

CINtec® PLUS Cytology Kit

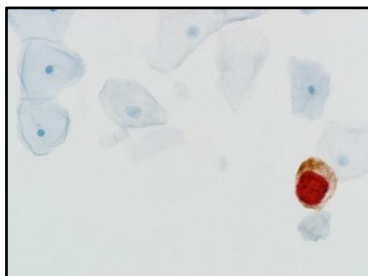
REF

605–100

06889565001

IVD

100



1. pav. Gimdos kaklelio epitelio ląstelė, teigiama dėl p16^{INK4a} (rudos spalvos citoplazminė dėmė) ir Ki-67 (raudonos spalvos branduolio dėmė).

intraepitelinės ląstelės), arba pacientėms, kurių didelės rizikos HPV tyrimo rezultatai yra teigiami.

Šio tyrimo rezultatus gali interpretuoti tik sertifikuotas specialistas, atsižvelgdamas į paciento ligos istoriją ir atliktus papildomus diagnostinius tyrimus.

Gaminys skirtas in vitro diagnostikai (IVD).

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Eukariotinėse ląstelėse ląstelės dalijimosi ciklo eigą reguliuoja sudėtingas ląstelės ciklą reguliuojančių baltymų ekspresijos ir potranslaciinių modifikacijų modelis. Šiame eukariotinių ląstelių ciklo reguliavimo mechanizme pagrindinis vaidmuo tenka baltymui p16^{INK4a}. Jis yra retinoblastomos baltymo (pRb) tarpininkaujamas G1 / S fazės perėjimo kontrolės dalis ir ląstelių diferenciacijos procesų metu sukelia ląstelių ciklo sustabdymą.

Taigi p16^{INK4a} turi antiproliferacinį poveikį įprasto ląstelių ciklo progresavimo metu¹.

Galutinai diferencijuotose epitelio ląstelėse p16^{INK4a} ekspresija sumažėja iki tokio kiekio, kurio paprastai neįmanoma aptikti imunocitocheminiu metodu (ICC)².

Esant gimdos kaklelio displazijai, padidėjusi p16 ekspresija laikoma surogatiniu HPV infekcijų transformavimo biožymeniu, atspindinčiu HPV E6/E7 onkobaltymų sukeltos ląstelių proliferacijos aktyvumą^{2,3,4,5}. p16 aptikimas gimdos kaklelio citologiniuose preparatuose buvo pasiūlytas kaip vertingas papildomas žymuo, skirtas moterims, kurių Pap citologinio tyrimo rezultatai yra nenormalūs, ir kurių HPV tyrimo rezultatai yra teigiami^{3,4,5}. Tačiau p16 specifinis nusidažymas gali būti stebimas atskirose metaplastinėse arba endocervikinėse ląstelėse, kuriose gali vykti p16 ekspresija, joms vykdamas fiziologiskai įprastą, augimą slopinančią ląstelių funkciją, todėl interpretuojant vieno nusidažymo p16 gimdos kaklelio citologinius preparatus reikia nustatyti p16 imunoreaktyvias ląsteles ir toliau klasifikuoti šias ląsteles pagal morfologinių anomalijų požymius^{2,3,4}.

Bendras vienalaikis p16 ir proliferacijos žymens Ki-67 aptikimas toje pačioje ląstelėje naudojant ICC yra vertingas įrankis nustatant displastines gimdos kaklelio ląsteles citologiniuose preparatuose be poreikio jas morfologiškai interpretuoti^{3,7,8}. Ki-67 yra branduolio ir branduolėlio baltymas, tvirtai susijęs su ląstelės proliferacija, ir standartiniais imunodažymo metodais ramybės būsenos (G0) ląstelėse jis neaptinkamas⁶. Esant įprastoms fiziologinėms sąlygoms, su proliferacija susijusio baltymo Ki-67 ekspresija negali egzistuoti kartu su antiproliferacinį poveikį turinčiu baltymu p16. Priešingai – ląstelėse, kuriose retinoblastomos baltymo (pRb) medijuojamas kelias, valdantis ląstelės ciklo progresiją, yra panaikinas prieš p16 naviko slopinimo funkciją (pvz., epitelio ląstelėse, kuriose vyksta didelės rizikos HPV E6/E7 onkobaltymų ekspresija), gali vykti proliferacija ir dėl to vykti Ki-67 ekspresija esant funkciniam p16^{2,3}.

Todėl atskirų ląstelių aptikimas gimdos kaklelio citologiniuose preparatuose, kuriose vienu metu vyksta bendra p16 ir Ki-67 ekspresija, gali būti nuo morfologijos nepriklausomas

ląstelių, pasižyminčių ląstelės ciklo disreguliacija, indikatorius. Ši p16 ir Ki-67 bendra ekspresija gali būti naudojama kaip transformuojančios HPV infekcijos ir gimdos kaklelio intraepitelinės neoplazijos indikatorius^{2,3}. Pastaruoju metu buvo atlikta ir paskelbta daug tyrimų, kuriuose buvo vertinama dvigubo nusidažymo p16 / Ki-67 citologinė analizė ir jos klinikinis naudingumas nustatant moteris, kurias, remiantis įvairiais pirminės gimdos kaklelio vėžio patikros rezultatais, būtų naudinga nukreipti kolposkopijai. Šie rezultatai apima moterų, kurioms Pap citologiniu tyrimu nustatyta „Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance“ (ASC-US) arba „Low grade Squamous Intraepithelial Lesion“ (LSIL), moterų, kurių didelės rizikos HPV tyrimo rezultatai yra teigiami atlikus pirminę HPV patikrą, arba moterų, kurių „Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy“ (NILM) / HPV tyrimo rezultatai yra teigiami klinikinėse įstaigose, kuriose pirminiam patikrinimui naudojamas bendras Pap citologinis / HPV tyrimas, triažą.^{7–25}

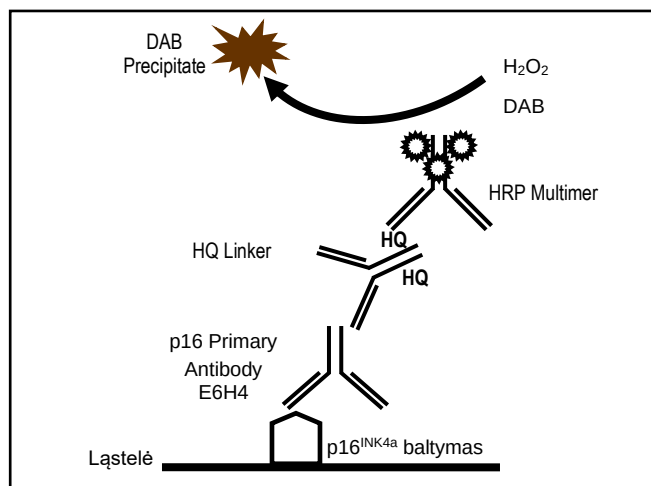
PROCEDŪROS PRINCIPAS

„CINtec PLUS Cytology Kit“ yra reagentų rinkinys, skirtas p16^{INK4a} ir Ki-67 baltymams vienu metu imunocitochemiškai aptikti citologiniuose mėginiuose, paimtuose iš gimdos kaklelio. Baltymai aptinkami naudojant paruoštą naudoti pirminių monokloninių antikūnų mišinį, kuriame yra pelės monokloninis antikūnas, nukreiptas prieš žmogaus p16^{INK4a} baltymą (klonas E6H4™), ir pirminis rekombinantinis triušio antikūnas, nukreiptas prieš žmogaus Ki-67 baltymą (klonas 274-11AC3V1). Po ląstelių kondicionavimo, endogeninės peroksidazės aktyvumo slopinimo ir inkubacijos naudojant pirminių antikūnų mišinį tyrime naudojamos dvi paruoštos naudoti aptikimo sistemos, optimizuotos naudoti su gimdos kaklelio citologiniais mėginiais:

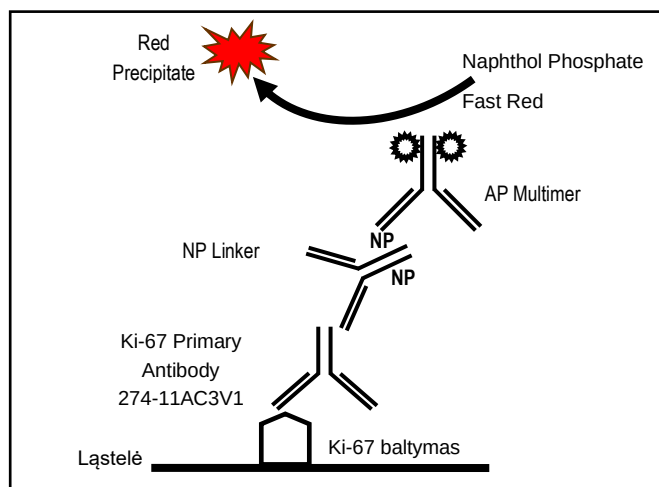
- Ožkos antrinis antikūnas prieš pelės, kovalentiškai prijungtas prie HQ hapteno (patentuotas haptenas) ir anti-HQ hapteno, ir tretinis antikūnas prieš HQ hapteno, konjuguotas su krienų peroksidazės (HRP) tretiniu antikūnu, optimizuotas pelės monokloninio antikūno klonui E6H4 aptikti;
- Ožkos antrinis antikūnas prieš triušio, kovalentiškai prijungtas prie NP hapteno (patentuotas haptenas) ir tretinis antikūnas prieš NP hapteno, konjuguotas su šarminės fotostazės (AP) tretiniu antikūnu, optimizuotas triušio rekombinantinio antikūno klonui 274-11AC3V1 aptikti.

Chromogeninės reakcijos pagrįstos HRP medijuojama 3,3'-diaminobenzidino tetrahidrochlorido (DAB) konversija ir AP medijuojama „Fast Red“ su „Naphthol Phosphate“ konversija, dėl kurių atitinkamai atsiranda rudos nuosėdos p16^{INK4a} antigeno vietoje ir raudonos nuosėdos Ki-67 antigeno vietoje.

Po automatinio kontrastinio dažymo ir dažymo mėlynais, atliekama dviejų etapų paruošimo procedūra. Pirmiausia objektinis stiklis pritvirtinamas naudojant vandeninę paruošimo terpę. Vėliau objektinis stiklis padengiamas nuolatinio paruošimo terpe. Dažymo rezultatai vertinami šviesos mikroskopija.



2. pav. Žmogaus p16^{INK4a} baltymo aptikimas.



3. pav. Žmogaus Ki-67 baltymo aptikimas.

RINKINYJE ESANTI MEDŽIAGA

„CINtec PLUS Cytology Kit“ yra pakankamai reagentų 100 tyrimų atlikti.

Vienas 10 mL dozatorius	„CINtec PLUS Cytology Primary Antibody Cocktail“ (p16 / Ki-67) sudaro pelės monokloninio antikūno klonas E6H4, nukreipto prieš žmogaus p16 ^{INK4a} baltymą, ir pirminio rekombinantinio triušio antikūno klonas 274-11AC3V1, nukreipto prieš žmogaus Ki-67 baltymą, mišinys (<5 µg/mL bendro antikūno kiekio) buferiniame tirpale, kuriame yra baltymo su konservantu „ProClin 300“.
Vienas 10 mL dozatorius	„CINtec PLUS Cytology Red anti-Rabbit NP Linker“ sudėtyje yra NP žymėto ožkos prieš triušio IgG (< 10 µg/mL; NP yra patentuotas haptenas, kovalentiškai prijungtas prie ožkos antikūno) buferiniame tirpale, kuriame yra baltymo su konservantu „ProClin 300“.
Vienas 10 mL dozatorius	„CINtec PLUS Cytology Red AP Multimer“ sudėtyje yra pelės monokloninis AP žymėtas tretinis antikūnas prieš NP (< 20 µg/mL) buferiniame tirpale, kuriame yra baltymo su konservantu „ProClin 300“.
Vienas 10 mL dozatorius	„CINtec PLUS Cytology Red Naphthol Phosphate“ sudėtyje yra „Naphthol Phosphate“ (< 1 %) ir konservanto „ProClin 300“.
Vienas 10 mL dozatorius	„CINtec PLUS Cytology Fast Red“ sudėtyje yra „Fast Red“ (< 1 %) acetatiniame buferiniame tirpale su konservantu „ProClin 300“.
Vienas 10 mL dozatorius	„CINtec PLUS Cytology DAB Peroxidase Inhibitor“ sudėtyje yra vandenilio peroksido tirpalo (< 5 %).
Vienas 10 mL dozatorius	„CINtec PLUS Cytology DAB anti-Mouse HQ Linker“ sudėtyje yra HQ žymėto ožkos prieš pelės IgG (< 40 µg/mL; HQ yra patentuotas haptenas, kovalentiškai prijungtas prie ožkos antikūno) buferiniame tirpale, kurio sudėtyje yra baltymo su konservantu „ProClin 300“.
Vienas 10 mL dozatorius	„CINtec PLUS Cytology DAB HRP Multimer“ sudėtyje yra pelės anti-HQ monokloninis žymėtas HRP tretinis antikūnas (< 10 µg/mL) buferiniame tirpale, kuriame yra baltymo su konservantu „ProClin 300“.
Vienas 10 mL dozatorius	„CINtec PLUS Cytology DAB“ sudėtyje yra 3,3'-diaminobenzidino tetrahydrochlorido (< 1 %) patentuotame stabilizatoriaus tirpale su patentuotu konservantu.
Vienas 10 mL dozatorius	„CINtec PLUS Cytology DAB H ₂ O ₂ “ sudėtyje yra vandenilio peroksido (< 1 %) fosfato buferiniame tirpale.

ATKŪRIMAS, MAIŠYMAS, SKIEDIMAS, TITRAVIMAS

„CINtec PLUS Cytology Kit“ optimizuotas naudoti su „BenchMark IHC/ISH“ prietaisais. Rinkinio reagentų nereikia atkurti, maišyti, skiesti arba titruoti.

Nukrypęs nuo rekomenduojamų gimdos kaklelio citologinių mėginių fiksavimo ir tolesnio apdorojimo procedūrų, rezultatai gali labai skirtis, todėl būtina reguliariai atlikti vidinę kontrolę.

Prireikus daugiau informacijos apie kontrolines medžiagas, žr. skyrių Kokybės kontrolė.

