pathology Review; PPV = positiv prediktiv verdi; NPV = negativ prediktiv verdi; PLR = positivt sannsynlighetsratio; NLR = negativt sannsynlighetsratio; tall i parentes er (n/N) og 2-sidige 95 % konfidensintervaller.

Ytelsen til CINtec PLUS Cytology Kit for å påvise ≥ CIN2 og ≥ CIN3 hos HPV16+-kvinner med NILM-Pap-cytologi er vist i Tabell 31.

I populasjonen av cobas® 6800/8800 system, HPV16+-kvinner med NILM-Pap-cytologi, var sensitiviteten og spesifisiteten henholdsvis 76.3 % og 72.5 % for ≥ CIN2, og henholdsvis 75.0 % og 70.5 % for ≥ CIN3. PPV-er i denne gruppen var 23.8 % for ≥ CIN2 og 14.8 % for ≥ CIN3, mens sykdomsrisiko hos kvinner med negative CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (1-NPV) var 3.5 % for ≥ CIN2 og 2.4 % for ≥ CIN3.

I populasjonen av cobas® 4800 system, HPV16+-kvinner med NILM-Pap-cytologi, var sensitiviteten og spesifisiteten henholdsvis 80.6 % og 61.7 % for ≥ CIN2, og henholdsvis 81.8 % og 59.0 % for ≥ CIN3. PPV-er i denne gruppen var 27.9 % for ≥ CIN2 og 17.3 % for ≥ CIN3, mens sykdomsrisiko hos kvinner med negative CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (1-NPV) var 5.5 % for ≥ CIN2 og 3.1 % for ≥ CIN3.

Tabell 31. Ytelsen til CINtec PLUS Cytology Kit hos HPV16+-kvinner 30–65 år med NILM-cytologi.

Ytelsesmål	cobas® 6800/8800 system, HPV16+/NILM		cobas® 4800 system, HPV16+/NILM	
	CPR-diagnostisering av ≥ CIN2	CPR-diagnostisering av ≥ CIN3	CPR-diagnostisering av ≥ CIN2	CPR-diagnostisering av ≥ CIN3
Sensitivitet (%)	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)
Spesifisitet (%)	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)
Prevalens (%)	10.1 (38/376)	6.4 (24/376)	15.5 (36/232)	9.5 (22/232)
PPV (%)	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)
NPV (%)	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-NPV (%)	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)
PLR	2.77 (2.10, 3.49)	2.54 (1.81, 3.24)	2.11 (1.61, 2.64)	2.00 (1.45, 2.50)
NLR	0.33 (0.18, 0.54)	0.35 (0.17, 0.64)	0.31 (0.16, 0.57)	0.31 (0.12, 0.66)
Positivitetsrate (%)	32.4 (122/376) (28.0, 36.9)		44.8 (104/232) (38.7, 50.9)	

Merk: CPR = Central Pathology Review; PPV = positiv prediktiv verdi; NPV = negativ prediktiv verdi; PLR = positivt sannsynlighetsratio; NLR = negativt sannsynlighetsratio; tall i parentes er (n/N) og 2-sidige 95 % konfidensintervaller.

Ytelsen til CINtec PLUS Cytology Kit for å påvise \geq CIN2 og \geq CIN3 hos HPV18+ -kvinner med NILM-Pap-cytologi er vist i Tabell 32.

I populasjonen av cobas® 6800/8800 system, HPV18+ -kvinner med NILM-Pap-cytologi, var sensitiviteten og spesifisiteten henholdsvis 75.0 % og 73.3 % for \geq CIN2, og 66.7 % og 72.1 % for \geq CIN3. PPV-er var henholdsvis 9.7 % og 3.2 % for \geq CIN2 og for \geq CIN3, mens sykdomsrisiko hos kvinner med negative CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (1-NPV) var henholdsvis 1.3 % og 0.6 % for \geq CIN2 og for \geq CIN3.

I populasjonen av cobas® 4800 system, HPV18+ -kvinner med NILM-Pap-cytologi, var sensitiviteten og spesifisiteten henholdsvis 85.7 % og 68.3 % for \geq CIN2, og 66.7 % og 65.7 % for \geq CIN3. PPV-er var henholdsvis 15.8 % og 5.3 % for \geq CIN2 og for \geq CIN3, mens sykdomsrisiko hos kvinner med negative CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (1-NPV) var 1.4 % for begge sykdomstelskelverdier.

Tabell 32. Ytelsen til CINtec PLUS Cytology Kit hos HPV18+ -kvinner 30–65 år med NILM-cytologi.

Ytelsesmål	cobas® 6800/8800 system, HPV18+/NILM		cobas® 4800 system, HPV18+/NILM	
	CPR-diagnostisering av \geq CIN2	CPR-diagnostisering av \geq CIN3	CPR-diagnostisering av \geq CIN2	CPR-diagnostisering av \geq CIN3
Sensitivitet (%)	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)
Spesifisitet (%)	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)
Prevalens (%)	3.7 (8/218)	1.4 (3/218)	6.5 (7/108)	2.8 (3/108)
PPV (%)	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)
NPV (%)	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-NPV (%)	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)
PLR	2.81 (1.49, 3.97)	2.39 (0.73, 3.74)	2.71 (1.46, 3.87)	1.94 (0.59, 3.18)
NLR	0.34 (0.10, 0.81)	0.46 (0.09, 1.11)	0.21 (0.04, 0.76)	0.51 (0.09, 1.24)
Positivitetsrate (%)	28.4 (62/218) (22.6, 34.3)		35.2 (38/108) (26.5, 43.8)	

Merk: CPR = Central Pathology Review; PPV = positiv prediktiv verdi; NPV = negativ prediktiv verdi; PLR = positivt sannsynlighetsratio; NLR = negativt sannsynlighetsratio; tall i parentes er (n/N) og 2-sidige 95 % konfidensintervaller.