REIKALINGOS, TAČIAU Į RINKINĮ NEĮEINANČIOS MEDŽIAGOS

Dažymo reagentai, tokie kaip VENTANA aptikimo rinkiniai ir pagalbiniai komponentai, įskaitant neigiamą ir teigiamą audinio kontrolinius stiklėlius, į rinkinį neįeina.

Kai kurie metodo lape išvardyti gaminiai gali būti neprieinami visuose regionuose.

Kreipkitės į vietinį pagalbos tarnybos atstovą.

Toliau išvardytos medžiagos ir reagentai neįeina į aptikimo rinkinį, tačiau yra reikalingi dažymui atlikti.

1. Tinkamos kontrolės priemonės (neprivaloma, žr. kokybės kontrolės skyrių)
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. Denatūruotas „Reagent Grade Ethanol“ (grynumas ≥ 95 %)
12. „BenchMark IHC/ISH“ prietaisais
13. Rekomenduojama naudoti „Superfrost Plus“ mikroskopinius objektyvinius stiklėlius („Thermo Fisher Scientific“) įprastiesiems tepinėliams
14. Mikroskopiniai objektyviniai stiklėliai „ThinPrep Arcless“ („Hologic“ REF 70126-002) arba „Superfrost Plus“ (VWR REF 48311-703)
15. „Roche Cell Collection Medium“ (REF 07994753190)
16. „PreservCyt® Solution“ („Hologic“ REF 234004)
17. „BD SurePath PreCoat“ objektyviniai stiklėliai (įtraukti į „SurePath“ GYN rinkinį)
18. „SurePath™ Preservative Fluid“ (BD REF 490522)
19. „CC/Mount“ vandeninė paruošimo terpė („Roche“ REF 7342098001; „Diagnostic BioSystems“ dalies Nr. K 002; „Sigma-Aldrich“ dalies Nr. C9368)
20. Pasirinktinai: džiovimo spinta, galinti palaikyti 60 °C ± 5 °C temperatūrą
21. Bendrosios paskirties laboratorinė įranga

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Po pristatymo ir nenaudojant, gaminį reikia laikyti 2–8 °C temperatūroje. Neužšaldyti. Naudotojas turi patvirtinti bet kokią laikymo sąlygą, kurios nenurodytos metodo lape. Aptikimo rinkinį galima naudoti iškart po išėmimo iš šaldytuvo.

Norėdami užtikrinti tinkamą reagento tiekimą ir stabilumą, pakeiskite dozatorių kamštėlius po kiekvieno naudojimo ir nedelsdami įdėkite dozatorių į šaldytuvą vertikaliaje padėtyje.

Kiekvienas aptikimo rinkinys turi galiojimo terminą. Tinkamai laikomas gaminy yra stabilus iki etiketėje nurodytos datos. Nenaudokite gaminio pasibaigus galiojimo terminui, kuris taikomas nustatytam laikymo metodui. Nėra jokių aiškių šio gaminio nestabilumo požymių, todėl kartu su nežinomais mėginiais reikia tirti teigiamą kontrolinę medžiagą. Jei yra reagento nestabilumo požymių, nedelsdami kreipkitės į savo vietinį pagalbos tarnybos atstovą.

ISPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Skirta in vitro diagnostikai (IVD).
2. Gali naudoti tik profesionalai.
3. Neviršykite nurodyto tyrimų skaičiaus.
4. Nenaudokite gaminio, jei pažeista bet kurios jo sudedamosios dalies pakuotė. Jei pakuotė pažeista arba sudedamosios dalys sugadintos, nedelsdami praneškite apie tai vietiniam pagalbos tarnybos atstovui.
5. „ProClin 300“ tirpalas šiame tirpale naudojamas kaip konservantas. Jis klasifikuojamas kaip dirginamoji medžiaga ir patekęs ant odos gali sukelti padidėjusį odos jautrumą. Dirbdami su šiuo reagentu imkitės reikiamų atsargumo priemonių.

- Venkite reagentų patekimo į akis, ant odos ir gleivinių. Dėvėkite apsauginius drabužius ir pirštines.
- Žmonių ir gyvūnų kilmės medžiagos turi būti tvarkomos kaip galimai biologiškai kenksmingos medžiagos ir likviduojamos imantis tinkamų atsargumo priemonių. Medžiagoms paveikus žmogaus organizmą, reikia vadovautis atsakingųjų institucijų pateiktomis sveikatos direktyvomis.^{26,27}
 - Dirbdami su reagentais imkitės reikiamų atsargumo priemonių. Venkite reagentų patekimo į akis, ant odos ir gleivinių. Stenkitės neįkvėpti reagentų. Kai dirbate su galimais kancerogenais ar toksiškomis medžiagomis, mūvėkite vienkartinės pirštines ir dėvėkite tinkamus apsauginius drabužius.
 - Jeigu reagento pateko į jautrias vietas, plaukite dideliu kiekiu vandens.
 - Saugokite reagentus nuo užteršimo mikrobais, nes dėl jų gali būti gauti klaidingi rezultatai.
 - Prireikus daugiau informacijos apie šio gaminio naudojimą, žr. „BenchMark IHC/ISH“ prietaiso naudotojo vadovą ir visų reikiamų komponentų naudojimo instrukcijas, kurias galite rasti navifyportal.roche.com.
 - Dėl rekomenduojamų šalinimo metodų kreipkitės į vietas ir (arba) valstybės institucijas.
 - Tvarkydami ir šalindami citologinius mėginius, įskaitant visus mėginius prieš fiksaciją ir po jos, taip pat visas su jais susidūrusias medžiagas, laikykite saugos priemonių, taikomų dirbant su galimais užkrečiamomis medžiagomis, taip pat taikomų atliekų šalinimo reikalavimų.
 - Gaminio saugos etiketės daugiausia paremtos ES GHS gairėmis. Saugos duomenų lapai pateikiami profesionaliems naudotojams paprašius.
 - Norėdami pranešti apie pavojingus incidentus, susijusius su šiuo gaminiu, susisieki su vietiniu „Roche“ atstovu ir valstybės narės ar šalies, kurioje gyvena naudotojas, kompetentinga institucija.

Aptikimo rinkinyje gali būti komponentų, pagal reglamentą (EB) Nr. 1272/2008 klasifikuojamų taip:

1. lent. Informacija apie pavojus.

Pavojus	Kodas	Frazė
	H317	Gali sukelti alerginę odos reakciją.
	H350	Gali sukelti vėžį.
	H412	Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.
	P201	Prieš naudojimą gauti specialias instrukcijas.
	P261	Neįkvėpkite rūko ar garų.
	P273	Saugoti, kad nepatektų į aplinką.
	P280	Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių / veido / klausos apsaugos priemones.
	P308 + P313	Esant sąlyčiui arba jeigu numanomas sąlytis: kreiptis medicininės konsultacijos / pagalbos.
	P333 + P313	Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis medicininės konsultacijos / pagalbos.

Šiame gaminyje yra CAS Nr.:

- 868272-85-9: 3,3'-diaminobenzidino tetrahydrochlorido hidratas;
- 2682-20-4: 2-metil-2H-izotiazol-3-onas;
- 55965-84-9, reakcijos masė: 5-chlor-2-metil-2H-izotiazol-3-onas ir 2-metil-2H-izotiazol-3-onas (3 : 1).

MĖGINIO PARUOŠIMAS

Citologiniai mėginiai turi būti tinkamai tvarkomi, kad būtų išsaugoti imunocitocheminėms procedūroms. Visiems mėginiams turėtų būti taikomi standartiniai ląstelių apdorojimo metodai.

Kad būtų išvengta tokių elementų kaip kraujas ir gleivės ir būtų užtikrintas tinkamas mėginio kiekis pagal „Bethesda Guidelines“²⁸, gydytojui turėtų būti laikytis rekomenduojamų mėginio ėmimo metodų.

Su „CINtec PLUS Cytology Kit“ galima naudoti šiuos objektinių stiklelių paruošimo metodus:

- „ThinPrep“ („Hologic Inc.“) objektiniai stikliai, paruošti „ThinPrep 2000“ arba „5000 Processor“ („Hologic Inc.“), naudojant „ThinPrep Arcless Microscope“ objektinius stiklelius arba „Superfrost Plus“ objektinius stiklelius pagal gamintojo rekomendacijas;
- „BD SurePath“ („BD Diagnostics“) objektiniai stikliai, paruošti pagal gamintojo rekomendacijas.
- Rankiniu būdu paruošti objektiniai stikliai (įprasti tepinėlių objektiniai stikliai)

Rekomenduojama kartu su pacientų mėginiais atlikti atitinkamas kontrolines procedūras (daugiau informacijos rasite kokybės kontrolės skyriuje).

„Roche Cell Collection Medium“ mėginių paruošimas

Citologinius mėginius, esančius „Roche Cell Collection Medium (RCCM)“, skirtus imunocitocheminiam dažymui naudojant „CINtec PLUS Cytology Kit“, galima laikyti 15–30 °C temperatūroje 6 savaites, paskui dar 12 savaičių šaldytuve 2–8 °C temperatūroje.

Imunocitocheminiam dažymui naudojant „CINtec PLUS Cytology Kit“ „BenchMark IHC/ISH“ prietaisuose reikalingi „ThinPrep Arcless Microscope“ arba „Superfrost Plus“ objektiniai stikliai.

Objektinių stiklelių paruošimas iš mėginių, surinktų „Roche Cell Collection Medium“ terpėje, naudojant „ThinPrep 2000 Processor“

Objektiniai stikliai ruošiami iš mėginių, surinktų „Roche Cell Collection Medium“ terpėje, naudojant „ThinPrep 2000 Processor“. Baigus „ThinPrep 2000 Processor“ procesą, apdorotas objektinis stiklis įdedamas į fiksatyvo buteliuką, kuriame yra ≥ 95 % reagentinio etanolio tirpalo. Išimkite buteliuką iš „ThinPrep 2000 Processor“ fiksatyvo vonelės laikiklio ir perkeltite apdorotą objektinį stiklį iš buteliuko į objektinio stiklio talpyklą, pripildytą ≥ 95 % reagentinio etanolio tirpalo. Inkubuokite objektinį (-ius) stiklį (-ius) etanolio tirpale nuo 15 iki 60 minučių. Pakeiskite etanolio tirpalą fiksatyvo buteliuke ir objektinių stiklelių kibirėlyje kas 20 paruoštų objektinių stiklelių. Pasibaigus inkubacijai išimkite objektinį (-ius) stiklį (-ius) iš etanolio tirpalo ir bent 60 minučių džiovinkite horizontaliai ant lygaus paviršiaus. Išdžiovintus objektinius stiklelius galima laikyti kambario temperatūroje, apsaugotus nuo šviesos, ir juos reikia nudažyti su „CINtec PLUS Cytology Kit“ per 7 dienas nuo paruošimo.

Objektinių stiklelių paruošimas iš mėginių, surinktų „Roche Cell Collection Medium“ terpėje, naudojant „ThinPrep 5000 Processor“

Objektiniai stikliai ruošiami iš mėginių, surinktų „Roche Cell Collection Medium“ terpėje, naudojant „ThinPrep 5000 Processor“. Baigus „ThinPrep 5000 Processor“ procesą, apdoroti objektiniai stikliai dedami į objektinių stiklelių stovą, kuris panardinamas į ≥ 95 % reagentinio etanolio tirpalo fiksatyvo vonelę. Išimkite fiksatyvo vonelę arba objektinių stiklelių kibirėlį iš „ThinPrep 5000 Processor“ ir papildomai inkubuokite nuo 15 iki 60 minučių. Po kiekvienos serijos pakeiskite etanolio tirpalą, esantį objektinių stiklelių kibirėlyje. Pasibaigus inkubacijai išimkite objektinius stiklelius iš etanolio tirpalo ir bent 60 minučių džiovinkite horizontaliai ant lygaus paviršiaus. Išdžiovintus objektinius stiklelius galima laikyti kambario temperatūroje, apsaugotus nuo šviesos, ir juos reikia nudažyti su „CINtec PLUS Cytology Kit“ per 7 dienas nuo paruošimo.

Prieš imunocitocheminį dažymą su „CINtec PLUS Cytology Kit“ nuimkite originalią objektinio stiklio etiketę, naudotą „ThinPrep 5000 Processor“.

PreservCyt mėginio paruošimas

Citologinį mėginį, esantį „PreservCyt Solution (PC)“, skirtą imunocitocheminiam dažymui naudojant „CINtec PLUS Cytology Kit“, galima laikyti 15–30 °C temperatūroje 6 savaites, po to dar 12 savaičių šaldytuve 2–8 °C temperatūroje.

Imunocitocheminiam dažymui naudojant „CINtec PLUS Cytology Kit“ „BenchMark IHC/ISH“ prietaisuose reikalingi „ThinPrep Arcless Microscope“ arba „Superfrost Plus“ objektiniai stikliai.

„Slide Preparation“ iš surinktų „PreservCyt“ mėginių, naudojant „ThinPrep 2000 Processor“

Objektiniai stikliai ruošiami iš surinktų „PreservCyt“ mėginių, naudojant „ThinPrep 2000 Processor“. Baigus „ThinPrep 2000 Processor“ procesą, apdorotas objektinis stiklis įdedamas į fiksatyvo buteliuką, kuriame yra ≥ 95 % reagentinio etanolio tirpalo. Išimkite buteliuką iš „ThinPrep 2000 Processor“ fiksatyvo vonelės laikiklio ir perkeltite apdorotą objektinį stiklį iš buteliuko į objektinio stiklio talpyklą, pripildytą ≥ 95 % reagentinio etanolio tirpalo. Inkubuokite objektinį (-ius) stiklį (-ius) etanolio tirpale nuo 15 iki 60 minučių. Pakeiskite etanolio tirpalą fiksatyvo buteliuke ir objektinių stiklelių kibirėlyje kas 20 paruoštų objektinių stiklelių. Pasibaigus inkubacijai išimkite objektinį (-ius) stiklį (-ius) iš

etanolio tirpalo ir bent 60 minučių džiovinkite horizontaliai ant lygaus paviršiaus. Išdžiovintus objektnius stiklelius galima laikyti 15–30 °C temperatūroje, apsaugotus nuo šviesos, ir juos reikia nudažyti su „CINtec PLUS Cytology Kit“ per 7 dienas nuo paruošimo.

„Slide Preparation“ iš surinktų „PreservCyt“ mėginių, naudojant „ThinPrep 5000 Processor“

Objektniai stiklėliai ruošiami iš surinktų „PreservCyt“ mėginių, naudojant „ThinPrep 5000 Processor“. Baigus „ThinPrep 5000 Processor“ procesą, apdoroti objektniai stiklėliai dedami į objektnių stiklėlių stovą, kuris panardinamas į ≥ 95 % reagentinio etanolio tirpalo fiksavimo vonelę. Išimkite fiksavimo vonelę arba objektnių stiklėlių kibirėlį iš „ThinPrep 5000 Processor“ ir papildomai inkubuokite nuo 15 iki 60 minučių. Po kiekvienos serijos pakeiskite etanolio tirpalą, esantį objektnių stiklėlių kibirėlyje. Pasibaigus inkubacijai išimkite objektnius stiklelius iš etanolio tirpalo ir bent 60 minučių džiovinkite horizontaliai ant lygaus paviršiaus. Išdžiovintus objektnius stiklelius galima laikyti kambario temperatūroje, apsaugotus nuo šviesos, ir juos reikia nudažyti su „CINtec PLUS Cytology Kit“ per 7 dienas nuo paruošimo.

Prieš imunocitocheminį dažymą su „CINtec PLUS Cytology Kit“ nuimkite originalią objektnio stiklėlio etiketę, naudotą „ThinPrep 5000 Processor“.

BD SurePath mėginio paruošimas

Sveikatos priežiūros specialisto paimtus citologinius mėginius, pakartotinai ištirpintus „SurePath Preservative Fluid“, skirtus imunocitocheminiam dažymui naudojant „CINtec PLUS Cytology Kit“, galima laikyti iki 4 savaičių 15–30 °C temperatūroje arba 6 mėnesius šaldytuve 2–10 °C temperatūroje.

„BD SurePath Slide Preparation“ iškart po Pap objektnio stiklėlio apdorojimo

Paruošus praturtintas ląstelių nuosėdas, skirtas paruošti objektnį stiklėlį Pap dažymui, jas galima iš karto naudoti ruošiant antrąjį objektnį stiklėlį, kuris bus dažomas naudojant „CINtec PLUS Cytology Kit“. Laikykitės gamintojo rekomendacijų dėl „Slide Preparation“ (2 parinktis) GYN mėginiam „PrepStain™“ prietaise. Meniu parinktyje „Change Sample/Stain Parameters“ (keisti mėginio / dažymo parametrus) resuspensijos tūris turi būti pakeistas į 0 mL.

„BD SurePath Slide Preparation“ iš užkonservuotų ląstelių nuosėdų

Praturtintas ląstelių nuosėdas galima užkonservuoti įpylus maždaug 2 mL „SurePath Preservative Fluid“ ir uždarius mėgintuvėlius laikymui (žr. gamintojo instrukcijas). Nuo mėginio paėmimo datos ląstelių nuosėdos, kurios buvo vėl suspenduotos konservante, gali būti laikomos iki 4 savaičių 15–30 °C temperatūroje arba 6 mėnesius šaldytuve 2–10 °C temperatūroje. Norėdami apdoroti objektnį stiklėlį „CINtec PLUS Cytology Kit“, pirmiausia 60 minučių palaikykite mėginį kambario temperatūroje. Pradėkite nuo GYN sodrinimo proceso antro centrifugavimo etapo ir tęskite atlikdami likusius išankstinio apdorojimo etapus, kaip aprašyta užkonservuotų ląstelių granulių pakartotinio apdorojimo gamintojo instrukcijoje. Laikykitės gamintojo rekomendacijų dėl „Slide Preparation“ (2 parinktis) GYN mėginiam „PrepStain“ prietaise.

Naudodami visas pirmiau išvardytas paruošimo parinktis, baigę mėginio perkėlimo etapą, išimkite objektnių stiklėlių stovą iš PrepStain prietaiso. Apverskite stovą, kad skystis būtų išpiltas. Į kiekvieną nusodinimo kamerą pipete įpilkite po 2 mL ≥ 95 % reagentinio etanolio tirpalo ir nedelsdami dekantukite. Antrą kartą nuskalaukite 2 mL ≥ 95 % reagentinio etanolio tirpalo ir inkubuokite 10 minučių. Dekantuokite antrą kartą, apversdami stovą. Nuimkite nusodinimo kameras nuo objektnių stiklėlių ir leiskite objektniams stiklėliams džioti horizontaliai ant lygaus paviršiaus ne mažiau kaip 60 minučių. Išdžiovintus objektnius stiklelius galima laikyti kambario temperatūroje, apsaugotus nuo šviesos, ir juos reikia nudažyti su „CINtec PLUS Cytology Kit“ per 7 dienas nuo paruošimo.

Įprastų tepinėlių naudojimas

Įprasti tepinėliai turėtų būti fiksuojami citologiniu aerosoliniu fiksacijos reagentu, kurio sudėtyje yra polietilenglikolio (pvz., „Safetex Cytology Fixative“, „Andwin Scientific“), iš karto po mėginio paėmimo. Aerosoliniu būdu užfiksuotus įprastus tepinėlių objektnius stiklelius galima laikyti kambario temperatūroje, apsaugotus nuo šviesos, ir juos reikia nudažyti su „CINtec PLUS Cytology Kit“ per 7 dienas nuo paruošimo.

Prieš dedant objektnius stiklelius į „BenchMark IHC/ISH“ prietaisą nereikia jokio tolimesnio išankstinio apdorojimo.

DAŽYMO PROCEDŪRA

„CINtec PLUS Cytology Kit“ sukurtas naudoti „BenchMark IHC/ISH“ prietaisuose kartu su VENTANA pagalbiniais reagentais ir priedais.

„CINtec PLUS Cytology Kit“ buvo optimizuotas pagal 2, 3 ir 4 lentelėse nurodytus parametrus; naudotojas turi patvirtinti su šiuo rinkiniu gautus rezultatus.

Automatizuotų protokolų parametrus galima peržiūrėti, išspausdinti ir taisyti pagal prietaiso naudotojo vadovę pateiktas instrukcijas.

2. lent. Rekomenduojamas dažymo protokolai, skirtas „ThinPrep“, „SurePath“ ir įprastiems tepinėlių objektniams stiklėliams, paruoštiems naudojant „BenchMark GX“ prietaisą.

Dažymo procedūra	GX CINtec PLUS Cytology		
	„Slide Preparation“ tipas		
	RCCM / „ThinPrep“	„SurePath“	Įprasti
„ThinPrep“	Pasirinkta	Nepasirinkta	Nepasirinkta
„SurePath“	Nepasirinkta	Pasirinkta	Nepasirinkta
Kita	Nepasirinkta	Nepasirinkta	Pasirinkta
Cell Conditioning Option	Nepasirinkti	Nepasirinkti	16 min.
Antikūnų įtraukimo laikas	16 min.	20 min.	16 min.
„HQ Linker Inc“ laikas	12 min.	16 min.	12 min.
„HRP Multimer Inc“	6 min.	8 min.	8 min.
„NP Linker Inc“ laikas	8 min.	16 min.	8 min.
„AP Multimer Inc“ laikas	8 min.	8 min.	8 min.
Hematoxylin	8 min.	8 min.	8 min.
„Bluing“	4 min.	4 min.	4 min.

3. lent. Rekomenduojamas dažymo protokolai, taikomas „ThinPrep“, „SurePath“ ir įprastiems tepinėlių objektniams stiklėliams, paruoštiems „BenchMark XT“ prietaise.

Dažymo procedūra	XT CINtec PLUS Cytology		
	„Slide Preparation“ tipas		
	RCCM / „ThinPrep“	„SurePath“	Įprasti
„ThinPrep“	Pasirinkta	Nepasirinkta	Nepasirinkta
„SurePath“	Nepasirinkta	Pasirinkta	Nepasirinkta
Kita	Nepasirinkta	Nepasirinkta	Pasirinkta
Cell Conditioning Option	Nepasirinkti	Nepasirinkti	16 min.
Antikūnų įtraukimo laikas	16 min.	20 min.	16 min.
„HQ Linker Inc“ laikas	12 min.	16 min.	12 min.
„HRP Multimer Inc“ laikas	8 min.	8 min.	8 min.
„NP Linker Inc“ laikas	8 min.	16 min.	8 min.
„AP Multimer Inc“ laikas	8 min.	8 min.	8 min.
Hematoxylin	8 min.	8 min.	8 min.
„Bluing“	4 min.	4 min.	4 min.

4. lent. Rekomenduojamas dažymo protokolas, taikomas „ThinPrep“, „SurePath“ ir įprastiems tepinėlių objektnius stikliams, paruoštiems „BenchMark ULTRA“ arba „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisuose.

Dažymo procedūra	U CINtec PLUS Cytology		
Pasirinktiniai variantai	„Slide Preparation“ tipas		
	RCCM / „ThinPrep“	„SurePath“	Įprasti
„ThinPrep“	Pasirinkta	Nepasirinkta	Nepasirinkta
„SurePath“	Nepasirinkta	Pasirinkta	Nepasirinkta
Kita	Nepasirinkta	Nepasirinkta	Pasirinkta
Cell Conditioning Option	Nepasirinktinė	Nepasirinktinė	16 min.
Antikūnų įtraukimo laikas	16 min.	16 min.	16 min.
„HQ Linker Inc“ laikas	12 min.	16 min.	12 min.
„HRP Multimer Inc“ laikas	8 min.	8 min.	8 min.
„NP Linker Inc“ laikas	8 min.	16 min.	8 min.
„AP Multimer Inc“ laikas	8 min.	8 min.	8 min.
Hematoxylin	8 min.	8 min.	8 min.
„Bling“	4 min.	4 min.	4 min.

PROCEDŪRA PO APDOROJIMO – RUOŠIMAS IR DENGIAMŲJŲ STIKLELIŲ UŽDĖJIMAS

Norint išlaikyti optimalų jautrumą ir išvengti chromogenų išblukimo, reikia atlikti dviejų etapų paruošimo procedūrą.

Išimkite objektnius stiklius iš „BenchMark IHC/ISH“ prietaiso ir švelniai išmaišykite bei nuskalaukite vandentiekio, dejonizuotu arba distiliuotu vandeniu bei silpnu indų ploviklio tirpalu, kol LCS bus visiškai pašalintas nuo objektnių stiklelių.

PASTABA. Neleiskite, kad vanduo tekėtų tiesiogiai ant objektnių stiklelių viršaus. Paleiskite vandenį minimalia jėga.

Objektniai stikliai bus ruošiami pagal dviejų etapų protokolą, o šie veiksmai turi būti atliekami nuosekliai.

Vandeninis ruošimas:

1. Inkubuokite objektnius stiklius distiliuotame arba dejonizuotame vandenyje bent 1 min.
2. Objektniai stikliai, kurie nėra dengiami, turi likti distiliuotame arba dejonizuotame vandenyje, kol ant kitų objektnių stiklelių bus naudojama „CC/Mount“ vandeninė paruošimo terpė.
3. Išimkite vieną objektnį stiklį iš distiliuoto arba dejonizuoto vandens ir atsargiai nuvalykite jo galinę pusę popieriniu rankšluosčiu, kad pašalintumėte vandens perteklių. Nešalinkite vandens nuo objektnio stiklio priekinės dalies (mėginio pusės).
4. Laikykite objektnį stiklį nedideliu kampu ir užlašinkite 4–6 lašus „CC/Mount“ vandeninės paruošimo terpės ant „ThinPrep“ arba „SurePath“ objektnio stiklio bei 8 lašus ant įprasto tepinėlio objektnio stiklio. Stenkitės, kad nesusidarytų oro burbuliukų. Kad nesusidarytų burbuliukų, pirmąjį lašą galima užlašinti ant popierinio rankšluosčio prieš dedant „CC/Mount“ ant objektnio stiklio mėginio paruošimo vietos.
5. Švelniai pakreipkite ir pasukite objektnį stiklį, kad susidarytų plonas paruošimo terpės sluoksnis, visiškai dengiantis mėginio paruošimo sritį (dar neuždėkite stiklio ar plėvelės dengiamojo stiklio); vizualiai patikrinkite paruošimo terpės pasiskirstymą ant objektnio stiklio.
6. Nuvalykite „CC/Mount“ vandeninės paruošimo terpės perteklių nuo objektnio stiklio galinės pusės ir kraštų. Jei reikia, naudokite drėgną popierinį rankšluostį.
7. Džiovinimui paruoštus objektnius stiklius padėkite horizontalioje padėtyje.
 - Paruoštus „ThinPrep“ arba „SurePath“ objektnius stiklius inkubuokite 1 valandą 37–60 °C temperatūroje arba per naktį kambario temperatūroje.

- Įprastus tepinėlių objektnius stiklius inkubuokite 4 valandas 37 °C temperatūroje arba 1 valandą 60 °C temperatūroje, arba per naktį kambario temperatūroje

Stiklio arba plėvelės dengiamųjų stiklelių uždėjimas:

1. Visiškai išdžiuvus „CC/Mount“ vandeninei paruošimo terpei, jei reikia, leiskite objektniams stikliams pastovėti iki kambario temperatūros. Inkubuokite objektnius stiklius ksilene ne trumpiau kaip 1 minutę ir ne ilgiau kaip 20 minučių. Po to objektnius stiklius uždenkite stikliniais dengiamaisiais stikliais, naudodami ksileno pagrindu pagamintą paruošimo terpę arba ksileno pagrindu pagamintą plėvelės dengimo metodą.

PASTABA. Prieš dengimą stikliu ar plėvelės dengiamuoju stikliu objektnių stiklelių negalima dehidratuoti didėjančiomis alkoholio serijomis.

2. Leiskite ksileno pagrindu pagamintai paruošimo terpei išdžiūti kambario temperatūroje.

PASTABA. Kad objektniai stikliai kuo mažiau išbluktų, saugokite juos nuo šviesos ir laikykite kambario temperatūroje.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Nukrypęs nuo rekomenduojamų gimdos kaklelio citologinių mėginių fiksacijos ir tolesnio apdorojimo procedūrų, rezultatai gali labai skirtis. Esant gaminio pažeidimui, susijusiam su tvarkymo problemomis arba nestabilumu, akivaizdžių požymių nebūna. Todėl kartu su pacientų mėginiais turi būti apdorojamos kontrolinės medžiagos.