FEILSØKING

- Hvis en reagensdispenser ikke dispenserer væske, må primingskammeret eller menisken kontrolleres for fremmedlegemer eller partikler, f.eks. fibre eller presipitater. Hvis dispenseren blokkeres, må den ikke brukes. Kontakt lokal brukerstøtte. Hvis ikke primer du dispenseren på nytt ved å rette dispenseren over en avfallsbeholder, fjern dysenheten og trykk ned på toppen av dispenseren.
- Krystallisering som stammer fra CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate-dispenseren, kan tidvis observeres. Undersøkelser har vist at krystaller ikke interfererer med tolkning av resultater. Hvis det observeres krystaller på objektglass, må dysespissen rengjøres og dispenseren primes for å sikre at krystallrester fjernes. Hvis krystaller vedvarer, må all bruk opphøre. Kontakt lokal brukerstøtte for å skifte dispenser.
- Hvis den positive kontrollen viser svakere farging enn forventet, må du kontrollere om den valgte protokollen samsvarer med den spesifikke prøvetypen. SurePath-cytologi-preparater krever for eksempel lengre cellekondisjoneringstid enn ThinPrep-objektglass eller preparater for konvensjonelle utstryk. Sjekk også at ingen dispenserbeholdere inneholder restmaterialer.
- Hvis den positive kontrollen er negativ, skal den sjekkes for å sikre at objektglasset har riktig strekkodeetikett. Hvis objektglasset er merket på korrekt måte, må du sikre at alle dispenserbeholdere er fri for rester.
- Hvis det observeres høy bakgrunn, må du redusere inkubasjonstidene i fargeprotokollene. Sjekk i tillegg at Reaction Buffer-bulkløsningen ble formulert riktig.
- Hvis det observeres svak farging, må du øke inkubasjonstidene i fargeprotokollene. På et objektglass for konvensjonelle utstryk kan også inkubasjonstiden for cellekondisjonering justeres.
- Det røde presipitatet som brukes til å vise Ki-67-proteinuttrykk, er alkoholløselig. Hvis Ki-67-farging er svak eller ikke til stede, må du sjekke at det ikke ble brukt alkoholholdig hematoxylin, og at den anbefalte etterbehandlingsprosedyren ble fulgt i henhold til instruksjonene for «Etterbehandlingsprosedyre – montering og påføring av dekkglass».
- Hvis prøven vaskes av objektglasset, bør objektglass kontrolleres for å sikre at prøven ble klargjort på riktig måte i henhold til avsnittet Klargjøring av prøven, og at det ble brukt anbefalt type objektglass.

- Du finner korrigerende tiltak i avsnittet Fargingsprosedyre i instrumentets brukerhåndbok eller ved å kontakte lokal brukerstøtte.
- Hvis en RCCM-prøvehette mistes, eller hvis prøvebeholderen lekker, kan det bestilles reservehetter (løse, 250/pose, REF 08037230190 eller 8 brett med 48/eske, REF 06913512001).

REFERANSER

- Kim WY, Sharpless NE. The regulation of INK4/ARF in cancer and aging. *Cell*. 2006 Oct 20;127(2):265-75.
- Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. *Dis Markers*. 2007;23:315-30.
- 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.
- 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.
- 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.
- Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol*. 2000;182:311-22.
- 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.
- Petry KU, Schmidt D, Scherbring S, et al. Triage of Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. *Gynecol Oncol*. 2011;121(3):505-9.
- 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, Hermsen M, et al. Evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology as triage test for high-risk human papillomavirus-positive women. *Mod Pathol.* 2017;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 2000 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.

MERK: Et punktum (punktum/stopp) brukes alltid i dette metodeark som desimalskilletegn for å skille mellom heltalls- og fraksjonsdelen av et desimaltall. Det brukes ikke skilletegn for tusener.

Sammendrag av sikkerhet og ytelse finner du her:

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

Symboler

Ventana bruker følgende symboler og tegn i tillegg til de som er oppført i ISO 15223-1-standarden (for USA: se elabdoc.roche.com/symbols for mer informasjon).



Globalt artikkelnummer

Rx only

For USA: Forsiktig: Føderal lov begrenser denne enheten til å selges av eller på bestilling fra en lege.

REVISJONSHISTORIKK

Rev	Oppdateringer
J	Oppdatert mal og merking. Lagt til BenchMark ULTRA PLUS.

OPPHAVSRETT

VENTANA, BENCHMARK, CINTEC og COBAS er varemerker for Roche. Alle andre produktnavn og varemerker tilhører sine respektive eiere.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

KONTAKTINFORMASJON



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

www.roche.com



0123