Teigiama kontrolinė medžiaga

Kaip teigiama kontrolinė medžiaga turėtų būti naudojami mėginiai, apdoroti tokio pat būdu kaip ir paciento mėginys (-iai). Teigiama kontrolinė medžiaga rodo tinkamai paruoštus mėginius ir tinkamus dažymo metodus. Į kiekvieną dažymo seriją reikia įtraukti vieną teigiamą kontrolinę medžiagą.

Žinomos teigiamos kontrolinės medžiagos turi būti naudojamos tik tinkamoms apdorotų mėginių ir tyrimo reagentų charakteristikoms stebėti, o ne kaip pagalbinė priemonė formuluojant konkrečią pacientų mėginių diagnozę. Jei teigiamos kontrolinės medžiagos nerodo tinkamo teigiamo dažymo, visi tyrimo mėginių rezultatai turi būti laikomi negaliojančiais.

Negative Control

Įvairių tipų ląstelės, esančios reprezentatyviuose gimdos kaklelio citologiniuose mėginiuose, kurios, kaip žinoma, neigiamai veikia p16^{INK4a} ir Ki-67 antigenų ekspresiją (pvz., paviršinės ląstelės), gali būti naudojamos kaip vidinė neigiama kontrolinė medžiaga, kad būtų galima įvertinti foninį dažymą.

Tyrimo patikra

Prieš pradėdamas naudoti „CINtec PLUS Cytology Kit“ diagnostinėje procedūroje, naudotojas turėtų patikrinti jo veikimą su teigiamais ir neigiamais mėginiais su žinomomis efektyvumo charakteristikomis.

DAŽYMO INTERPRETAVIMAS / TIKĖTINI REZULTATAI

Dažant „CINtec PLUS Cytology Kit“ susidaro dviejų skirtingų spalvų reakcijos produktai: rudos spalvos nuosėdos p16^{INK4a} antigeno vietose ir raudonos spalvos nuosėdos Ki-67 antigeno vietose. Rudos ląstelių (citoplazmos ir (arba) branduolių) nuosėdos nurodo padidėjusią p16^{INK4a} ekspresiją. „Red“ nudažytos ląstelės (branduoliai) rodo Ki-67 ekspresiją. Ląstelės, nudažytos dėl abiejų antigenų, pasižymi rudu citoplazminiu dažymu su paprastai ryškiai raudonais branduoliais. Kvalifikuotas patologas ir (arba) citotechnologas, turintis imunocitocheminių procedūrų patirties ir išmokytas interpretuoti „CINtec PLUS Cytology Kit“ nudažytus objektnius stiklius, prieš interpretuodamas rezultatus turi įvertinti kontrolines medžiagas.

Šio tyrimo rezultatus gali interpretuoti tik sertifikuotas specialistas, atsižvelgdamas į paciento ligos istoriją ir atliktus papildomus diagnostinius tyrimus.

Interpretuojant gimdos kaklelio citologinius objektnius stiklius, nudažytus naudojant „CINtec PLUS Cytology Kit“, reikia įvertinti, ar juose yra gimdos kaklelio epitelio ląstelių, kurių citoplazmoje yra rudos spalvos ir raudonos spalvos branduolių, rodančių p16^{INK4a} ir Ki-67 ekspresiją vienu metu. Be to, panašiai kaip pateikiant Pap citologinio tyrimo rezultatus, taip ir pateikiant „CINtec PLUS Cytology Kit“ tyrimo rezultatus, mėginius reikia įvertinti dėl mėginių tinkamumo pagal „Bethesda Guidelines 2015“ (arba TBS)²⁸.

Teigiami tyrimo rezultatai

Viena ar daugiau gimdos kaklelio epitelio ląstelių su rudu citoplazminiu imuniniu dažymu ir raudonu branduoliniu imuniniu dažymu toje pačioje ląstelėje laikoma teigiamu „CINtec PLUS Cytology Kit“ tyrimo rezultatu, neatsižvelgiant į citomorfologinius požymius.

Neigiami tyrimo rezultatai

Jei nė vienoje gimdos kaklelio epitelio ląstelėje vienu metu nėra rudo citoplazminio imuninio dažymo ir raudono branduolinio imuninio dažymo, „CINtec PLUS Cytology Kit“ tyrimo rezultatas laikomas neigiamu.

Jei yra gimdos kaklelio epitelio ląstelių, kurios rodo imunoreaktyvumą tik pagal vieną, bet ne pagal abu žymenis (pvz., tik rudas p16^{INK4a} nusidažymas arba tik raudonas Ki-67 nusidažymas), tai nelaikoma teigiamu „CINtec PLUS Cytology Kit“ tyrimo rezultatu.

SPECIFINIAI APRIBOJIMAI

1. Gali naudoti tik profesionalai. Imunocitocheminėms procedūroms atlikti reikia būti išklausių specialų mokymą.
2. „CINtec PLUS Cytology Kit“ nudažytų mikroskopo objektinių stiklėlių vertinimą turi atlikti tik sertifikuotas specialistas, išmokytas interpretuoti šių tyrimų rezultatus.
3. Klinikinė bet kokia teigiamo ar neigiamo dažymo interpretacija turėtų būti vertinama atsižvelgiant į klinikinį vaizdą ir citologinius kriterijus.
4. „CINtec PLUS Cytology Kit“ dažymo rezultatų interpretacija priklauso nuo hematoksilino kontrastinio dažymo intensyvumo ir kokybės. Jei nukrypsta nuo rekomenduojamų reagentų ir inkubacijos laiko, reikia patvirtinimo, nes per didelis arba nevisiškas kontrastinis dažymas gali trukdyti tinkamai interpretuoti rezultatus.
5. Gimdos kaklelio mėginiuose dažnai pastebimai aptinkamas viso kraujo kiekis. Jei viso kraujo koncentracija viršija 1.0 %, prieš ruošiant objektinius stiklėlius mėginy su turi būti lizuotas ledine acto rūgštimi (GAA) pagal „ThinPrep“ protokolą.
6. Įprasti tepinėlių objektiniai stiklėliai, skirti dažymui „CINtec PLUS Cytology Kit“, paruošiami naudojant mikroskopo objektinius stiklėlius „Superfrost Plus“ ir „Safetex Cytology Fixative“ („Andwin Scientific“) – citologinį aerosolinį fiksacijos reagentą, kurio sudėtyje yra polietilenglikolio. Jei nukrypsta nuo šios rekomendacijos, reikia kliento patvirtinimo.
7. Nerekomenduojama naudoti „ThinPrep 3000 Processor“, „ThinPrep“ mėginiams ruošti, nes dėl šiuo prietaisu atliekamos aerosolinės fiksacijos procedūros gali labai sumažėti ląstelių, kai paruošti objektiniai stiklėliai dažomi naudojant „CINtec PLUS Cytology Kit“.
8. „ThinPrep“ mėginių paruošimui imunocitocheminiam dažymui naudojant „CINtec PLUS Cytology Kit“, „BenchMark IHC/ISH“ prietaisuose reikalingi objektiniai stiklėliai „ThinPrep Arcless Microscope“ arba „ThinPrep Microscope Slides“, skirti specialiam apdorojimui, arba mikroskopo objektiniai stiklėliai „Superfrost Plus“. Dėl mikroskopo objektinių stiklėlių ThinPrep su įspausa patikros sritimi gali būti nudažoma netolygiai.
9. Gamintojas pateikia šiuos antikūnus ir (arba) reagentus optimaliai praskiestus, kad juos būtų galima naudoti pagal čia pateiktas instrukcijas imunocitocheminiam tyrimui ant paruoštų skysčių apdorojamų citologinių objektinių stiklėlių (LBC). Bet koks nukrypimas nuo rekomenduojamų tyrimo procedūrų gali paneigti deklaruotus tikėtinus rezultatus; būtina naudoti ir dokumentuoti tinkamas kontrolines medžiagas. Naudotojai, kurie nesilaiko rekomenduojamų tyrimo procedūrų, turi prisiimti atsakomybę už paciento rezultatų interpretavimą esant šioms sąlygoms.
10. Visi tyrimai gali būti registruoti ne visuose prietaisuose. Dėl daugiau informacijos kreipkitės į vietinį „Roche“ atstovą.

EFEKTYVUMO CHARAKTERISTIKOS

ANALITINIS EFEKTYVUMAS

„CINtec PLUS Cytology Kit“ efektyvumas buvo įvertintas atliekant analitinio atkuriamumo ir kitus svarbius tyrimus.

Analitinis jautrumas ir specifiškumas

Pirminių antikūnų p16 ir Ki-67 analitinis jautrumas ir specifiškumas buvo tikrinami atliekant Western Blot ir peptidų slopinimo tyrimus.

Atliekant Western Blot tyrimus buvo naudojami ląstelių linijų lizatai, kurių dažymo intensyvumas buvo įvairus. Antikūnas prieš p16^{INK4a} (E6H4) išgryninto rekombinantinio p16^{INK4a} baltymo preparate aptiko maždaug 15–20 kD juostą. Be to, antikūnas specifiškai jungėsi su išgrynintu rekombinantiniu p16^{INK4a} baltymu, o ne su tokiau pat kiekiu nesusijusio rekombinantinio baltymo. Taip pat nustatyta, kad antikūnas suriša endogeninį p16^{INK4a} baltymą, ekspresuotą HeLa, SK Mel 28 ir DU145 ląstelių linijų lizatuose, bet nesuriša p16^{INK4a} neigiamoje MDA MB 231 ląstelių linijoje. Santykinis p16^{INK4a} baltymo kiekis, aptiktas visų keturių ląstelių linijų lizatuose Western Blot metodu, atitiko IHC dažymo duomenis, o tai rodo, kad antikūnų anti-p16^{INK4a} (E6H4) aptikimo jautrumas yra didelis. Ki-67 antikūno klonas (274-11AC3V1) jungimasis buvo patikrintas atliekant Western Blot tyrimą, naudojant ištisinių ląstelių lizatus, paruoštus iš L428 (Hodžkino limfoma, teigiama

Ki-67 antigenui; DSMZ ATCC 197) ir LNCaP (prostatos karcinomos ląstelių linija, pasižyminti maža Ki-67 baltymo ekspresija; ATCC CRL-1740) ląstelių linijų. Antikūnas aptiko endogeninį Ki-67 baltymą ląstelių lizatuose net esant mažiems ekspresijos lygiams, o juostos intensyvumas šiose ląstelių linijose koreliavo su Ki-67 IHC dažymu. „CINtec PLUS Cytology Kit“ Ki-67 pirminis antikūnas (274-11AC3V1) jungėsi su išgrynintu rekombinantinio Ki-67 baltymo fragmentu, o ne su tokiau pat kiekiu nesusijusio rekombinantinio neigiamo kontrolinio baltymo. Atliekant šį tyrimą, Ki-67 mažos ekspresijos ląstelių linijoje LNCaP jungimasis nebuvo aptiktas. Santykinis Ki-67 baltymo kiekis, aptiktas šių ląstelių linijų lizatuose atlikus Western Blot tyrimą, koreliuoja su IHC dažymo duomenimis ir mRNA ekspresijos duomenimis. Western Blot rezultatai rodo, kad pirminis Ki-67 antikūnas, naudojamas „CINtec PLUS Cytology Kit“ rinkinyje, gali aptikti endogeninį Ki-67 baltymą ląstelių lizatuose ir išgrynintą rekombantinį Ki-67 baltymo fragmentą. Peptidų slopinimo tyrimuose naudoti tirpalai, kuriuose buvo p16 arba Ki-67 specifinių peptidų. Pirminių antikūnų mišinys buvo skiedžiamas 1 : 1 tūrio ir tūrio santykiu su įvairios koncentracijos p16 specifinio arba Ki-67 peptido tirpalais, kad būtų galima nustatyti įvairius molinius santykius: maždaug 1, 10, 100, 1000 ir 10 000 kartų peptido molinį perteklių, palyginti su galutine antikūno koncentracija tirpale. Pirminių antikūnų mišinys, kuriame buvo p16 specifinio peptido, buvo naudojamas kaip antikūno prieš Ki-67 nespecifinė kontrolinė medžiaga, o nesusijęs Alk-a peptidas – kaip antikūno prieš p16 nespecifinė kontrolinė medžiaga. Kiekvienam tirpalui buvo nudažyta po vieną kiekvieno mėginio objektinį stiklėlį (trys gimdos kaklelio citologinių mėginių grupės ir vienas CaSki ląstelių mėginys). Šio tyrimo rezultatai parodė, kad antikūnas prieš p16 specifiškai suriša p16 baltymą, o antikūnas prieš Ki-67 specifiškai suriša Ki-67 baltymą. Kaip ir tikėtasi, p16 ir Ki-67 dažymo intensyvumas sumažėjo visuose mėginiuose po dažymo tirpalais, kurių sudėtyje yra 1 M koncentracijos atitinkamų specifinių peptidų; visiškai slopinimas buvo pasiektas tirpalais, kurių sudėtyje yra ≥ 10 M, o p16 dažymo intensyvumas nesumažėjo po dažymo tirpalais, kurių sudėtyje yra nespecifinio peptido arba peptido nėra.

Pakartojamumas ir tarpinis tikslumas

Atlikti „CINtec PLUS Cytology Kit“, „ThinPrep“ gimdos kaklelio mėginių dažymo tikslumo tyrimai, siekiant įrodyti toliau pateiktus aspektus.

- Bendras tikslumas – rezultatų, kurie sutampa su daugumos rezultatais, procentinė dalis buvo apskaičiuota kiekvienai iš 12 gimdos kaklelio citologinių tyrimų grupių (3 HSIL / HPV+, 1 LSIL / HPV+, 1 ASC-US / HPV+, 1 NILM / HPV+, 3 NILM / HPV- LBC grupės ir 3 T24 ląstelių linijos neigiamos grupės), dažytų 3 „CINtec PLUS Cytology Kit“ partijomis 5 dienas ne iš eilės, naudojant po 2 nukopijuotus kiekvieno rinkinio objektinius stiklėlius, kuriuos vertino 3 vertintojų grupės.
- Tikslumas skirtingomis dienomis – rezultatų, kurie sutampa su daugumos rezultatais, procentinė dalis buvo apskaičiuota kiekvienai dienai (1–5 dienos), apibendrinant duomenis iš 12 gimdos kaklelio citologinių tyrimų grupių (3 HSIL / HPV+, 1 LSIL / HPV+, 1 ASC-US / HPV+, 1 NILM / HPV+, 3 NILM / HPV- LBC grupės ir 3 T24 ląstelių linijos neigiamos grupės), 3 „CINtec PLUS Cytology Kit“ partijų, naudojant po 2 nukopijuotus kiekvieno rinkinio objektinius stiklėlius, kuriuos vertino 3 vertintojų grupės.
- Tikslumas tarp partijų – rezultatų, kurie sutampa su daugumos rezultatais, procentinė dalis buvo apskaičiuota kiekvienai „CINtec PLUS Cytology Kit“ partijai (1–3 partijos), apibendrinant duomenis iš 12 gimdos kaklelio citologinių tyrimų grupių (3 HSIL / HPV+, 1 LSIL / HPV+, 1 ASC-US / HPV+, 1 NILM / HPV+, 3 NILM / HPV- LBC grupės ir 3 T24 ląstelių linijos neigiamos grupės), tiriant 5 dienas ne iš eilės, naudojant po 2 nukopijuotus mėginius, kurias vertino 3 vertintojų grupės.

Visi objektiniai stiklėliai buvo parinkti akiai ir atsitiktinės atrankos būdu, tada interpretuotas „CINtec PLUS Cytology Kit“ dažymas. Objektinius stiklėlius vertino trys vertintojų grupės, kurių kiekvieną sudarė citotechnologas ir patologas. Nustatant procentinę dalį rezultatų, kurie sutampa su daugumos rezultatais, kaip atskaitos taškas buvo naudojamas daugumos rezultato arba grupės lygio režimo rezultatas (teigiamas arba neigiamas). Rezultatų, kurie sutampa su daugumos rezultatais, procentinė dalis atitinka PPA, kai daugumos rezultatai teigiami, ir NPA, kai daugumos rezultatai neigiami. Rezultatų suvestinė pateikta 5. lent. 6. lent ir 7. lent. Visi pasikliautiniai intervalai (PI) buvo dvipusiai 95 % pasikliautiniai intervalai. PI apskaičiuoti taikant procentilio savirankos metodą, išskyrus atvejus, kai taškiniai įverčiai siekė 100 %, – buvo taikomas Wilsono balų metodas.

5. lent. Laboratorijoje atliekamas tikslumo tyrimas – bendras tikslumas

Grupės kategorija	Vertinimų skaičius	„CINtec PLUS Cytology Kit“ rezultatų režimas (daugumos rezultatai)	Rezultatų procentinė dalis tokia pati kaip daugumos rezultatas	95 % pasikliautinis intervalas
T24 ląstelių linija	270	Neigiamas	100.0 %	(98.6, 100.0)
NILM / HPV-	270	Neigiamas	94.1 %	(90.7, 97.0)
NILM / HPV+	90	Teigiamas	61.1 %	(47.2, 74.4)
ASC-US / HPV+	90	Teigiamas	93.3 %	(88.9, 97.8)
LSIL / HPV+	90	Teigiamas	100.0 %	(95.9, 100.0)
HSIL / HPV+	270	Teigiamas	98.9 %	(96.7, 100.0)

6. lent. Laboratorijoje atliekamas tikslumo tyrimas – tikslumas tarp dienų

Grupės kategorija	Vertinimų skaičius	„CINtec PLUS Cytology Kit“ rezultatų režimas (daugumos rezultatai)	Rezultatų procentinė dalis tokia pati kaip daugumos rezultatas				
			1 diena	2 diena	3 diena	4 diena	5 diena
T-24 ląstelių linija	270	Neigiamas	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM / HPV-	270	Neigiamas	88.9 %	90.7 %	98.1 %	98.1 %	94.4 %
NILM / HPV+	90	Teigiamas	44.4 %	50.0 %	77.8 %	66.7 %	66.7 %
ASC-US / HPV+	90	Teigiamas	94.4 %	88.9 %	88.9 %	94.4 %	100.0 %
LSIL / HPV+	90	Teigiamas	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %
HSIL / HPV+	270	Teigiamas	100.0 %	94.4 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %

7. lent. Laboratorijos viduje atliekamas tikslumo tyrimas – tikslumas tarp partijų

Grupės kategorija	Vertinimų skaičius	„CINtec PLUS Cytology Kit“ rezultatų režimas (daugumos rezultatai)	Rezultatų procentinė dalis tokia pati kaip daugumos rezultatas		
			1 partija	2 partija	3 partija
T24 ląstelių linija	270	Neigiamas	100.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM / HPV-	270	Neigiamas	92.2 %	93.3 %	96.7 %
NILM / HPV+	90	Teigiamas	46.7 %	70.0 %	66.7 %
ASC-US / HPV+	90	Teigiamas	90.0 %	96.7 %	93.3 %
LSIL / HPV+	90	Teigiamas	100.0 %	100.0 %	100.0 %
HSIL / HPV+	270	Teigiamas	100.0 %	100.0 %	96.7 %

Vertintojo tikslumas

Siekiant įvertinti vertintojo tikslumą, trys vertintojų grupės, sudarytos iš citotechnologo ir patologo, vertino visus tikslumo tyrimams nudažytus objektinius stiklelius, įskaitant 2 nukopijuotus iš 12 gimdos kaklelio citologinių grupių (3 HSIL / HPV+, 1 LSIL / HPV+, 1 ASC-US / HPV+, 1 NILM / HPV+, 3 NILM / HPV– LBC grupės ir 3 T24 ląstelių linijos neigiamos grupės), 3 „CINtec PLUS Cytology Kit“ partijomis 5 dienas ne iš eilės.

Rezultatų, kurie sutampa su daugumos rezultatais, procentinė dalis buvo apskaičiuota iš apibendrintų vertintojų grupių rezultatų, o suvestinė pateikta 8. lent.

8. lent. Laboratorijos viduje atliekamas tikslumo tyrimas – tikslumas tarp vertintojų

Grupės kategorija	Vertinimų skaičius	„CINtec PLUS Cytology Kit“ rezultatų režimas (daugumos rezultatai)	Rezultatų procentinė dalis tokia pati kaip daugumos rezultatas		
			1 vertintojų grupė	2 vertintojų grupė	3 vertintojų grupė
T-24 ląstelių linija	270	Neigiamas	100.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM / HPV-	270	Neigiamas	95.6 %	91.1 %	95.6 %
NILM / HPV+	90	Teigiamas	70.0 %	63.3 %	50.0 %
ASC-US / HPV+	90	Teigiamas	100.0 %	90.0 %	90.0 %
LSIL / HPV+	90	Teigiamas	100.0 %	100.0 %	100.0 %
HSIL / HPV+	270	Teigiamas	98.9 %	98.9 %	98.9 %

Atkuriamumas

Atlikti „CINtec PLUS Cytology Kit“ atkuriamumo tyrimai, siekiant įrodyti:

- „CINtec PLUS Cytology Kit“ atkuriamumą tarp partijų (9. lent);
- „BenchMark GX“, XT ir ULTRA prietaisų atkuriamumą serijos metu (10. lent) ir tarp serijų (11. lent);
- „BenchMark GX“, XT ir ULTRA prietaisų atkuriamumą platformoje (12. lent);
- „BenchMark GX“, XT ir ULTRA prietaisų atkuriamumą tarp platformų (13. lent);

9. lent. „CINtec PLUS Cytology Kit“ atkuriamumą tarp partijų

Mėginio tipas	Bendra atitiktis procentais
„ThinPrep“	100.0
„SurePath“	100.0

10. lent. „CINtec PLUS Cytology Kit“ atkuriamumas serijos metu

Mėginio tipas	Bendra atitiktis procentais		
	GX	XT	ULTRA
„ThinPrep“	100.0	100.0	100.0
„SurePath“	93.8	96.3	92.6

11. lent. „CINtec PLUS Cytology Kit“ atkuriamumas tarp serijų

Mėginio tipas	Bendra atitiktis procentais		
	GX	XT	ULTRA
„ThinPrep“	100.0	96.2	100.0
„SurePath“	100.0	92.6	100

12. lent. „CINtec PLUS Cytology Kit“ atkuriamumas platformoje.

Mėginio tipas	Bendra atitiktis procentais		
	GX	XT	ULTRA
„ThinPrep“	100.0	100.0	100.0
„SurePath“	100.0	100.0	96.3

13. lent. „CINtec PLUS Cytology Kit“ atkuriamumas tarp platformų.

Mėginio tipas	Bendra atitiktis procentais
„ThinPrep“	100.0
„SurePath“	96.3

Šie tyrimai buvo atlikti su „ThinPrep“ ir „SurePath“ gimdos kaklelio mėginiais. Visi tyrimai atitiko iš anksto nustatytus priimtumo kriterijus.

Atitikties tyrimai

„CINtec PLUS Cytology Kit“, skirto naudoti „BenchMark GX“, XT ir ULTRA prietaisuose, efektyvumas buvo įvertintas lyginant jį su „CINtec PLUS Kit“ (pirminis prietaisas, „Roche mtm laboratories AG, Mannheim“), kuris anksčiau parodė didelį jautrumą ir specifiskumą nustatant ikivėžinius ir vėžinius susirgimus gimdos kaklelio citologiniuose mėginiuose, atsižvelgiant į atskirų gimdos kaklelio epitelio ląstelių, turinčių teigiamą dvigubą p16^{INK4a} ir Ki-67 dažymo rezultata, buvimą^{7–15,18,20,23,25–28}.

Atitikties tyrimai atlikti naudojant numatyto naudojimo populiacijos pacienčių mėginius su Pap citologinio tyrimo NILM (neigiamas intraepitelinio pažeidimo ar piktybiškumo atžvilgiu), ASC-US, LSIL ir HSIL rezultatais, gautais naudojant kiekvieną iš šių gimdos kaklelio citologinio tyrimo paruošimo metodų: „ThinPrep“, „BD SurePath“ ir įprastus tepinėlių objektinius stiklelius. Tiriant LBC mėginius, iš kiekvienos pacientės mėginio buvo paruošti du objektiniai stikliai. Tiriant įprastus tepinėlius, to paties paciento to paties vizito metu buvo ruošiami du objektiniai stikliai, padalijant paimtą medžiagą į du objektinius stiklelius („padalytų mėginių metodas“). Vienas objektinis stiklis buvo tiriamas naudojant „CINtec PLUS Cytology Kit“, „BenchMark IHC/ISH“ prietaise, o kitas – dažomas naudojant pagrindinį prietaisą.

LBC mėginių vertinimo algoritmas

Kiekvieną objektinį stiklį vertindavo du kvalifikuoti vertintojai. Jei jie sutarė dėl rezultato, jis buvo laikomas galutiniu to objekcinio stiklio rezultatu. Jei jų nuomonės nesutapdavo, trečiasis vertintojas atlikdavo sprendžiamąjį vertinimą, o daugumos rezultatas tapdavo galutiniu to objekcinio stiklio rezultatu.

Įprastų tepinėlių objektinių stiklių vertinimo algoritmas

Kiekvieną objektinį stiklį vertindavo du kvalifikuoti vertintojai. Jei abu vertintojai objektinį stiklį įvertindavo teigiamai, galutinis rezultatas būdavo teigiamas. Jei jie nesutardavo dėl rezultato, objektinį stiklį bendru sutarimu peržiūrėdavo trys vertintojai, o rezultatas tapdavo galutiniu to objekcinio stiklio rezultatu. Jei abu vertintojai objektinį stiklį įvertindavo kaip neigiamą, objektinį stiklį vertindavo trečiasis vertintojas, kad patvirtintų neigiamą rezultatą. Jei trečiasis vertintojas patvirtindavo neigiamą rezultatą, galutinis rezultatas būdavo neigiamas. Jei trečiasis vertintojas objektinį stiklį įvertindavo teigiamai, objektinis stiklis būdavo vertinamas komisijos narių bendru sutarimu, kuris tapdavo galutiniu to objekcinio stiklio rezultatu.

Tyrimų rezultatų suderinamumas pateikiamas kaip teigiama atitiktis procentais (PPA) ir neigiama atitiktis procentais (NPA) ± 95 % pasikliautinis intervalas (PI) tarp „CINtec PLUS Cytology Kit“, skirto naudoti „BenchMark IHC/ISH“ prietaise, ir pirminio prietaiso.

14. lent. „CINtec PLUS Cytology Kit“ ir pirminio prietaiso, naudojamo su „ThinPrep“ gimdos kaklelio citologinių objektinių stiklių preparatais, tyrimų rezultatų suderinamumas.

		Pirminis prietaisas	
		+	-
„CINtec PLUS Cytology Kit“	+	140	25
	-	17	147
Iš viso		157	172
PPA (n/N) (95 % PI) = 140/157 x 100 % = 89.2 % (83.3–93.1 %)			
NPA (n/N) (95 % PI) = 147/172 x 100 % = 85.5 % (79.4–90.0 %)			

15. lent. „CINtec PLUS Cytology Kit“ ir pirminio prietaiso, naudojamo su „SurePath“ gimdos kaklelio citologinių objektinių stiklių preparatais, tyrimų rezultatų suderinamumas.

		Pirminis prietaisas	
		+	-
„CINtec PLUS Cytology Kit“	+	56	3
	-	9	108
Iš viso		65	111
PPA (n/N) (95 % PI) = 56/65 x 100 % = 86.2 % (75.7–92.5 %)			
NPA (n/N) (95 % PI) = 108/111 x 100 % = 97.3 % (92.4–99.1 %)			

16. lent. „CINtec PLUS Cytology Kit“ ir pirminio prietaiso tyrimų rezultatų, gautų naudojant įprastų gimdos kaklelio citologinius tepinėlio objektinių stiklių preparatus, suderinamumas.

		Pirminis prietaisas	
		+	-
„CINtec PLUS Cytology Kit“	+	98	17
	-	20	72
Iš viso		118	89
PPA (n/N) (95 % PI) = 98/118 x 100 % = 83.1 % (75.3–88.8 %)			
NPA (n/N) (95 % PI) = 72/89 x 100 % = 80.9 % (71.5–87.7 %)			

„Roche Cell Collection Medium“ tyrimas

„Roche Cell Collection Medium“ efektyvumas, palyginti su „PreservCyt“ tirpalu, buvo įvertintas nudažant 616 porų gimdos kaklelio mėginių (atvejų), naudojant „CINtec PLUS Cytology Kit“. Kiekvienu atveju, kiekvienas objektinis stiklis buvo paruoštas iš atitinkamų PC arba RCCM buteliukų. Visus objektinius stiklelius vertino citotechnologų ir patologų komanda, kuri stiklelių nematė, kad nesužinotų jų tapatybės. „CINtec PLUS Cytology Kit“ tyrimų rezultatai, palyginti skirtingas terpes (PC ir RCCM), apibendrinti 17. lent. Teigiamų atvejų skaičius buvo apskaičiuotas teigiamų atvejų skaičių padalijus iš bendro tinkamų atvejų skaičiaus kiekvienoje terpėje. Rezultatai rodo, kad abiejų teigiamų rezultatų skirtumas yra 2.4 % (1.5, 6.3).

17. lent. „Roche Cell Collection Medium“ (RCCM) ir „PreservCyt“ (PC) „CINtec PLUS Cytology Kit“ teigiamų rezultatų lygiavertiškumas.

		„CINtec PLUS Cytology Kit“ rezultatai, skirti PC		
„CINtec PLUS Cytology Kit“ rezultatai, skirti RCCM		Teigiamas	Neigiamas	Iš viso
Teigiamas		170	48	218
Neigiamas		37	204	241
Iš viso		207	252	459
RCCM teigiamumo rodiklis, n/N (%):		218/459 (47.5 %)		
PC teigiamumo rodiklis, n/N (%):		207/459 (45.1 %)		
Teigiamumo rodiklių skirtumas, n/N (%):		11/459 (2.4 %; 95 % PI: -1.5, 6.3)		

„CINtec PLUS Cytology Kit“ ląstelių tinkamumo rezultatai, palyginti „PreservCyt“ ir „Roche Cell Collection Medium“, apibendrinti 18. lent. Tinkamo ląstelių kiekio rodiklis buvo apskaičiuotas atvejų su tinkamu ląstelių kiekiu skaičių padalijus iš bendro atvejų skaičiaus kiekvienoje terpėje. Rezultatai rodo, kad skirtumas tarp dviejų tinkamų ląstelių kiekio rodiklių yra 3.2 % (-0.0, 6.6).

18. lent. „CINtec PLUS Cytology Kit“ ląstelių kiekio tinkamumo „Roche Cell Collection Medium (RCCM)“ ir „PreservCyt (PC)“ terpėse palyginimas.

„CINtec PLUS Cytology Kit“ ląstelių tinkamumas, skirtas RCCM	„CINtec PLUS Cytology Kit“ ląstelių tinkamumas, skirtas PC		
	Taip	Ne	Iš viso
Taip	468	63	531
Ne	43	42	85
Iš viso	511	105	616
RCCM tinkamumo rodiklis, n/N (%):	531/616 (86.2 %)		
PC tinkamumo rodiklis, n/N (%):	511/616 (83.0 %)		
Tinkamumo rodiklių skirtumas, n/N (%):	20/616 (3.2 %; 95 % PI: -0.0, 6.6)		

Tarplaboratorinio atkuriamumo tyrimas su „BenchMark ULTRA PLUS“ dažymo platforma

Atliktas atkuriamumo tyrimas, siekiant įvertinti „CINtec PLUS Cytology“ tyrimą „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisu, skirtą dvigubam imunocitocheminiam p16INK4a ir Ki-67 nustatymui citologiniuose mėginiuose. Tyrimė dalyvavo 2 skirtingos T24 ląstelių kultūros ir 10 iš pacientų gautų mėginių grupių (2 HSIL / HPV+, 2 LSIL / HPV+, 2 ASC-US / HPV+, 2 NILM / HPV+ ir 2 NILM / HPV- LBC grupės). T24 ląstelių kultūros buvo paruoštos iš vieno darbinio ląstelių banko. Kiekvienai iš 3 tyrimo vietų buvo pateikti kiekvienos mėginių grupės, T24 ląstelių kultūros ir kontrolinės grupės alikvotai, kurių turis buvo pakankamas kiekvienoje vietoje planuojamiems tyrimams atlikti. Kiekvieną iš penkių dažymo dienų, naudodamos „ThinPrep 2000“ arba „ThinPrep 5000“ objektyvų stiklėlių procesorių, laboratorijos paruošdavo po vieną tiriamąjį objektyvų stiklėlį iš kiekvieno RTD pateikto alikvoto. Paruošus objektyvų stiklėlius, kiekvienoje vietoje buvo nudažytas vienas 13 objektyvų stiklėlių rinkinys „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisu. 5 dažymo dienos vyko ne iš eilės ir truko ne mažiau kaip 20 dienų. Kiekvienoje vietoje 2 vertintojų grupės, sudarytos iš citotechnologo ir patologo, nepriklausomai įvertino savo vietoje nudažytus preparatus, ar juose yra arba nėra dvigubo dažymo, ir priskyrė preparatui teigiamą, neigiamą arba nepatenkinamą „CINtec PLUS Cytology“ tyrimo rezultatą. Vertintojų komandos nesigilino į bet kokį anksčiau nustatytą ŽPV statusą. Pap citologinio tyrimo statusą, „CINtec PLUS Cytology“ tyrimo rezultatus ar kitą klinikinę informaciją.

Duomenys buvo tiesiogiai įvesti į klinikinę duomenų bazę ir išanalizuoti siekiant nustatyti tyrimo atkuriamumą įvairiose vietose, dienomis ir vertintojų komandose. Visų atvejų fono ir ląstelių priimtumo dažniai naudojant visus prietaisus buvo 100 %. Rezultatų suvestinė pateikta 19. lent ir 20. lent.

19. lent. „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaiso tarplaboratorinio atkuriamumo tyrimas – atkuriamumas tarp laboratorijų

Grupės kategorija	Vertinimų skaičius	„CINtec PLUS Cytology“ rezultatų režimas (daugumos rezultatai)	Rezultatų procentinė dalis tokia pat kaip daugumos rezultatas		
			A tyrimo vieta	B tyrimo vieta	C tyrimo vieta
T24 ląstelių linija	60	Neigiamas	95.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM / HPV-	60	Neigiamas	100.0 %	95.0 %	100.0 %
NILM / HPV+	60	Teigiamas	90.0 %	80.0 %	95.0 %
ASC-US / HPV+	60	Teigiamas	100.0 %	95.0 %	100.0 %
LSIL / HPV+	60	Teigiamas	100.0 %	95.0 %	100.0 %
HSIL / HPV+	60	Teigiamas	100.0 %	100.0 %	100.0 %

20. lent. „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaiso tarplaboratorinio atkuriamumo tyrimas – bendras tikslumas

Grupės kategorija	„CINtec PLUS Cytology“ rezultatų režimas (daugumos rezultatai)	Rezultatų procentinė dalis tokia pati kaip daugumos rezultatas	n/N	95 % pasikliautumo intervalai
T24 ląstelių linija	Neigiamas	98.3 %	59/60	(96.7, 100.0)
NILM / HPV-	Neigiamas	98.3 %	59/60	(96.7, 100.0)
NILM / HPV+	Teigiamas	88.3 %	53/60	(86.7, 90.0)
ASC-US / HPV+	Teigiamas	98.3 %	59/60	(96.7, 100.0)
LSIL / HPV+	Teigiamas	98.3 %	59/60	(96.7, 100.0)
HSIL / HPV+	Teigiamas	100.0 %	60/60	(94.0, 100.0)

Atitikties tarp „BenchMark ULTRA PLUS“ ir „BenchMark ULTRA“ prietaisų („ThinPrep“ mėginiai)

Trys laboratorijos dalyvavo „BenchMark ULTRA PLUS“ ir „BenchMark ULTRA“ prietaiso suderinamumo tyrimė. Šiame tyrimė panaudota 220 „Roche Tissue Diagnostics“ (RTD) parengtų grupių iš „ThinPrep LBC“ gimdos kaklelio mėginių, priskiriamų šioms kategorijoms: 88 teigiamos grupės, 22 ribiškai teigiamos grupės, 22 tarpinės neigiamos grupės ir 88 neigiamos T24 ląstelių kultūros grupės. Kiekvieno mėginio 4 objektyvų stiklėlių rinkinys buvo paruoštas RTD naudojant „ThinPrep 2000“ arba „ThinPrep 5000“ objektyvų stiklėlių procesorių. Pirmasis paruoštas kiekvieno rinkinio objektyvų stiklėlis buvo nudažytas „BenchMark ULTRA“ prietaisu RTD. Kiekvienai tyrimo vietai buvo pateikta po vieną iš 3 likusių skaidrių, kad jos būtų nudažytos „CINtec PLUS Cytology“ tyrimu, atliekamu „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisu. RTD nudažytas „BenchMark ULTRA“ objektyvų stiklėlis buvo įvertintas dėl dvigubo dažymo buvimo ar nebuvimo ir RTD vertintojų komanda, sudaryta iš citotechnologo ir patologo, nustatė teigiamą, neigiamą arba nepatenkinamą rezultatą, kad būtų galima nustatyti etaloninį balą. Kiekvienoje vietoje tyrimo vertintojų komanda nepriklausomai įvertino „BenchMark ULTRA“ prietaisu nudažytus preparatus, kad gautų „CINtec PLUS Cytology“ tyrimo rezultatą. Kiekvienoje vietoje „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisu nudažytus objektyvų stiklėlius vertino tos vietos vertintojų komanda, kad gautų „CINtec PLUS Cytology“ tyrimo rezultatą. Todėl kiekviena vertintojų komanda vertino po vieną „BenchMark ULTRA“ ir vieną „BenchMark ULTRA PLUS“ nudažytą objektyvų stiklėlį kiekvienam mėginiui. „BenchMark ULTRA“ ir „BenchMark ULTRA PLUS“ dažytų objektyvų stiklėlių nuskaitymą skyrė dviejų savičių plovimo laikotarpis. Visos vertintojų komandos nesigilino į bet kokį anksčiau nustatytą ŽPV statusą. Pap citologinio tyrimo statusą, „CINtec PLUS Cytology“ tyrimo rezultatus ar kitą klinikinę informaciją.

„CINtec PLUS Cytology“ tyrimo atlikimo lygiavertiškumas buvo laikomas priimtinu „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisui, jei PPA ir NPA rodiklių dvipusė 95 % pasikliautimo intervalo apatinė riba buvo ne mažesnė kaip 85 %. Kad tyrimas būtų įvertintas teigiamai, reikėjo, jog „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisu „CINtec PLUS Cytology“ nudažytų objektyvų stiklėlių fono ir ląstelių priimtumas būtų priimtinas ≥ 90 % visų objektyvų stiklėlių. Visų tiriamųjų objektyvų stiklėlių fono ir ląstelių priimtumo rodikliai buvo atitinkamai 99.7 % ir 99.4 %. Toliau 21. lent apibendrinamas „BenchMark ULTRA“ ir „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisų „CINtec PLUS Cytology“ būklės atitikimo lygis.

21. lent. „BenchMark ULTRA“ ir „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisų suderinamumo tyrimas – bendras „CINtec PLUS Cytology“ būklės susitarimas tarp platformų („ThinPrep“)

„CINtec PLUS Cytology“ būseną						
„BenchMark ULTRA PLUS“	„BenchMark ULTRA“			Atitikimas		
	Teigiamas	Neigiamas	Iš viso	Dažnis	% (n/N)	95 % PI
Teigiamas	314	13	327	PPA	95.7 (314/328)	(92.8, 98.1)

„CINtec PLUS Cytology“ būsena						
„BenchMark ULTRA PLUS“	„BenchMark ULTRA“			Atitikimas		
	Teigiamas	Neigiamas	Iš viso	Dažnis	% (n/N)	95 % PI
Neigiamas	14	317	331	NPA	96.1 (317/330)	(93.5, 98.1)
Iš viso	328	330	658	OPA	95.9 (631/658)	(94.1, 97.4)

Pastaba. Jungtiniai susitarimo rodikliai apima visus „ULTRA PLUS“ mėginius ir skaitųjų grupes.

Pastaba. PPA = teigiama atitiktis procentais; NPA = neigiama atitiktis procentais; OPA = bendra atitiktis procentais

Laboratorinio atkuriamumo tyrimas su „BenchMark ULTRA PLUS“ dažymo platforma

Laboratorijoje buvo atliktas atkuriamumo tyrimas, siekiant įvertinti „CINtec PLUS Cytology“ tyrimo „SurePath“ mėginiuose pakartojamumą serijoje, tarpinį tikslumą skirtingomis dienomis ir tarpinį tikslumą tarp prietaisų. Tyrimo dalyvavo 2 skirtingos T24 ląstelių kultūros ir 9 pacientų „SurePath“ mėginių grupės (3 teigiami CINtec / HPV+, 3 ribiniai ir 3 neigiami CINtec / HPV-). Tiriameji objekciniai stikliai buvo ruošiami „BD Totalys“ objektyvų stiklėlių ruošimo prietaisu kiekvieną iš penkių dažymo dienų, kurios vyko ne iš eilės ir truko ne mažiau kaip 20 dienų. Siekiant įvertinti prietaisų tarpusavio atkuriamumą, buvo naudojami trys „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisai. Tyrimo objektyvius stiklėlius vertino vertintojų komanda, sudaryta iš citotechnologo ir patologo, apmokyto vertinti „CINtec PLUS Cytology“. Tyrimo objektyvius stiklėlių suderinamumas buvo nustatomas lyginant „CINtec PLUS Cytology“ objektyvų stiklėlių būseną su grupės lygmens režimu (PLM), kuris apibrėžiamas kaip dažniausiai pasitaikantis būsenos rezultatas tarp visų grupės vertinimų, apibendrinant visų prietaisų, visų dienų ir visų tos grupės pakartojimų duomenis. Visų tiriamųjų objektyvų stiklėlių fono ir ląstelių priimtumo rodikliai buvo atitinkamai 99.4 % ir 99.7 %. Rezultatų suvestinė pateikta 22. lent., 23. lent., 24. lent ir 25. lent žemiau.

22. lent. Laboratorijos tikslumo tyrimas – bendras teigiamų ir neigiamų rezultatų tikslumas „SurePath“ mėginiai

Grupių lygmens modalinė būsena				Atitikimas		
„CINtec PLUS“ būsena	Teigiamas	Neigiamas	Iš viso	Matavimas	% (n/N)	95 % PI
Teigiamas	89	0	89	PPA	100.0 (89/89)	(95.9, 100.0)
Neigiamas	0	90	90	NPA	100.0 (90/90)	(95.9, 100.0)
Iš viso	89	90	179	OPA	100.0 (179/179)	(97.9, 100.0)

23. lent. Laboratorijos tikslumo tyrimas – tarpinis antikūno tikslumas skirtingomis dienomis

Diena	Tas pats rezultatas su PLM, n (%)	Kitoks rezultatas nei PLM, n (%)	Iš viso, n (%)
1 diena	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
2 diena	35 (100.0)	0 (0.0)	35 (100.0)
3 diena	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
4 diena	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)

Diena	Tas pats rezultatas su PLM, n (%)	Kitoks rezultatas nei PLM, n (%)	Iš viso, n (%)
5 diena	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)

24. lent. Laboratorijos tikslumo tyrimas – pakartojamumas serijoje

Replikacija	Tas pats rezultatas su PLM, n (%)	Kitoks rezultatas nei PLM, n (%)	Iš viso, n (%)
1 replikacija	90 (100.0)	0 (0.0)	90 (100.0)
2 replikacija	89 (100.0)	0 (0.0)	89 (100.0)

25. lent. Laboratorijos tikslumo tyrimas – tarpinis tikslumas naudojant skirtingus prietaisus

Prietaisas	Tas pats rezultatas su PLM, n (%)	Kitoks rezultatas nei PLM, n (%)	Iš viso, n (%)
1 prietaisas	60 (100.0)	0 (0.0)	60 (100.0)
2 prietaisas	60 (100.0)	0 (0.0)	60 (100.0)
3 prietaisas	59 (100.0)	0 (0.0)	59 (100.0)

Atitiktis tarp „BenchMark ULTRA PLUS“ ir „BenchMark ULTRA“ dažymo prietaisų („SurePath“ mėginiai)

Buvo atliktas vidinio suderinamumo tyrimas, siekiant patikrinti, ar „BenchMark ULTRA“ ir „ULTRA PLUS“ dažymo platformos „SurePath“ mėginiuose vienodai gerai dažo „CINtec PLUS Cytology“ rinkinį. Tyrimo dalyvavo 88 tikrai teigiamos, 26 ribiškai teigiamos, 26 tarpinės neigiamos ir 88 tikrai neigiamos T24 ląstelių linijos kultūros. Iš kiekvieno mėginio „BD Totalys“ objektyvų stiklėlių paruošimo aparatu buvo paruošti du tyrimo objekciniai stikliai, kurie buvo nudažyti „BenchMark ULTRA“ arba „BenchMark ULTRA PLUS“ citologiniu prietaisu „CINtec PLUS Cytology“. Tyrimo objektyvius stiklėlius vertino vertintojų komanda, sudaryta iš citotechnologo ir patologo, apmokyto vertinti „CINtec PLUS Cytology“. „CINtec PLUS Cytology“ tyrimo atlikimo lygiavertisumas buvo laikomas priimtiniu „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisui, jei PPA ir NPA rodiklių dvipusė 95 % pasikliautinio intervalo apatinė riba buvo ne mažesnė kaip 85 %. Kad tyrimas būtų įvertintas teigiamai, reikėjo, jog „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisu „CINtec PLUS Cytology“ nudažytų objektyvų stiklėlių fono ir ląstelių priimtumas būtų priimtinas ≥ 90 % visų objektyvų stiklėlių. Visų tiriamųjų objektyvų stiklėlių fono ir ląstelių priimtumo rodikliai buvo atitinkamai 99.6 % ir 99.1 %. Rezultatų suvestinė pateikta 26. lent apačioje.

26. lent. „BenchMark ULTRA“ ir „BenchMark ULTRA PLUS“ prietaisų suderinamumo tyrimas (SurePath)

„ULTRA“ būsena				Atitikimas		
„ULTRA PLUS“ būsena	Teigiamas	Neigiamas	Iš viso	Matavimas	% (n/N)	95 % PI
Teigiamas	94	2	96	PPA	92.2 (94/102)	(85.3, 96.0)
Neigiamas	8	119	127	NPA	98.3 (119/121)	(94.2, 99.5)
Iš viso	102	121	223	OPA	95.5 (213/223)	(91.9, 97.5)

KLINIKINIS EFEKTYVUMAS

Perspektyvinis daugiacentris tyrimas (IMPACT – „Improved Primary screening And Colposcopy Triage“ (patobulinta pirminė patikra ir kolposkopija) buvo skirtas įvertinti „CINtec PLUS Cytology Kit“ klinikinį veiksmingumą „BenchMark ULTRA“ prietaisu, naudojant kliniškai paimtus gimdos kaklelio mėginius, surinktus „PreservCyt®“ tirpale, nustatant aukšto laipsnio gimdos kaklelio ligą. Šis tyrimas, kaip refleksinis tyrimas, skirtas

įvertinti „CINtec PLUS Cytology Kit“ efektyvumą tiriant ≥ 25 metų moteris, kurių HPV rezultatas buvo teigiamas, ištyrus naudojant „cobas® 4800 HPV Test“ arba „cobas® 6800/8800 HPV Test“. Šio tyrimo duomenys pagrindžia „CINtec PLUS Cytology Kit“ naudojimą kaip pagalbinę priemonę nustatant moteris, turinčias didelio laipsnio gimdos kaklelio intraepitelinių pakitimų, kai jų HR-HPV tyrimo rezultatas buvo teigiamas.

„CINtec PLUS Cytology Kit“ efektyvumo charakteristikos, palyginti su Pap citologinio tyrimo, tiriant 25–65 metų moteris, kurių „cobas® 6800/8800 HPV Test“ arba „cobas® 4800 HPV Test“ tyrimo rezultatai teigiami

„CINtec PLUS Cytology Kit“ palyginamasis efektyvumas, lyginant su Pap citologiniu tyrimu, tiriant moteris, gavusias „cobas® 6800/8800 HPV Test“ ir „cobas® 4800 HPV Test“ teigiamus rezultatus, pateiktas toliau nurodytose lentelėse: 12 kitų HR HPV+ populiacija (27. lent.), HPV16+ populiacija (28. lent.) ir HPV18+ populiacija (28. lent.). Trijose genotipų grupėse buvo pastebėtas „CINtec PLUS Cytology Kit“ jautrumo padidėjimas ir specifiškumo sumažėjimas nustatant aukšto laipsnio gimdos kaklelio ligą, palyginti su Pap citologiniu tyrimu (27. lent., 28. lent. ir 29. lent.).

Tiek tarp „cobas® 6800/8800 HPV Test“, tiek tarp „cobas® 4800 HPV Test“ teigiamus rezultatus gavusių moterų buvo pastebėtas maksimalus jautrumo padidėjimas (atitinkamai skirtumas = 23.1 % ir 24.2 %) ir minimalus specifiškumo sumažėjimas (atitinkamai skirtumas = 7.9 % ir 8.7 %) Pap citologinio tyrimo atžvilgiu 12 kitų HR HPV+ populiacijose (27. lent.).

Visais atvejais „CINtec PLUS Cytology Kit“ naudojimas reikšmingai sumažino ligos riziką pagal neigiamus „CINtec PLUS Cytology Kit“ rezultatus, palyginti su NILM Pap citologiniu tyrimu. Tarp „cobas® 6800/8800 HPV Test“ teigiamus rezultatus gavusių moterų 1-NPV buvo 3.7 %, 6.1 % ir 1.2 % mažesnis $\geq$ CIN2 ir 0.9 %, 3.3 % ir 0.3 % mažesnis $\geq$ CIN3 atitinkamai 12 kitų HR HPV+, HPV16+ ir HPV18+ populiacijose. Tarp „cobas® 4800 HPV Test“ teigiamus rezultatus gavusių moterų 1-NPV buvo 3.4 %, 9.1 % ir 3.3 % mažesnis $\geq$ CIN2 ir 0.8 %, 5.1 % ir 0.5 % mažesnis $\geq$ CIN3 atitinkamai 12 kitų HR HPV+, HPV16+ ir HPV18+ populiacijose.

27. lent. „CINtec PLUS Cytology Kit“ efektyvumas, palyginti su Pap citologiniu tyrimu 12 kitų HR HPV+ moterų, kurių amžius 25–65 metai.

„cobas® 6800/8800 system“, 12 kitų HR HPV+			
Efektyvumas Matavimas	CPR diagnozė ≥ CIN2		
	„CINtec PLUS“ citologinis tyrimas	Pap citologinis tyrimas	Skirtumas
Jautrumas (%)	83.0 (254/306) (78.4, 86.8)	58.8 (180/306) (53.2, 64.2)	24.2 (18.3, 29.9)
Specifiškumas (%)	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)
Paplitimas (%)	11.2 (306/2722)		
Efektyvumas Matavimas	CPR diagnozė ≥ CIN3		
	„CINtec PLUS“ citologinis tyrimas	Pap citologinis tyrimas	Skirtumas
Jautrumas (%)	86.0 (80/93) (77.5, 91.6)	66.7 (62/93) (56.6, 75.4)	19.4 (10.0, 28.7)
Specifiškumas (%)	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)
Paplitimas (%)	3.4 (93/2722)		
„cobas® 4800 system“, 12 kitų HR HPV+			
Efektyvumas Matavimas	CPR diagnozė ≥ CIN2		
	„CINtec PLUS“ citologinis tyrimas	Pap citologinis tyrimas	Skirtumas
Jautrumas (%)	82.1 (256/312) (77.4, 85.9)	59.0 (184/312) (53.4, 64.3)	23.1 (17.3, 28.7)
Specifiškumas (%)	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)
Paplitimas (%)	10.7 (312/2906)		
Efektyvumas Matavimas	CPR diagnozė ≥ CIN3		
	„CINtec PLUS“ citologinis tyrimas	Pap citologinis tyrimas	Skirtumas
Jautrumas (%)	86.2 (81/94) (77.8, 91.7)	67.0 (63/94) (57.0, 75.7)	19.1 (9.8, 28.4)
Specifiškumas (%)	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)
Paplitimas (%)	3.2 (94/2906)		
Pastaba. CPR – centrinė patologoanatominė apžvalga; PPV – teigiama numatoma vertė; NPV – neigiama numatoma vertė; skliausteliuose pateikti skaičiai (n/N) ir dvipusiai 95 % pasikliautinieji intervalai.			

28. lent. „CINtec PLUS Cytology Kit“ efektyvumas, palyginti su Pap citologiniu tyrimu 25–65 metų amžiaus HPV16+ moterims.

„cobas® 6800/8800 system“, HPV16+			
Efektyvumas Matavimas	CPR diagnozė ≥ CIN2		
	„CINtec PLUS“ citologinis tyrimas	Pap citologinis tyrimas	Skirtumas
Jautrumas (%)	92.6 (176/190) (88.0, 95.6)	75.8 (144/190) (69.2, 81.3)	16.8 (10.7, 23.2)
Specifiškumas (%)	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)
Paplitimas (%)	23.8 (190/800)		
Efektyvumas Matavimas	CPR diagnozė ≥ CIN3		
	„CINtec PLUS“ citologinis tyrimas	Pap citologinis tyrimas	Skirtumas
Jautrumas (%)	92.5 (111/120) (86.4, 96.0)	77.5 (93/120) (69.2, 84.1)	15.0 (7.7, 22.8)
Specifiškumas (%)	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)
Paplitimas (%)	15.0 (120/800)		
„cobas® 4800 system“, HPV16+			
Efektyvumas Matavimas	CPR diagnozė ≥ CIN2		
	„CINtec PLUS“ citologinis tyrimas	Pap citologinis tyrimas	Skirtumas
Jautrumas (%)	93.6 (176/188) (89.2, 96.3)	76.6 (144/188) (70.0, 82.1)	17.0 (10.9, 23.5)
Specifiškumas (%)	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)
Paplitimas (%)	31.6 (188/594)		
Efektyvumas Matavimas	CPR diagnozė ≥ CIN3		
	„CINtec PLUS“ citologinis tyrimas	Pap citologinis tyrimas	Skirtumas
Jautrumas (%)	94.0 (110/117) (88.2, 97.1)	78.6 (92/117) (70.4, 85.1)	15.4 (7.9, 23.4)
Specifiškumas (%)	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)
Paplitimas (%)	19.7 (117/594)		
Pastaba. CPR – centrinė patologoanatominė apžvalga; PPV – teigiama numatoma vertė; NPV – neigiama numatoma vertė; skliausteliuose pateikti skaičiai (n/N) ir dvipusiai 95 % pasikliautinieji intervalai.			

29. lent. „CINtec PLUS Cytology Kit“ efektyvumas, palyginti su Pap citologiniu tyrimu 25–65 metų amžiaus HPV18+ moterims.

„cobas® 6800/8800 system“, HPV18+			
Efektyvumas Matavimas	CPR diagnozė ≥ CIN2		
	„CINtec PLUS“ citologinis tyrimas	Pap citologinis tyrimas	Skirtumas
Jautrumas (%)	83.8 (31/37) (68.9, 92.3)	73.0 (27/37) (57.0, 84.6)	10.8 (–6.7, 27.8)
Specifiškumas (%)	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)
Paplitimas (%)	10.2 (37/364)		
Efektyvumas Matavimas	CPR diagnozė ≥ CIN3		
	„CINtec PLUS“ citologinis tyrimas	Pap citologinis tyrimas	Skirtumas
Jautrumas (%)	87.5 (14/16) (64.0, 96.5)	81.3 (13/16) (57.0, 93.4)	6.3 (–19.6, 31.6)
Specifiškumas (%)	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)
Paplitimas (%)	4.4 (16/364)		
„cobas® 4800 system“, HPV18+			
Efektyvumas Matavimas	CPR diagnozė ≥ CIN2		
	„CINtec PLUS“ citologinis tyrimas	Pap citologinis tyrimas	Skirtumas
Jautrumas (%)	87.5 (28/32) (71.9, 95.0)	71.9 (23/32) (54.6, 84.4)	15.6 (–3.6, 33.9)
Specifiškumas (%)	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)
Paplitimas (%)	14.3 (32/223)		
Efektyvumas Matavimas	CPR diagnozė ≥ CIN3		
	„CINtec PLUS“ citologinis tyrimas	Pap citologinis tyrimas	Skirtumas
Jautrumas (%)	86.7 (13/15) (62.1, 96.3)	80.0 (12/15) (54.8, 93.0)	6.7 (–20.5, 33.2)
Specifiškumas (%)	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)
Paplitimas (%)	6.7 (15/223)		
Pastaba. CPR – centrinė patologoanatominė apžvalga; PPV – teigiama numatoma vertė; NPV – neigiama numatoma vertė; skliausteliuose pateikti skaičiai (n/N) ir dvipusiai 95 % pasikliautiniai intervalai.			

Efektyvumo charakteristikos „cobas® 6800/8800 HPV Test“ arba „cobas® 4800 HPV Test“ teigiamų rezultatų populiacijoje 30–65 metų amžiaus moterims, kurioms nustatyti NILM Pap citologinio tyrimo rezultatai

„CINtec PLUS Cytology Kit“ efektyvumas aptinkant ≥ CIN2 ir ≥ CIN3 12 kitų HR HPV+ moterų, kurioms atliktas NILM Pap citologinis tyrimas, pateiktas 30. lent.

„cobas® 6800/8800 system“ populiacijoje 12 kitų HR HPV+ moterų, kurioms atliktas NILM Pap citologinis tyrimas, jautrumas ir specifiškumas nustatant ≥ CIN2 buvo atitinkamai 66.7 % ir 69.7 % (atitinkamai 62.5 % ir 67.8 % ≥ CIN3). PPV šioje grupėje buvo 13.0 % ≥ CIN2 ir 2.6 % ≥ CIN3, o ligos rizika moterims, kurių „CINtec PLUS Cytology Kit“ rezultatai buvo neigiami (1-NPV), buvo 3.1 % ≥ CIN2 ir 0.8 % ≥ CIN3.

„cobas® 4800 system“ populiacijoje 12 kitų HR HPV+ moterų, kurioms atliktas NILM Pap citologinis tyrimas, jautrumas ir specifiškumas nustatant ≥ CIN2 buvo atitinkamai 64.9 % ir 71.0 % (atitinkamai 66.7 % ir 69.4 % ≥ CIN3). PPV šioje grupėje buvo 12.0 % ≥ CIN2 ir 2.5 % ≥ CIN3, o ligos rizika moterims, kurių „CINtec PLUS Cytology Kit“ rezultatai buvo neigiami (1-NPV), buvo 2.9 % ≥ CIN2 ir 0.6 % ≥ CIN3.

30. lent. „CINtec PLUS Cytology Kit“ efektyvumas 12 kitų HR HPV+ 30–65 metų moterų, kurioms atliktas NILM citologinis tyrimas.

Efektyvumo rodiklis	„cobas® 6800/8800 system“, 12 kitų HR HPV+ / NILM		„cobas® 4800 system“, 12 kitų HR HPV+ / NILM	
	CPR diagnozė ≥ CIN2	CPR diagnozė ≥ CIN3	CPR diagnozė ≥ CIN2	CPR diagnozė ≥ CIN3
Jautrumas (%)	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)
Specifiškumas (%)	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)
Paplitimas (%)	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)
Pozityvumo rodiklis (%)	32.6 (386/1183) (30.0, 35.3)		31.1 (401/1291) (28.6, 33.5)	
Pastaba. CPR – centrinė patologoanatominė apžvalga; PPV – teigiama numatoma vertė; NPV – neigiama numatoma vertė; PLR – teigiamas tikėtinumo santykis; NLR – neigiamas tikėtinumo santykis; skliausteliuose pateikti skaičiai (n/N) ir dvipusiai 95 % pasikliautinieji intervalai.				

„CINtec PLUS Cytology Kit“ efektyvumas aptinkant ≥ CIN2 ir ≥ CIN3 HPV16+ moterų, kurioms atliktas NILM Pap citologinis tyrimas, pateiktas 31. lent.

„cobas® 6800/8800 system“ populiacijoje HPV16+ moterų, kurioms atliktas NILM Pap citologinis tyrimas, jautrumas ir specifiškumas buvo atitinkamai 76.3 % ir 72.5 % ≥ CIN2 ir 75.0 % ir 70.5 % ≥ CIN3. PPV šioje grupėje buvo 23.8 % ≥ CIN2 ir 14.8 % ≥ CIN3, o ligos rizika moterims, kurių „CINtec PLUS Cytology Kit“ rezultatai buvo neigiami (1-NPV), buvo 3.5 % ≥ CIN2 ir 2.4 % ≥ CIN3.

„cobas® 4800 system“ populiacijoje HPV16+ moterų, kurioms atliktas NILM Pap citologinis tyrimas, jautrumas ir specifiškumas buvo atitinkamai 80.6 % ir 61.7 % ≥ CIN2 ir 81.8 % ir 59.0 % ≥ CIN3. PPV šioje grupėje buvo 27.9 % ≥ CIN2 ir 17.3 % ≥ CIN3, o ligos rizika moterims, kurių „CINtec PLUS Cytology Kit“ rezultatai buvo neigiami (1-NPV), buvo 5.5 % ≥ CIN2 ir 3.1 % ≥ CIN3.

31. lent. „CINtec PLUS Cytology Kit“ efektyvumas HPV16+ 30–65 metų moterų, kurioms atliktas NILM citologinis tyrimas.

Efektyvumo rodiklis	„cobas® 6800/8800 system“, HPV16+ / NILM		„cobas® 4800 system“, HPV16+ / NILM	
	CPR diagnozė ≥ CIN2	CPR diagnozė ≥ CIN3	CPR diagnozė ≥ CIN2	CPR diagnozė ≥ CIN3
Jautrumas (%)	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)
Specifiškumas (%)	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)
Paplitimas (%)	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)
Pozityvumo rodiklis (%)	32.4 (122/376) (28.0, 36.9)		44.8 (104/232) (38.7, 50.9)	
Pastaba. CPR – centrinė patologoanatominė apžvalga; PPV – teigiama numatoma vertė; NPV – neigiama numatoma vertė; PLR – teigiamas tikėtinumo santykis; NLR – neigiamas tikėtinumo santykis; skliausteliuose pateikti skaičiai (n/N) ir dvipusiai 95 % pasikliautinieji intervalai.				

„CINtec PLUS Cytology Kit“ efektyvumas aptinkant $\geq$ CIN2 ir $\geq$ CIN3 HPV18+ moterų, kurioms atliktas NILM Pap citologinis tyrimas, pateiktas 32. lent.

„cobas® 6800/8800 system“ populiacijoje HPV18+ moterų, kurioms atliktas NILM Pap citologinis tyrimas, jautrumas ir specifiškumas buvo atitinkamai 75.0 % ir 73.3 % $\geq$ CIN2 ir 66.7 % ir 72.1 % $\geq$ CIN3. PPV buvo atitinkamai 9.7 % ir 3.2 % $\geq$ CIN2 ir $\geq$ CIN3, o ligos rizika moterims, kurių „CINtec PLUS Cytology Kit“ rezultatai buvo neigiami (1-NPV), buvo atitinkamai 1.3 % ir 0.6 % $\geq$ CIN2 ir $\geq$ CIN3.

„cobas® 4800 system“ populiacijoje HPV18+ moterų, kurioms atliktas NILM Pap citologinis tyrimas, jautrumas ir specifiškumas buvo atitinkamai 85.7 % ir 68.3 % $\geq$ CIN2 ir 66.7 % ir 65.7 % $\geq$ CIN3. PPV buvo atitinkamai 15.8 % ir 5.3 % $\geq$ CIN2 ir $\geq$ CIN3, o ligos rizika moterims, kurių „CINtec PLUS Cytology Kit“ rezultatai buvo neigiami (1-NPV), buvo 1.4 % abiejų ligos rūšių atveju.

32. lent. „CINtec PLUS Cytology Kit“ efektyvumas HPV18+ 30–65 metų moterų, kurioms atliktas NILM citologinis tyrimas.

Efektyvumo rodiklis	„cobas® 6800/8800 system“, HPV18+ / NILM		„cobas® 4800 system“, HPV18+ / NILM	
	CPR diagnozė $\geq$ CIN2	CPR diagnozė $\geq$ CIN3	CPR diagnozė $\geq$ CIN2	CPR diagnozė $\geq$ CIN3
Jautrumas (%)	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)
Specifiškumas (%)	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)
Paplitimas (%)	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)
Pozityvumo rodiklis (%)	28.4 (62/218) (22.6, 34.3)		35.2 (38/108) (26.5, 43.8)	

Pastaba. CPR – centrinė patologoanatominė apžvalga; PPV – teigiama numatoma vertė; NPV – neigiama numatoma vertė; PLR – teigiamas tikėtino santykis; NLR – neigiamas tikėtino santykis; skliaustuose pateikti skaičiai (n/N) ir dvipusiai 95 % pasikliautinieji intervalai.

TRIKČIŲ DIAGNOSTIKA

- Jei reagento dozatorius nedozauoja skysčio, patikrinkite, ar pripildymo kameroje arba meniske nėra pašalinių medžiagų ar dalelių, tokių kaip skaidulos ar nuosėdos. Jei dozatorius užsikimšęs, nenaudokite jo ir susisiekite su savo vietiniu pagalbos tarnybos atstovu. Jei dozatorius nėra užsikimšęs, iš naujo pripildykite dozatorių: nukreipkite jį į atliekų talpyklą, nuimkite antgalio gaubtelį ir nuspauskite viršutinę dozatoriaus dalį.
- Kartais gali pasireikšti kristalizacija „CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate“ dozatoriuje. Tyrimai parodė, kad kristalai netrukdo interpretuoti rezultatus. Jei ant objektinių stiklėlių pateko kristalų, nuvalykite dozatoriaus galiuką ir pripildykite dozatorių, kad pašalintumėte visas kristalų daleles. Jei kristalų nepavyksta pašalinti, nebenaudokite dozatoriaus ir kreipkitės į vietinį pagalbos tarnybos atstovą, kad jį pakeistų.
- Jei teigiama kontrolinė medžiaga nusidažo silpniau, nei tikėtasi, patikrinkite, ar pasirinktas protokolai atitinka konkretų mėginio tipą, pavyzdžiui, „SurePath“ citologiniams preparatams reikia ilgesnio laštelių kondicionavimo laiko nei „ThinPrep“ objektiniams stiklėliams ar įprastiems tepinėlių preparatams. Be to, patikrinkite, ar visose dozatoriaus statinėse nėra šiukšlių.
- Jeigu teigiama kontrolinė medžiaga neigiama, reikia patikrinti, ar objekto stiklėlio brūkšninio kodo etiketė yra tinkama. Jei objekto stiklėlis tinkamai paženklintas, patikrinkite, ar visose dozatoriaus statinėse nėra šiukšlių.
- Jei pastebimas didelis fonas, dažymo protokoluose sumažinkite inkubacijos laiką. Be to, patikrinkite, ar „Reaction Buffer“ tirpalas buvo teisingai paruoštas.
- Jei pastebimas silpnas dažymas, dažymo protokoluose padidinkite inkubacijos laiką. Įprastame tepinėlio objekto stiklėlyje taip pat galima reguliuoti laštelių kondicionavimo inkubacijos laiką.
- Raudonos spalvos nuosėdos, naudojamos Ki-67 baltymo ekspresijai nurodyti, tirpsta alkoholyje. Jei Ki-67 dažymas yra silpnas arba jo nėra, įsitikinkite, kad nebuvo naudotas hematoksilinas, kurio sudėtyje yra alkoholio, ir kad buvo atlikta rekomenduojama procedūra po apdorojimo prietaise pagal nurodymus, pateiktus instrukcijoje „Procedūra po apdorojimo prietaise – ruošimas ir dengiamųjų stiklėlių uždėjimas“.
- Jei mėginys nusiplauna nuo objekto stiklėlio, reikia patikrinti ir įsitikinti, ar mėginys buvo tinkamai paruoštas pagal skyrių „Mėginio paruošimas“ ir ar naudojamas rekomenduojamas mikroskopo objekto stiklėlis.

- Prireikus informacijos apie taisomuosius veiksmus, žr. skyrių „Dažymo procedūra“ prietaiso naudotojo vadove arba kreipkitės į vietinį pagalbos tarnybos atstovą.
- Jei RCCM mėginio dangtelis pamestas arba jei mėginio buteliukas nesandarus, galima užsisakyti pakaitinių dangtelių (laisvų, 250 vnt. maišeliuose, REF 08037230190 arba 8 dėklus po 48 vnt. dėžutėje, REF 06913512001).

ŠALTINIAI

- 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. Triaging 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, Macciocci 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. Triaging HPV-positive women with normal cytology by p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: baseline and longitudinal data. *Int J Cancer.* 2015;136(10):2361-68.
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. Alia 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. Triaging 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. Arian-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.

PASTABA. Šiame dokumente dešimtainės trupmenos visada skiriamos tašku. Jis atskiria sveikąją dešimtainio skaičiaus dalį nuo trupmeninės dalies. Tūkstančių skirtukai nenaudojami.

Saugos ir veiksmingumo santrauką galima rasti čia:

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

Simboliai

Be ISO 15223-1 standarte pateiktų simbolių ir ženklų (USA: daugiau informacijos žr. elabdoc.roche.com/symbols), „Ventana“ taip pat naudoja toliau nurodytus simbolius ir ženklus.



Pasaulinės prekybos identifikacinis numeris

„Rx only“

USA: Dėmesio. Pagal federalinius įstatymus šį prietaisą galima parduoti tik gydytojui arba jo užsakymu.

PERŽIŪROS ISTORIJA

Perž.	Atnaujinimai
J	Atnaujintas šablonas ir ženklavimas. „BenchMark ULTRA PLUS“ papildymas.

INTELEKTINĖ NUOSAVYBĖ

VENTANA, BENCHMARK, CINTEC ir COBAS yra „Roche“ prekių ženklai. Visi kiti prekių pavadinimai ir prekių ženklai yra atitinkamų jų savininkų nuosavybė.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

KONTAKTINĖ INFORMACIJA



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

www.roche.com

